

Міністерство охорони здоров'я України
Національний фармацевтичний університет

Міністерство охорони здоров'я України
Національний фармацевтичний університет

Кваліфікаційна наукова праця
на правах рукопису

Орленко Дмитро Сергійович

УДК: 615.454.1:014.22:242:281.9

ДИСЕРТАЦІЯ

**Розробка складу та технології комбінованого стоматологічного гелю
для лікування інфекційно-запальних захворювань порожнини рота**

226 – Фармація

22 – Охорона здоров'я

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей,
результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

_____ Д. С. Орленко

Науковий керівник: Яковенко Володимир Костянтинович

доктор фармацевтичних наук, професор

Харків – 2020

АНОТАЦІЯ

Орленко Д. С. Розробка складу та технології комбінованого стоматологічного гелю для лікування інфекційно-запальних захворювань порожнини рота. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії за спеціальністю 226 – Фармація – Національний фармацевтичний університет, МОЗ України, Харків, 2020.

У дисертаційній роботі запропоновано теоретичне та експериментальне обґрунтування складу, технології та методів контролю якості комбінованого лікарського препарату у формі гелю для лікування інфекційно-запальних захворювань ясен та слизової оболонки порожнини рота.

У першому розділі дисертаційної роботи наведено узагальнені дані літератури про етіологію та патогенез інфекційно-запальних захворювань порожнини рота. Визначено, що сучасна терапія запальних захворювань пародонту має бути спрямована на усунення патологічних процесів у зубо-ясенних кишнях та регенерацію ушкоджених тканин пародонту з відновленням їх функцій. Нормалізація мікрофлори порожнини рота є неодмінною умовою раціональної терапії запальних захворювань пародонту та слизової оболонки. Визначено перспективність створення нових стоматологічних м'яких лікарських засобів комбінованого складу, які містять протимікробні діючі речовини та інші природні й синтетичні активні фармацевтичні інгредієнти (АФІ) з протизапальною та репаративною дією.

У другому розділі визначено основні етапи проведення фармацевтичної розробки оромукозних м'яких лікарських засобів. Наведено характеристики АФІ і допоміжних речовин. Репрезентовано комплекс фармакотехнологічних, фізико-хімічних, фармакологічних, мікробіологічних досліджень, що дозволили обрати оптимальний склад та раціональну технологію комбінованого стоматологічного гелю.

У третьому розділі наведено теоретичне обґрунтування вибору комбінації активних фармацевтичних інгредієнтів. З огляду на те, що за хронічного гінгівіту й пародонтиту відбувається виразне зрушення в бік переважання анаеробної флори, доцільним є місцеве застосування анаеробоцидних засобів. Метронідазолу бензоат активний щодо анаеробних найпростіших та анаеробних бактерій, виявляє високу ефективність у лікуванні запальних захворювань пародонту, особливо в поєднанні з іншими антисептиками. Серед додаткових антисептичних інгредієнтів у складі стоматологічних гелів сучасною альтернативою класичному хлоргексидину є мірамістин, який має більш сприятливий профіль безпеки. Під час запальних захворювань пародонту під агресивним впливом гіалуронідаз ендогенного й бактеріального походження відбувається порушення обміну гіалуринової кислоти, що призводить до сповільнення швидкості проліферації і регенерації тканин ротової порожнини. Застосування препаратів гіалуринової кислоти дозволяє скоротити термін лікування запального процесу пародонту й усунути фактори, що сприяють його розвитку. Отже, для забезпечення комплексної дії стоматологічного гелю нами обрано як діючі речовини метронідазол бензоат, натрій гіалуронат та мірамістин.

За результатами мікробіологічних досліджень визначено оптимальну концентрацію метронідазолу бензоату (16 мг/г), мірамістину (5 мг/г) та натрій гіалуронату (2 мг/г) у складі комбінованого стоматологічного гелю.

За результатами вивчення розчинності АФІ в гідрофільних розчинниках (воді очищеній, пропіленгліколі, поліетиленгліколі-400) визначено їх мінімальну кількість та температурні умови, які забезпечують повне розчинення терапевтичних концентрацій діючих речовин.

Для розробки складу стоматологічного гелю обрано декілька гідрофільних гелеутворювачів природного, напівсинтетичного та синтетичного походження, з-поміж яких: натрій кармелоза, натрій альгінат, ксантанова камедь, Carbopol® 974P, Carbopol® 934P, Carbopol® Ultrez 10. Результати дослідження гелів на основі натрій альгінату та натрій кармелози засвідчили,

що вони не відповідали вимогам за показником колоїдної стабільності, а структурна в'язкість гелю натрій альгінату була надто низька. За результатами дослідження структурно-механічних показників, гелеутворювачем для комбінованого стоматологічного гелю обрано Carbopol® Ultrez 10, який має найкращі реологічні показники та найбільшу швидкість досягнення граничного ступеня набухання.

Визначення оптимальної концентрації Carbopol® Ultrez 10 проводили в межах від 0,7 до 1,5 %. За фізико-хімічними та реологічними характеристиками визначено, що раціональна концентрація гелеутворювача Carbopol® Ultrez 10 становить 1,1 %. Уведення як нейтралізувального агента розчину натрій гідроксиду в концентрації 0,32 % забезпечує оптимальну в'язкість та стабільне значення рН розробленого стоматологічного гелю.

Для хімічної стабілізації метронідазол бензоату до складу гелю вводили динатрій едетат у концентрації 0,5 мг/г. Як коригент смаку використовували натрій сахарин, який у концентрації 1 мг/г забезпечує найбільш приємні смакові характеристики.

Отже, за результатами проведених фармакотехнологічних, фізико-хімічних, реологічних і біологічних досліджень розроблено такий склад комбінованого стоматологічного гелю під умовною назвою «Гіальдент»: метронідазол бензоату 16 мг/г, мірамістину 5 мг/г, натрій гіалуронату 2 мг/г, пропіленгліколю 50 мг/г, Carbopol® Ultrez 10 11 мг/г, натрій гідроксиду 3,2 мг/г, динатрій едетату 0,5 мг/г, натрій сахарину 1мг/г, води очищеної до 1,0.

Проведені технологічні дослідження довели раціональність введення метронідазол бензоату в гелеву основу у вигляді суспензії в пропіленгліколі. Попередня гомогенізація метронідазол бензоату з пропіленгліколем зі швидкістю 3000-4000 об/хв протягом 10 хв забезпечує отримання мікронізованої дисперсної фази та однорідність гелю.

Розроблено раціональну технологію виготовлення комбінованого стоматологічного гелю, згідно з якою складено технологічну схему про-

мислового виробництва. Визначено критичні стадії та параметри технологічного процесу, а також критерії їх прийнятності. Для виявлення критичних контрольних точок використовували інструмент НАССР – «дерево прийняття рішень». Проведено масштабування технології виробництва стоматологічного гелю «Гіальдент» та валідацію технологічного процесу в умовах промислового виробництва ТОВ «Фармацевтична компанія “Здоров’я”», здійснено аналіз та оцінювання ризиків для якості нового лікарського засобу.

У четвертому розділі висвітлено питання стандартизації розробленого гелю, під час проведення якої керувалися вимогами ДФУ, викладеними в загальних монографіях «Оромукозні лікарські засоби» та «М’які лікарські засоби для на шкірного застосування». До специфікації гелю «Гіальдент» було зараховано такі показники якості: опис, ідентифікація, значення рН, структурна в’язкість, маса вмісту одиниці пакування, герметичність пакування, супутні домішки, мікробіологічна чистота, кількісне визначення.

Ідентифікацію та кількісне визначення метронідазол бензоату, мірамістину та натрій гіалуронату проводили методом високоефективної рідинної хроматографії. Проведено валідацію розроблених аналітичних методик та визначено їхні основні валідаційні характеристики: специфічність, лінійність, правильність, прецизійність.

Дослідження стабільності комбінованого гелю «Гіальдент» проводили за показниками проєкту МКЯ під час зберігання за температури 25 ± 2 °C в пакуванні по 15,0 г у ламінатній тубі з нагвинчуванням бушоном за ТУ У 28.7-25463020-002-2003. Протягом усього терміну спостережень, що становив 27 місяців, дослідні зразки гелю мали незначні відхилення від початкових показників і відповідали вимогам проєкту МКЯ.

У п’ятому розділі наведено результати вивчення специфічної активності гелю «Гіальдент» на моделі експериментального гінгівіту у щурів. Після нанесення гелю «Гіальдент» виразність запального процесу в порожнині рота щурів суттєво знижувалась, про що свідчило зменшення клінічних

ознак запалення, у деяких тварин зберігалася легка гіперемія слизової оболонки, кількість лейкоцитів зменшувалась до рівня інтактних тварин.

За результатами вивчення протизапальної дії на моделі карагенінового набряку й термічного запалення з'ясовано, що розроблений гель «Гіальдент» чинить виражену антиексудативну дію, зменшує виразність гострого запального набряку, а за рівнем протизапальної дії дещо перевищує препарат порівняння – гель «Метрогіл дента».

Проведено дослідження ранозагоювальної дії гелю «Гіальдент» та визначення впливу гіалуронової кислоти на інтенсивність репаративного процесу. Отримані дані позитивної динаміки планіметричних показників на моделі трафаретних ран у щурів продемонстрували виражену протизапальну і ранозагоювальну дію гелю. Присутність у складі стоматологічного гелю натрій гіалуронату під час лікування трафаретної рани сприяє більш швидкій ліквідації процесів запалення, зменшенню ризику інфікування, розповсюдженню інфекції та скороченню площі ранового дефекту. За лікувальною дією гель «Гіальдент» не поступається препарату порівняння – мазі метилурацилу з мірамістином (ФФ «Дарниця») та перевищує ефективність експериментального зразка гелю, який містив тільки антибактеріальні АФІ.

За результатами проведених досліджень отримано патент України на корисну модель «Склад для лікування гінгівіту та пародонтиту» № 139452 від 10.01.2020 р., видано інформаційні листи № 78-2020 «Комбінований стоматологічний гель для лікування гінгівіту і пародонтиту» і № 79-2020 «Кількісне визначення гіалуронової кислоти в складі комбінованого стоматологічного гелю».

Результати дисертаційних досліджень упроваджено в освітньо-науковий процес низки закладів вищої освіти фармацевтичного (медичного) профілю України.

Ключові слова: комбінований гель, фармацевтична розробка, склад, технологія, стандартизація, стоматологія, пародонтит, гінгівіт, натрій гіалуронат, метронідазол бензоат, мірамістин.

Список публікацій здобувача

1. Orlenko D., Yakovenko V., Vyshnevskaya L. Study of structural and mechanical properties of bases in the development of dental gel with combined composition. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2019. № 5 (21) P. 35–41. *(Особистий внесок: планування і проведення дослідження, аналіз та узагальнення отриманих результатів, підготування статті)*.

2. Орленко Д. С., Яковенко В. К., Гранкіна О. Ю. Дослідження антимікробної активності комбінованого гелю для лікування інфекційно-запальних захворювань порожнини рота. *Український біофармацевтичний журнал*. 2019. № 4 (61). С. 76–80. *(Особистий внесок: виготовлення експериментальних зразків, оброблення одержаних даних, підготування статті)*.

3. Orlenko D., Yakovenko V., Vyshnevskaya L. Research on the development of dental gel technology with metronidazole benzoate and hyaluronic acid. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2019. № 6 (22). P. 24-29. *(Особистий внесок: планування і проведення дослідження, аналіз та узагальнення отриманих результатів, підготування статті)*.

4. Orlenko D. S., Yakovenko V. K. Using the HACCP method in quality risk management in the production of oromucosal gel. *Аннали Мечніковського інституту*. 2020. № 2. С. 24–29 *(Особистий внесок: планування і проведення дослідження, аналіз та узагальнення отриманих результатів, підготування статті)*.

5. Орленко Д. С., Литкін Д. В., Загайко А. Л., Яковенко В. К. Фармакологічне обґрунтування використання гіалуронової кислоти у складі комбінованих м'яких лікарських засобів у стоматології. *Клінічна фармація*. 2020. Том 24, № 2. С. 56–61. *(Особистий внесок: планування експерименту, виготовлення експериментальних зразків, оброблення одержаних даних, підготування статті)*.

6. Орленко Д. С., Стрельников Л. С., Малоштан Л. Н., Яковенко В. К. Изучение антимикробной и противовоспалительной активности оромукозного геля комбинированного состава. *Вестник фармации*. 2020. № 3 (89).

С. 70–76. *(Особистий внесок: планування експерименту, виготовлення експериментальних зразків, оброблення одержаних даних, підготування статті).*

7. Orlenko D., Yakovenko V., Plastun V., Vyshnevskaya L. Development and validation of methods for quantitative determination of sodium hyaluronate in the composition of combined dental gel. *EUREKA: Health Sciences*. 2020. Vol. 5 (29). P. 72–81. *(Особистий внесок: планування і проведення дослідження, аналіз та узагальнення отриманих результатів, підготування статті).*

8. Склад для лікування гінгівіту та пародонтиту : патент на корисну модель 139452 України / Доровський О. В., Хорунжий Г. Г., Когута О. М., Орленко Д. С. № 2019 05619 ; заявл. 23.05.2019; опубл. 10.01.2020, Бюл. № 1. *(Особистий внесок: участь у патентному пошуку, планування та виконання експериментальних досліджень, узагальнення отриманих результатів, участь у підготовленні опису до патенту).*

9. Орленко Д. С., Яковенко В. К. Комбінований стоматологічний гель для лікування гінгівіту і пародонтиту : інформ лист. Київ : Укрмедпатентінформ МОЗ України, 2020. № 78-2020. 4 с.

10. Орленко Д. С., Яковенко В. К. Кількісне визначення гіалуронової кислоти в складі комбінованого стоматологічного гелю : інформ лист. Київ : Укрмедпатентінформ МОЗ України, 2020. № 79-2020. 4 с.

11. Орленко Д. С., Яковенко В. К., Андрюкова Л. М., Доровський О. В. Дослідження з вибору допоміжних речовин у складі комбінованого стоматологічного гелю. *Сучасні досягнення фармацевтичної технології і біотехнології* : зб. наук. пр. Вип. 5. Харків : Вид-во НФаУ, 2018. С. 272–275. *(Особистий внесок: проведення дослідження, оброблення одержаних даних, написання статті).*

12. Orlenko D., Yakovenko V., Dorovsky O. Substantiation of the composition of combined gel for therapy of inflammatory processes of gums and mucous membrane of the oral cavity. *Science and Practice 2017* : Book of

abstracts of the 8th International conference on pharmaceutical sciences and pharmacy practice, Kaunas, December 15, 2017. Kaunas, 2017. P. 98.

13. Orlenko D., Dorovskoy O., Yakovenko V. Design of dental composition with hyaluronic acid. *Science and Practice 2018 : Book of abstracts of the 9th International pharmaceutical conference*, Kaunas, November 9, 2018. Kaunas, 2018. P. 71.

14. Orlenko D., Yakovenko V. Technological studies in the design a combined stomatological gel. *Приоритеты фармации и стоматологии: от теории к практике* : сб. мат. VII науч.-практ. конф. с междунар. участием. Алматы. 2018. С. 119

15. Орленко Д. С., Яковенко В. К. Валідація технологічного процесу виробництва комбінованого стоматологічного гелю. *Сучасні аспекти створення екстемпоральних алопатичних, гомеопатичних і косметичних лікарських засобів* : матеріали наук.-практ. інтернет-конф., Харків, 01 берез. 2019 р. Харків : НФаУ, 2019. С. 160.

16. Орленко Д. С., Яковенко В. К. Определениеспособавведения в основу активних фармацевтических ингредиентов стоматологического геля. *Актуальные проблемы современной медицины и фармации* : сб. тез. докладов LXXIII Междунар. науч.-практ. конф. студентов и молодых ученых. Минск : БГМУ. 2019. С. 1545.

17. Орленко Д. С., Яковенко В. К. Встановлення критичних показників якості при фармацевтичній розробці стоматологічного гелю *Управління якістю в фармації* : матеріали XIII наук.-практ. конф., м. Харків, 17 трав. 2019 р. Харків : НФаУ. 2019. С. 114.

18. Орленко Д. С., Яковенко В. К., Андрюкова Л. М. Стандартизація стоматологічного гелю з метронідазолом бензоатом та гіалуроновою кислотою. *Сучасні досягнення фармацевтичної технології і біотехнології* : зб. наук. пр. Вип. 6. Харків : Вид-во НФаУ, 2019. С. 373.

19. Орленко Д. С., Яковенко В. К. Обґрунтування показників специфікації комбінованого стоматологічного гелю. *Сучасні аспекти створення*

екстемпоральних алопатичних, гомеопатичних та косметичних лікарських засобів : матеріали IV Міжнар. наук.-практ. дистанційної конф., м. Харків, 20 берез. 2020 р. Харків : НФаУ, 2020. С. 101.

20. Орленко Д. С., Яковенко В. К. Обґрунтування методу кількісного визначення метронідазолубензоату у складі оромукозного гелю. *Управління якістю в фармації* : матеріали XIV наук.-практ. конф. з міжнар. участю, м. Харків, 22 трав. 2020 р. Харків : НФаУ, 2020. С. 110.

21. Орленко Д. С., Яковенко В. К., Пластун В. Ю. Кількісне визначення гіалуронової кислоти в складі комбінованого стоматологічного гелю. *Сучасні напрямки удосконалення фармацевтичного забезпечення населення: від розробки до використання лікарських засобів природного і синтетичного походження* : матеріали наук.-практ. дистанційної конф. з міжнар. участю, 19-20 трав. 2020 р. Івано-Франківськ, 2020. С. 136–137.

22. Орленко Д. С., Литкін Д. В., Юдкевич Т. К., Яковенко В. К. Вивчення ранозагоювальної дії стоматологічних гелів комбінованого складу з гіалуроновою кислотою *Фармакоекономіка в Україні: стан та перспективи розвитку* : матеріали XII наук.-практ. INTERNET-конф., м. Харків, 22 трав. 2020 р. Харків, 2020. С. 248.

ANNOTATION

Orlenko D. S. Development of composition and technology of combined dental gel for the treatment of infectious and inflammatory diseases of the oral cavity. – Qualifying scientific work on the rights of the manuscript.

The dissertation on competition of a scientific degree of the doctor of philosophy on a specialty 226 - Pharmacy – National pharmaceutical university, the Ministry of Health of Ukraine, Kharkiv, 2020.

In the dissertation work the theoretical and experimental substantiation of structure, technology and methods of quality control of the combined drug in the form of gel for treatment of infectious and inflammatory diseases of gums and mucous membrane of an oral cavity is offered.

The first section of the dissertation presents generalized data from the literature on the etiology and pathogenesis of infectious and inflammatory diseases of the oral cavity. It is determined that modern therapy of inflammatory periodontal diseases should be aimed at eliminating pathological processes in the gingival pockets and regeneration of damaged periodontal tissues with the restoration of their functions. Normalization of the microflora of the oral cavity is a prerequisite for rational therapy of inflammatory diseases of the periodontium and mucous membranes. The prospects of creating new dental soft drugs of combined composition, which contain antimicrobial active substances and other natural and synthetic active pharmaceutical ingredients (API) with anti-inflammatory and reparative action, have been determined.

The second section identifies the main stages of pharmaceutical development of oromucosal soft drugs. The characteristics of API and excipients are given. A set of pharmacotechnological, physicochemical, pharmacological, microbiological studies is presented, which allowed to choose the optimal composition and rational technology of the combined dental gel.

The third section provides a theoretical rationale for choosing a combination of active pharmaceutical ingredients. Given that in chronic gingivitis and

periodontitis there is a clear shift towards the predominance of anaerobic flora, it is advisable to topically apply anaerobic drugs. Metronidazole benzoate is active against anaerobic protozoa and anaerobic bacteria, is highly effective in the treatment of inflammatory periodontal disease, especially in combination with other antiseptics. Among the additional antiseptic ingredients in dental gels, a modern alternative to the classic chlorhexidine is miramistin, which has a more favourable safety profile. During inflammatory periodontal diseases under the aggressive influence of hyaluronidases of endogenous and bacterial origin there is a violation of the metabolism of hyaluronic acid, which leads to a slowdown in the rate of proliferation and regeneration of oral tissues. The use of hyaluronic acid can reduce the duration of treatment of the inflammatory process of the periodontium and eliminate factors that contribute to its development. Therefore, to ensure the complex action of the dental gel, we have chosen metronidazole benzoate, sodium hyaluronate and miramistin as active ingredients.

According to the results of microbiological studies, the optimal concentration of metronidazole benzoate (16 mg/g), miramistin (5 mg/g) and sodium hyaluronate (2 mg/g) in the composition of the combined dental gel was determined.

According to the results of studying the solubility of API in hydrophilic solvents (purified water, propylene glycol, polyethylene glycol-400), their minimum amount and temperature conditions were determined, which provide complete dissolution of therapeutic concentrations of active substances.

Several hydrophilic gelling agents of natural, semi-synthetic and synthetic origin were selected to develop the composition of the dental gel, including: carmellose sodium, sodium alginate, xanthan gum, Carbopol®974P, Carbopol® 934P, Carbopol® Ultrez 10. Based on the results of the study of gels and carmellose sodium showed that they did not meet the requirements for colloidal stability, and the structural viscosity of the sodium alginate gel was too low. According to the results of the study of structural and mechanical parameters, Carbopol® Ultrez 10 was chosen as the gelling agent for the combined dental

gel, which has the best rheological parameters and the highest rate of reaching the maximum degree of swelling.

Determination of the optimal concentration of Carbopol® Ultrez 10 was performed in the range from 0.7 to 1.5 %. According to physicochemical and rheological characteristics, it was determined that the rational concentration of Carbopol® Ultrez 10 gelling agent is 1.1 %. The introduction as a neutralizing agent of sodium hydroxide solution in a concentration of 0.32 % provides optimal viscosity and stable pH value of the developed dental gel.

For chemical stabilization of metronidazole benzoate, edetate disodium was introduced into the gel at a concentration of 0.5 mg/g. As a flavour corrector, sodium saccharin was used, which at a concentration of 1 mg/g provides the most pleasant taste characteristics.

Therefore, based on the results of pharmaco-technological, physicochemical, rheological and biological studies, the following composition of the combined dental gel under the conditional name “Gialdent” was developed: metronidazole benzoate 16 mg/g, miramistin 5 mg/g, sodium hyaluronate 2 mg/g, propylene glycol 50 mg/g, Carbopol® Ultrez 10 11 mg/g, sodium hydroxide 3.2 mg/g, disodium edetate 0.5 mg/g, sodium saccharin 1 mg/g, purified water up to 1.0 g

The conducted technological researches proved the rationality of introduction of metronidazole benzoate into the gel base in the form of a suspension in propylene glycol. Preliminary homogenization of metronidazole benzoate with propylene glycol at a speed of 3000-4000 rpm for 10 min provides a micronized dispersed phase and homogeneity of the gel.

The rational technology of manufacturing of the combined dental gel according to which the technological scheme of industrial production is made is developed. The critical stages and parameters of the technological process, as well as the criteria of their acceptability are determined. The HACCP tool, the decision tree, was used to identify critical control points. Scaling of the technology of production of dental gel “Gialdent” and validation of the technological

process in the conditions of industrial production of LLC “Pharmaceutical Company “Zdorovya”, analysis and risk assessment for the quality of the new drug was done.

The fourth section covers the standardization of the developed gel, which was guided by the requirements of the SPhU, set out in the general monographs “Oromucosal drugs” and “Soft drugs for dermal use”. The following quality indicators were included in the specification of “Gialdent” gel: description, identification, pH value, structural viscosity, weight of the contents of the package, tightness of the package, concomitant impurities, microbiological purity, quantitative determination.

Identification and quantification of metronidazole benzoate, miramistin and sodium hyaluronate were performed by high performance liquid chromatography. Validation of the developed analytical methods is carried out and their main validation characteristics are determined: specificity, linearity, correctness, precision.

Studies of the stability of the combined gel “Gialdent” were performed according to the MQC project during storage at a temperature of $25 \pm 2^{\circ} \text{C}$ in a package of 15.0 g in a laminate tube with a screw-on fuse according to TU U 28.7-25463020-002-2003. During the entire observation period of 27 months, the test samples of the gel had slight deviations from baseline and met the requirements of the MQC project.

The fifth section presents the results of studying the specific activity of “Gialdent” gel in a model of experimental gingivitis in rats. After application of “Gialdent” gel, the severity of the inflammatory process in the oral cavity of rats decreased significantly, as evidenced by a decrease in clinical signs of inflammation, some animals remained mild hyperemia of the mucous membrane, the number of leukocytes decreased to the same numbers as in intact animals.

According to the results of studying the anti-inflammatory effect on the model of carrageenan edema and thermal inflammation, it was found that the developed “Gialdent” gel has a pronounced anti-exudative effect, reduces the

severity of acute inflammatory edema, and slightly exceeds the level of anti-inflammatory effect – “Metrogil denta” gel.

A study of the wound-healing effect of “Gialdent” gel and determination of the effect of hyaluronic acid on the intensity of the reparative process. The obtained data on the positive dynamics of planimetric parameters in the model of stencil wounds in rats showed a pronounced anti-inflammatory and wound-healing effect of the gel. The presence of sodium hyaluronate in the dental gel during the treatment of a stencil wound promotes faster elimination of inflammatory processes, reduces the risk of infection, spread of infection and reduce the area of the wound defect. In terms of therapeutic effect, “Gialdent” gel is not inferior to the comparison drug - methyluracil ointment with miramistin (PF “Darnitsa”) and exceeds the effectiveness of the experimental sample of the gel, which contained only antibacterial APIs.

According to the results of the research, the patent of Ukraine for the utility model “Composition for the treatment of gingivitis and periodontitis” № 139452 from 10.01.2020, issued information sheets № 78-2020 “Combined dental gel for the treatment of gingivitis and periodontitis” and № 79-2020 “Quantitative determination of hyaluronic acid in the composition of the combined dental gel”.

The results of dissertation research have been introduced into the educational and scientific process of a number of institutions of higher education of pharmaceutical (medical) profile of Ukraine.

Key words: combined gel, pharmaceutical development, composition, technology, standardization, dentistry, periodontitis, gingivitis, sodium hyaluronate, metronidazole benzoate, miramistin.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ.....	19
ВСТУП	21
РОЗДІЛ 1 СУЧАСНІ ПІДХОДИ ДО ФАРМАКОТЕРАПІЇ	
ІНФЕКЦІЙНО-ЗАПАЛЬНИХ ЗАХВОРЮВАНЬ	
ПОРОЖНИНИ РОТА (Огляд літератури).....	28
1.1 Етіологія і патогенез інфекційно-запальних захворювань	
порожнини рота.....	28
1.2 Сучасна фармакотерапія інфекційно-запальних	
захворювань пародонту та порожнини рота	34
1.3 Гіалуронова кислота, її застосування в медицині	
та стоматології.....	42
Висновки до розділу 1	49
РОЗДІЛ 2 ОБҐРУНТУВАННЯ ЗАГАЛЬНОЇ КОНЦЕПЦІЇ	
ДОСЛІДЖЕНЬ. ОБ'ЄКТИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ	50
2.1 Обґрунтування загальної концепції досліджень	50
2.2 Характеристика діючих та допоміжних речовин	52
2.2.1 Характеристика діючих речовин.....	52
2.2.2 Характеристика допоміжних речовин	53
2.3 Методи дослідження.....	57
2.3.1 Фізичні та фізико-хімічні методи досліджень	57
2.3.2 Методики ідентифікації та кількісного визначення	
активних фармацевтичних інгредієнтів	60
2.3.3 Мікробіологічні дослідження	64
2.3.4 Фармакологічні дослідження	67
Висновки до розділу 2	72

РОЗДІЛ 3 ОБҐРУНТУВАННЯ СКЛАДУ ТА РОЗРОБКА ТЕХНОЛОГІЇ СТОМАТОЛОГІЧНОГО ГЕЛЮ КОМПЛЕКСНОЇ ДІЇ	73
3.1 Теоретичне та експериментальне обґрунтування вибору діючих речовин та їх концентрації у складі стоматологічного гелю	74
3.2 Розробка раціонального складу стоматологічного гелю для лікування інфекційно-запальних захворювань ясен та слизової оболонки рота.....	83
3.3 Розробка технології комбінованого стоматологічного гелю	96
3.4 Визначення ризиків для якості розробленого лікарського засобу та валідація технологічного процесу гелю «Гіальдент»	107
Висновки до розділу 3	127
РОЗДІЛ 4 РОЗРОБКА МЕТОДИК АНАЛІЗУ, СТАНДАРТИЗАЦІЯ ТА ДОСЛІДЖЕННЯ СТАБІЛЬНОСТІ СТОМАТОЛОГІЧНОГО ГЕЛЮ	131
4.1 Розробка та валідація методики кількісного визначення метронідазол бензоату у складі стоматологічного гелю	132
4.2 Розробка методик ідентифікації та кількісного визначення мірамістину у складі стоматологічного гелю	139
4.3 Розробка методик ідентифікації та кількісного визначення натрій гіалуронату у складі стоматологічного гелю	147
4.4 Розробка методики кількісного визначення супровідних домішок метронідазол бензоату в стоматологічному гелі	155
4.5 Стандартизація та дослідження стабільності стоматологічного гелю «Гіальдент»	159
Висновки до розділу 4	166
РОЗДІЛ 5 ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ БІОЛОГІЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ КОМБІНОВАНОГО ОРОМУКОЗНОГО ГЕЛЮ	168
5.1 Вивчення антимікробної активності стоматологічного гелю	168

5.2 Дослідження з вивчення специфічної активності розробленого стоматологічного гелю	172
5.2.1 Вивчення ефективності комбінованого гелю «Гіальдент» на моделі експериментального гінгівіту	172
5.2.2 Вивчення протизапальної дії гелю «Гіальдент»	175
5.2.3 Вивчення ранозагоювальної дії стоматологічного гелю на моделі трафаретних ран у щурів	178
Висновки до розділу 5	182
ЗАГАЛЬНІ ВИСНОВКИ	185
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	188
ДОДАТКИ	206

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

- АОЗ – антиоксидантний захист
- АФІ – активний фармацевтичний інгредієнт
- БАР – біологічно активна речовина
- ВЕРХ – високоефективна рідинна хроматографія
- ВООЗ – Всесвітня організація охорони здоров'я
- ГК – гіалуронова кислота
- ЛЗ – лікарські засоби
- ГНР – гідрофільний неводний розчинник
- ДФУ – Державна фармакопея України
- ЄФ – Європейська фармакопея
- ІК – інтактний контроль
- ЛРС – лікарська рослинна сировина
- ЛЗ – лікарські засоби
- ЛФ – лікарські форми
- МКЯ – методики контролю якості
- МНК – метод найменших квадратів
- МОЗ України – Міністерство охорони здоров'я України
- ПАР – поверхнево-активні речовини
- ПЕО-400 – поліетиленоксид-400
- ПК – позитивний контроль
- ПОЛ – перекисне окиснення ліпідів
- СО – слизова оболонка
- ТХМ – тетрахлорметан
- ТШХ – тонкошарова хроматографія
- ФСЗ – фармакопейний стандартний зразок
- ФФ «Дарниця» – Фармацевтична фірма «Дарниця»

ЦНДЛ ННІПФ – Центральна науково-дослідна лабораторія навчально-наукового інституту прикладної фармації

ШКТ – шлунково-кишковий тракт

НАССР – Hazard Analysis and Critical Control Point (система аналізу ризиків, небезпечних чинників і контролю критичних точок)

RSD – відносне стандартне відхилення

USP – United States Pharmacopeia (Американська фармакопея)

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження. Відповідно до сучасних поглядів запальні захворювання пародонту належать до інфекційних хронічних запальних захворювань, тому нормалізація мікрофлори порожнини рота є безперервною умовою їх раціональної терапії. Серед захворювань пародонту гінгівіт є найбільш поширеною формою ураження навколорізних тканин і трапляється практично у всіх вікових груп пацієнтів; без належного лікування має схильність переходити в прогресивну форму пародонтиту. У разі хронічного гінгівіту та пародонту кількість штамів анаеробних бактерій збільшується до 70-80 %, тоді як в нормі їх кількість не перевищує 20-30 %.

Сучасна терапія запальних захворювань пародонту спрямована на усунення патологічних процесів у зубоясенних кишнях та регенерацію втрачених тканин пародонту з відновленням їхніх функцій. Такі напрями лікування зумовлюють потребу в регулярному підтриманні пацієнтами гігієни ротової порожнини й застосуванні препаратів місцевої дії, що виявляють антимікробну й протизапальну активність. Серед антибактеріальних компонентів стоматологічних лікарських засобів місцевої дії загальновизнаним стандартом є метронідазол, який зазвичай використовують у комбінації з іншим антисептичним інгредієнтом – хлоргексидином. Мірамистин є альтернативою хлоргексидину та має переваги за показниками фармакодинаміки й профілем безпеки. На тлі запальних захворювань пародонту, під агресивним впливом гіалуронідаз ендogenous і бактеріального походження, відбувається порушення обміну гіалуронової кислоти, що призводить до сповільнення процесів проліферації і регенерації тканин ротової порожнини. Застосування у складі стоматологічних препаратів гіалуронової кислоти створює оптимальні умови для регенерації тканин, зменшує інтенсивність запальних процесів, забезпечує захист пошкодженого епітелію слизової оболонки.

Серед лікарських форм для зовнішнього застосування в терапії різноманітних стоматологічних захворювань найчастіше використовують

лікарські засоби у формі гелю. Гелі забезпечують локальне та рівномірне виділення діючої речовини з основи, створюють їх високу терапевтичну концентрацію безпосередньо в зоні нанесення, без значного підвищення рівня активної речовини в системній циркуляції.

Отже, розробка нового вітчизняного оригінального комбінованого гелю, призначеного для лікування інфекційно-запальних захворювань порожнини рота, є актуальною.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами. Дисертаційну роботу виконано відповідно до плану науково-дослідних робіт Національного фармацевтичного університету «Розробка складу, технології та біофармацевтичні дослідження лікарських засобів на основі природної та синтетичної сировини» (№ державної реєстрації НДР № 0114U000945) і проблемної комісії «Фармація» МОЗ і НАМН України.

Мета і завдання дослідження. Метою роботи є обґрунтування складу та розробка технології комбінованого стоматологічного гелю, призначеного для лікування інфекційно-запальних захворювань порожнини рота.

Для досягнення визначеної мети необхідно було розв'язати такі завдання:

- проаналізувати та узагальнити дані літературних джерел щодо сучасного стану фармакотерапії інфекційно-запальних захворювань порожнини рота з огляду на їхню етіологію та патогенез;
- теоретично та на підставі комплексу фармакотехнологічних, фізико-хімічних та біологічних досліджень обґрунтувати вибір активних фармацевтичних інгредієнтів і допоміжних речовин комбінованого стоматологічного гелю;
- розробити раціональну технологію виробництва комбінованого гелю;
- визначити ризики для якості розробленого лікарського засобу, провести валідацію технологічного процесу виробництва гелю;
- розробити методики ідентифікації та кількісного визначення активних фармацевтичних інгредієнтів в гелі й провести стандартизацію

розробленого лікарського препарату, визначити умови зберігання і термін його придатності;

- апробувати в умовах промислового виробництва проекти технологічного регламенту та методик контролю якості розробленого комбінованого гелю;
- проаналізувати та узагальнити результати фармакологічних досліджень нового лікарського препарату.

Об'єкти дослідження: активні фармацевтичні інгредієнти (мірамістин, метронідазол бензоат, натрій гіалуронат), модельні зразки гелю, допоміжні речовини, розроблений комбінований гель.

Предмет дослідження: науково обґрунтований склад і промислова технологія комбінованого гелю для лікування інфекційно-запальних захворювань порожнини рота; вивчення фізико-хімічних і фармакотехнологічних властивостей розробленого гелю; специфікаційні характеристики, методики ідентифікації та кількісного визначення АФІ, антимікробна й специфічна фармакологічна активність; обґрунтування умов зберігання і терміну придатності; проекти МКЯ і технологічного регламенту виробництва стоматологічного гелю.

Методи дослідження. Для розв'язання визначених у роботі завдань було застосовано такі методи дослідження: ретроспективний, аналітичний, логічний під час проведення аналізу джерел літератури; фармакотехнологічні (структурна в'язкість та ін.); фізичні, хімічні та фізико-хімічні (високоефективна рідинна хроматографія, абсорбційна спектрофотометрія та ін.); біологічні (мікробіологічні і фармакологічні) та математичної статистики (обробляння результатів), що дозволяють об'єктивно оцінити показники якості розробленого комбінованого стоматологічного гелю.

Наукова новизна одержаних результатів. Уперше на підставі отриманих результатів фармакотехнологічних, фізичних, фізико-хімічних та біологічних досліджень науково обґрунтовано оптимальний склад і раціональну технологію комбінованого стоматологічного гелю для лікування інфекційно-запальних захворювань порожнини рота.

Уперше з використанням комплексу сучасних методів досліджень розроблено методики ідентифікації та кількісного аналізу діючих речовин у створеному гелі, визначено його фізико-хімічні, структурно-механічні властивості та біологічну активність, вивчено стабільність препарату в процесі зберігання.

Визначено умови зберігання та підібрано раціональне пакування, що забезпечує стабільність препарату протягом двох років і 3-х місяців.

Уперше фармакологічними дослідженнями доведено раціональність комбінованого складу розробленого препарату та специфічну активність запропонованого стоматологічного засобу.

За результатами комплексу проведених досліджень отримано патент України на корисну модель «Склад для лікування гінгівіту та парадонтиту» № UA 139452 від 10.01.2020 р.

Практичне значення отриманих результатів. На підставі експериментальних досліджень створено новий оригінальний комбінований стоматологічний гель. Розроблено проекти МКЯ і технологічного регламенту на виробництво гелю, що було апробовано в умовах виробництва ТОВ «Фармацевтична компанія «Здоров'я» (акти апробації від 15.01.2020 р.).

За результатами досліджень розроблено, затверджено та видано Укрмедпатентінформ МОЗ України 2 інформаційні листи «Комбінований стоматологічний гель для лікування гінгівіту і парадонтиту» № 78-2020 та «Кількісне визначення гіалуронової кислоти в складі комбінованого стоматологічного гелю» № 79-2020.

Окремі фрагменти роботи впроваджено в навчальний процес та наукову роботу кафедр технології фармацевтичних препаратів, заводської технології ліків та клінічної фармакології Національного фармацевтичного університету (м. Харків) (акти впровадження від 15.09.2020 р., 28.09.2020 р, 01.10.2020 р. відповідно), кафедри технології ліків і біофармації Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького (акт впровадження від 02.09.2020 р.), кафедри організації та економіки фармації

і технології ліків Івано-Франківського національного медичного університету (акт впровадження від 05.10.2020 р.), кафедри технології ліків Запорізького державного медичного університету (акт впровадження від 20.10.2020 р.).

Особистий внесок здобувача. Дисертаційна робота є самостійною завершеною науковою працею. У комплексних дослідженнях, проведених особисто дисертантом і колективом співавторів публікацій, проаналізовано й узагальнено дані сучасних літературних джерел щодо методів і засобів лікування запальних захворювань ясен та слизової оболонки порожнини рота; теоретично обґрунтовано й розроблено склад і раціональну технологію комбінованого стоматологічного гелю; вивчено фізико-хімічні властивості модельних зразків і розробленого лікарського препарату; систематизовано, проаналізовано та статистично оброблено результати випробувань; відпрацьовано та провалідовано методики ідентифікації і кількісного визначення діючих речовин; розроблено проєкт технологічного регламенту і методик контролю якості гелю «Гіальдент», визначено умови його зберігання і термін придатності; узагальнено результати доклінічних досліджень з вивчення специфічної активності комбінованого стоматологічного гелю «Гіальдент».

Методики визначення якісного і кількісного вмісту активних фармацевтичних інгредієнтів розроблено під керівництвом начальника відділу фармацевтичної розробки та аналітичних досліджень ТОВ «Фармацевтична компанія “Здоров’я”» Пластуна В. Ю.; мікробіологічні дослідження виконано в мікробіологічній лабораторії відділу контролю якості ТОВ «Дослідний завод “ГНЦЛС”» під керівництвом начальника відділу Гранкіної О. Ю.; фармакологічні дослідження проведено на базі ЦНДЛ ННПФ НФаУ під керівництвом завідувача лабораторії, канд. фарм. наук Литкіна Д. В.

Визначення мети та завдань, обговорення результатів проведено разом із науковим керівником.

Персональний внесок у всіх опублікованих зі співавторами (Андрюковою Л. М., Вишневською Л. І., Гранкіною О. А., Доровським О. В.,

Загайком А. Л., Литкіним Д. В., Малоштан Л. М., Пластун В. Ю., Стрельниковим Л. С., Яковенко В. К.) наукових працях зазначено в тексті дисертації та в анотації у списку фахових публікацій.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертаційної роботи виголошено та обговорено на таких науково-практичних конференціях, симпозіумах і конгресах: 8th International conference on pharmaceutical sciences and pharmacy practice (Каунас, 2017); Міжнародна науково-практична конференція «Сучасні досягнення фармацевтичної технології і біотехнології» (Харків, 2018); 9th International pharmaceutical conference «SCIENCE AND PRACTICE 2018» (Каунас, 2018); VII науково-практична конференція з міжнародною участю «Приоритеты фармации и стоматологии: от теории к практике» (Алмати, 2018); науково-практична інтернет-конференція «Сучасні аспекти створення екстемпоральних алопатичних, гомеопатичних і косметичних лікарських засобів (Харків, 2019); LXXIII Международная научно-практическая конференция студентов и молодых ученых «Актуальные проблемы современной медицины и фармации» (Мінськ, 2019); XIII науково-практична конференція «Управління якістю в фармації» (Харків, 2019); Міжнародна науково-практична конференція «Сучасні досягнення фармацевтичної технології і біотехнології» (Харків, 2019), IV Міжнародна науково-практична дистанційна конференція «Сучасні аспекти створення екстемпоральних алопатичних, гомеопатичних та косметичних лікарських засобів» (Харків, 2020), XIV науково-практична конференція з міжнародною участю «Управління якістю в фармації» (Харків, 2020), науково-практична дистанційна конференція з міжнародною участю «Сучасні напрямки удосконалення фармацевтичного забезпечення населення: від розробки до використання лікарських засобів природного і синтетичного походження» (Івано-Франківськ, 2020), XII науково-практична INTERNET-конференція «Фармакоекономіка в Україні: стан та перспективи розвитку» (Харків, 2020).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 22 наукові праці, зокрема 7 наукових статей у фахових виданнях (з них 2 в іноземних), 2 інформаційні листи, 1 патент України на корисну модель, 11 тез доповідей.

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційна робота, викладена на 226 сторінках машинописного тексту, складається зі вступу, п'яти розділів, загальних висновків, списку використаних джерел, додатків. Обсяг основного тексту дисертації складає 168 сторінок друкованого тексту. Роботу ілюстровано 55 таблицями, 25 рисунками. Бібліографія містить 178 джерел літератури.

РОЗДІЛ 1

СУЧАСНІ ПІДХОДИ ДО ФАРМАКОТЕРАПІЇ ІНФЕКЦІЙНО-ЗАПАЛЬНИХ ЗАХВОРЮВАНЬ ПОРОЖНИНИ РОТА (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

1.1 Етіологія і патогенез інфекційно-запальних захворювань порожнини рота

Ротову порожнину здорової людини населено безліччю різних мікроорганізмів: стрептококами, анаеробами, грибами роду *Candida* та ін. За умови зниження місцевого та загального імунітету організму (цукровий діабет, пухлини системи крові, СНІД, хвороба Крона, а також у разі тютюнопаління тощо) вплив цих патогенів здатен викликати запально-деструктивні захворювання порожнини рота і глотки. Хронічні запальні процеси не лише є причиною локальних запалень, а і впливають на загальний стан організму, тому не тільки лікування, а й профілактика захворювань порожнини та слизової оболонки рота є важливим завданням медицини [13, 34, 99, 143].

Висока поширеність запальних захворювань парадонту серед населення становить велику проблему, особливо серед дорослих. За даними ВООЗ, розповсюдженість запальних захворювань пародонту серед дорослого населення становить 90-95 %, а серед підлітків – 80-83 %. Визначення етіологічних факторів та патогенетичних механізмів захворювань дозволяє розробити раціональні підходи до фармакотерапії інфекційно-запальних захворювань порожнини рота з різною локалізацією. Захворювання з ураженням тканин періодонту об'єднують патологічні процеси, що зачіпають ясна (гінгівіт), кісткові альвеоли й інші структури, які оточують корінь зуба (власне періодонтит), і є основною причиною руйнування і випадання зубів у дорослих. Інфекції періодонту можуть призводити до бактеріємії та інфекційного ендокардиту після видалення зуба [19, 111, 173].

Хвороби пародонту за походженням, механізмом розвитку, клінічним перебігом досить різноманітні. Перебіг деяких захворювань відбувається переважно з проявом хронічного або гострого і підгострого запалення, для інших притаманні дистрофічні зміни. Численні дослідження довели, що існує чіткий зв'язок між зубним нальотом і запаленням ясен (гінгівіт). Але й інші чинники, на додаток до зубного нальоту, також викликають схильність осіб до періодонтальних захворювань [11, 111, 164].

Гінгівіт відрізняється тим, що є лише поверхневим запаленням, яке присутнє у формі припухлості і кровотечі. Періодонтит – це запалення і зазвичай руйнування нижчих тканин. Також виявлено, що гінгівіт не обов'язково прогресує в періодонтит, як вважали раніше. Більш важливим є те, що періодонтит може виникати без будь-яких клінічних симптомів гінгівіту (тобто почервоніння, припухлості і кровоточивості ясен) [59].

Початковою, першою фазою періодонтиту є гінгівіт – запалення ясен, яке здебільшого виникає в результаті неадекватного догляду за порожниною рота та характеризується гіперемією, набряком і кровоточивістю ясен у результаті мінімальної травми. Найбільш частими збудниками є анаеробні грам-негативні мікроорганізми (наприклад, *Prevotella intermedia*). Клейкий зубний наліт, що складається переважно з бактерій, накопичується вздовж краю ясен і в місцях, малодоступних для чищення. Після 72 год можливе ущільнення збереженого нальоту з утворенням зубного каменю, який неможливо видалити звичайною зубною щіткою. Симптоми простого гінгівіту охоплюють почервоніння і набряклість ясен, які легко кривавлять під час їжі або контактування із зубною щіткою. Больові відчуття зазвичай відсутні. Ясна можуть відставати від поверхні зуба. Формування ясенних абсцесів є найбільш характерне для пацієнтів з декомпенсованим цукровим діабетом [59, 140, 168].

Перебіг хвороби може бути гострим або хронічним (загострення хронічного). Залежно від площини уражень розрізняють гінгівіти локалізовані та генералізовані.

Чинники зовнішнього середовища, зокрема куріння, стрес, і психологічні стани, такі, як депресія, тривога, належать до добре розпізнаваних супутніх факторів в етіології періодонтиту. Під час вагітності, менструації, у період статевого дозрівання, у разі застосування протизаплідних засобів частота розвитку гінгівіту зростає. Крім того, з'ясовано, що вживання деяких лікарських препаратів (наприклад, фенітоїну, циклоспорину, ніфедипіну) нерідко супроводжується явищами гінгівіту. Гіперплазія тканини ясен, викликана цими препаратами, перешкоджає видаленню зубного нальоту і сприяє розвитку запалення. У подібних випадках потрібно негайно відмінити вживання лікарського препарату, а подекуди навіть удатися до хірургічної корекції [4, 56, 98, 161].

Гострий герпетичний гінгівіт (стоматит) перебігає з вираженим больовим синдромом. Характерна наявність множинних поверхневих виразок на слизовій оболонці порожнини рота [20].

Десквамативний гінгівіт, що розвивається в період менопаузи, характеризується недостатнім утворенням кератинвмісних клітин епітелію ясен, їх підвищеною вразливістю, появою кровоточивості і больових відчуттів [20].

Пародонтит – запально-деструктивне ураження структур, що оточують корінь зуба. Поступове накопичення зубного нальоту і відкладення зубного каменю у ясенній кишені сприяють її поглибленню, у результаті чого бактеріальний наліт проникає в проміжок між стінкою кісткової альвеоли й коренем зуба. Створюються сприятливі умови для розмноження анаеробної мікрофлори. Симптомами пародонтиту є почервоніння, кровоточивість і болючість ясен; утворення глибоких ясенних кишень. Рентгенографія дозволяє визначити стан кісткової тканини, що оточує корінь зуба [37, 58, 91, 163].

Класифікація цього захворювання охоплює хронічний пародонтит, гострий пародонтит (що передбачає такий стан, як початковий пародонтит і рефрактерний пародонтит), а також пародонтит, посилений медичними або іншими факторами.

Пародонтоз – дистрофічне ураження тканин пародонту.

Окрім фактора недотримання гігієни порожнини рота, існує ціла низка причин, що зумовлює виникнення запальних захворювань ясен та слизової оболонки рота [58]:

- хвороби органів травного тракту (запальні захворювання слизової оболонки стравоходу, шлунка, виразкова хвороба, рефлюкс;
- травматизація ясен гострими краями зубів і протезів;
- температурні чи хімічні опіки;
- тютюнопаління (найбільш значущий чинник ризику розвитку пародонтиту);
- ослаблення імунітету;
- порушення гормонального обміну (цукровий діабет);
- неправильне харчування (гіповітаміноз);
- захворювання крові.

Однак деякі особи є більш уразливими до періодонтального погіршення здоров'я, ніж інші. Було виявлено, що за відсутності захворювань, таких, як діабет, який порушує імунологічну реакцію, генетичний поліморфізм (тобто варіації послідовності амінокислот у ДНК- хромосомах, що визначають варіації в генах) теж має важливе значення.

Перші дослідження щодо ролі генетичних факторів у схильності до періодонтальних захворювань виявили, що в різних штамів мишей існували варіації в руйнуванні періодонтальних тканин, засвідчуючи у такий спосіб можливу генетичну спадковість. Інші дослідження в спеціальних умовах, подібних до раннього початку пародонтиту, підтвердили можливість істотної участі генетичної схильності до періодонтального руйнування. Сучасні дослідження генетичного поліморфізму зосередили свою увагу на генах для кодування запальних проміжних молекул, таких, як інтерлейкіни, простагландини, фактори некрозу пухлини. Особливі генотипи ідентифікують осіб з високою схильністю до важкої форми руйнування періодонтальних тканин [92, 103, 115, 164].

Патогенез періодонтальних захворювань має декілька складових, і наразі вважають, що періодонтальні захворювання залежать не тільки від місцевих умов (іншими словами, деякі ділянки є більш сприйнятливими до захворювання, ніж інші), але і різні ділянки довільним чином піддаються йому в різний час. Отже, створюється враження існування періодів активності і спокою. Це відомо як гіпотеза випадкового спалаху розвитку періодонтального захворювання. Розвиток захворювань пародонту відбувається тільки за перевищення сили впливу патогенних факторів над захисними можливостями тканин пародонту або за зниження реактивності організму [22, 35, 130, 160].

До первинного комплексу етіологічних факторів належать зубна бляшка й зубний наліт, вторинний комплекс складають місцеві й загальні фактори, що впливають на організм і дозволяють реалізуватися складовим первинного комплексу.

Посутнє значення в розвитку запальних захворювань пародонту мають мікроорганізми. Так, локалізований ювенільний пародонтит, асоційований з *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, *Campylobacter*, *Eikenella corrodens*, *Wolinella recta* та іншими анаеробами, викликає швидке виражене запалення ясенних кишень, руйнування кісткової тканини. З'ясовано, що в патогенезі цього захворювання беруть участь спадкові дефекти хемотаксису нейтрофілів і пошкодження тканин токсинами мікроорганізмів (лейкотоксин, колагеназа, ендотоксини). Періодонтит дорослих пов'язують з агресивним впливом *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* та інших грам-негативних мікроорганізмів на тлі зниження механізмів місцевого імунітету. Аналіз мікрофлори зубних бляшок не дозволяє виділити єдиний бактеріальний патогенний фактор, що викликає різні форми захворювань пародонту [32, 87, 103, 170].

У розвитку гінгівіту та пародонтиту основне значення мають анаеробні мікроорганізми (наприклад *P.intermedia*), і насамперед – бактероїди, які виробляють агресивні ферменти, що руйнують білки сполучної тканини, а

також кісткову тканину. Виявлено, що у мікробній флорі порожнини рота здорової людини бактерії практично відсутні – їх кількість складає 1,0–2,5 %. Вона вміщує більш «лояльні» коки (70–80 %) і спірохети (7–9 %) [19, 34].

Відповідно до сучасного погляду запальні захворювання пародонту належать до інфекційних хронічних запальних захворювань, тому нормалізація мікрофлори порожнини рота є неодмінною умовою їх раціональної терапії. За хронічного гінгівіту й пародонтиту відбуваються виразні зрушення в бік переважання анаеробної флори, у разі запалення в пародонтальних лакунах кількість штамів анаеробних бактерій збільшується до 70–80 %, тоді як у нормі кількість анаеробів не перевищує 20–30 %. Цим і пояснюється доцільність місцевого застосування анаеробіцидних препаратів у лікуванні запальних захворювань пародонту [92, 112].

Під впливом мікробіологічного фактора формується активне запалення з подальшим розвитком змін імунного статусу локального характеру. Тривалий контакт між мікрофлорою зубної бляшки та тканинами пародонту майже завжди призводить до розвитку алергізації та стану сенсibiliзації організму [4, 40, 129].

Отже, етіологія і методи лікування запальних захворювань пародонту повинні бути зосереджені не тільки на якомога ефективнішому лікуванні інфекційних умов, але й на генетичній спадковості осіб, і реакції реципієнта на інфекційні організми, що безпосередньо пов'язані з генетичними факторами.

Вищевикладене дозволяє зробити висновки, що запалення пародонту може перебігати як локальне захворювання, а може бути одним із проявів загального стану організму. Багатогранність етіологічних причин ураження та відповідні механізми формування структурно-функційних порушень у тканинах пародонту потребують розширення асортименту препаратів комплексної дії на різні ланки патологічного процесу.

В аспекті викладеного питання створення нових вітчизняних стоматологічних препаратів комплексної дії для місцевої терапії запальних захворювань пародонту, які мають антимікробну, протизапальну, репаративну дію, є актуальним.

1.2 Сучасна фармакотерапія інфекційно-запальних захворювань пародонту та порожнини рота

Медична допомога хворим із паталогією пародонту передбачає місцеве і загальне лікування з використанням консервативних, хірургічних, ортопедичних, ортодонтичних та фізіотерапевтичних методів в амбулаторних умовах [14, 35, 98, 103]. Застосування різних видів терапії в разі хвороб пародонту має насамперед впливати на етіотропні фактори, потім на патогенез хвороби й купірувати симптоматичні прояви запальних захворювань пародонту [111, 125, 141].

Завданнями методів лікування захворювань пародонту є: усунення найбільш імовірних патогенетичних факторів та місцевих подразнювальних чинників у порожнині рота, ліквідація запалення тканин пародонту, зупинення дистрофічного процесу, відновлення функцій тканин пародонту, прискорення процесу регенерації [59, 142, 169].

Обов'язковою умовою успішного лікування гінгівіту є видалення зубного каменю. Догляд за ротовою порожниною має бути ретельнішим: крім обов'язкових заходів, потрібно полоскати рот розчином хлоргексидину, перекису водню, розчину натрій хлориду – всі ці речовини негативно впливають на бактерії, що живуть у ротовій порожнині.

Якщо загальний стан ротової порожнини задовільний, немає осередків інфекції, то варто розглянути механічну причину. Спровокувати гінгівіт можуть нові пломби, коронки, протези, зростання «зуба мудрості», некоректно встановлена знімна щелепа. У цьому разі необхідно звернутися до лікаря-протезиста або стоматолога-терапевта, який допоможе усунути

проблему (корекція пломби, виправлення зубів, що неправильно зростають, розтин оболонки для «зуба мудрості») [10, 50, 108, 177].

Широко використовуваний режим повторюваного видалення зубного каменю і навколокореневе чищення квадрантів не є ефективним способом зупинки гінгівіту. Часткова санація ротової порожнини нерідко призводить до взаємного забруднення або реінфекції з ділянок, які не пройшли санацію.

У випадках, коли порожнина рота підлягає лише механічній санації (тобто глибоке видалення зубного каменю і навколокореневе чищення) і при цьому не заживає, потрібно вдаватися до інших стратегій для контролю деструктивного запального процесу. Насамперед варто оцінити сприятливі для патології чинники соціального середовища, з-поміж яких тютюнопаління та шкідливі харчові звички також можуть викликати формування нальоту й перешкоджати загоєнню [19, 58].

Під час лікування потрібно ретельно вивчити модифікувальні фактори реципієнта (організму). Пацієнти з такими захворюваннями, як діабет, або іншими подібними мають ослаблену імунну систему, яка порушує процес загоєння. Фармакотерапія супутніх захворювань, зокрема застосування транквілізаторів, антидепресантів, блокаторів кальцієвих каналів, імунодепресантів та інших медикаментів, впливає на стан ясен і їхню здатність до загоєння [98].

Для посилення ефекту від механічної санації ротової порожнини й подолання обмежень техніки видалення зубного каменю і навколокоренового чищення використовують хіміотерапевтичні лікарські засоби. Використання антисептичної рідини для полоскання рота до і після процедур, а також промивання пародонтальних кишень антисептиками під час процедур для запобігання повторному зараженню, є ефективним способом досягти чистоти ротової порожнини. Недоліком використання розчинів є те, що вони швидко змиваються та мають короткотерміновий позитивний вплив. Використання гелів, стоматологічних плівок для місцевого застосування

забезпечує повільне вивільнення діючих речовин антибактеріальної або антисептичної дії, що запобігає повторному зараженню і знищує бактерії, які залишилися після механічної санації ротової порожнини [22, 87].

Для лікування гінгівіту місцево застосовують антибактеріальні засоби й антисептики (наприклад, змазування гелем «Метрогіл дента» («Юнік Фармасьютикал Лабораторіз», Індія) 2 рази на день, часте полоскання 1,5 % розчином перекису водню). За тяжкого перебігу (лихоманка, збільшення площі ураження) потрібно системне застосування антибіотиків, ефективних щодо грам-негативних анаеробів (еритроміцин всередину по 250 мг 4 рази на день або внутрішньовенно по 0,5-1 г 3 рази на день, тетрациклін всередину по 250 мг 4 рази на день, кліндаміцин всередину по 150-450 мг 4 рази на день або внутрішньовенно по 0,6-0,9 г 3 рази на день; високоефективна є комбінація пеніциліну в тій же дозі з метронідазолом всередину по 500 мг 3 рази на день або внутрішньовенно по 500 мг 3 рази на день) [106, 107, 120, 134].

Ефективне є поєднання антибіотикотерапії з імуностимулювальними препаратами, які діють у порожнині рота. До таких препаратів належить лікарський засіб «Імудон», що є імуностимулятором бактеріального походження. Імудон активує фагоцитоз, збільшує вміст в слині лізоциму, відомого своєю антибактеріальною активністю. «Імудон» стимулює імунокомпетентні клітини, збільшує кількість секреторних IgA в слині й уповільнює окислювальний метаболізм нейтрофілів [58].

Лікування пародонтиту проводить в амбулаторних умовах лікар-стоматолог, виконує маніпуляції з очищення глибоких ясенних кишень, підрізання відшарувань ясен тощо. У разі появи абсцесів може виникнути необхідність місцевого та системного застосування антибіотиків (змазування гелем «Метрогіл дента» 2 рази на день, еритроміцин всередину по 250 мг 4 рази на день, тетрациклін всередину по 250 мг 4 рази на день) [79, 115,].

Застосування лікарських засобів спрямовано на розв'язання комплексу проблем, що виникають під час запальних захворювань пародонту:

зменшення мікробного навантаження слизової оболонки та порожнин зубосясних кишень, усунення запального процесу, відновлення фізіологічного гомеостазу, стимуляція репаративних процесів, функційне відновлення тканин пародонту. Етіотропна терапія передбачає використання препаратів із протимікробною, антисептичною та комбінованою дією, що впливають на комплекс пародонтопатогенних бактерій [4, 35, 56, 59, 98, 159].

Лікарські засоби із протимікробною й антисептичною дією

Першочерговим завданням фармакотерапії захворювань пародонту є вплив на умовно-патогенну мікрофлору порожнини рота. Використовують широкий спектр різноманітних груп препаратів з антибактеріальною дією: антибіотики, антисептики, сульфаніламід, нітрофуран, похідні 8-оксихіноліну, протипротозойні лікарські засоби тощо – для пригнічення мікробної активності [1, 20, 37, 122, 137, 172].

Антибіотики, які використовують для лікування гінгівітів

Еритроміцин – бактеріостатичний антибіотик, що переважно впливає на грам-позитивні мікроорганізми. Дорослим призначають за 1–2 години до їжі або через тривалий (близько 4 годин) час після неї по 0,25 г. Для підтримання потрібної концентрації лікарської речовини в плазмі крові ліки вживають щодня по 6 годин. Курс складає 10–12 днів [92].

Амоксицилін – похідна пеніциліну, антибіотик з бактерицидною дією. Призначають по 500 мг на добу дорослим, дітям до 10 років – 250 мг на добу. Курс складає 7–10 днів навіть за цілковитого зникнення симптомів хвороби [92].

Лінкоміцин гідрохлорид – антибіотик, продукований *Streptomyces lincolnensis*, виявляє бактеріостатичну дію. Пригнічує білковий синтез бактерій унаслідок зворотного зв'язування з субодинамиціями рибосом, порушує утворення пептидних зв'язків. Активний щодо грам-позитивних коків. Стійкість до лінкоміцину розвивається повільно. У високих дозах чинить бактерицидну дію [58].

Метронідазол – виявляє антипротозойну й антибактеріальну дію щодо анаеробних найпростіших та анаеробних бактерій, які викликають

пародонтит: *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotellaintermedia*, *P. Denticola*, *Fusobacterium fusiformis*, *Wolinella recta*, *Treponema sp.*, *Eikenella corrodens*, *Borrelia vincenti*, *Bacteroides melaninogenicus*, *Selenomonas sp.* Механізм дії метронідазолу полягає в біохімічному відновленні 5-нітрогрупи метронідазолу внутрішньоклітинними транспортними протеїнами анаеробних мікроорганізмів і простих. Відновлена 5-нітрогрупа метронідазолу взаємодіє з ДНК клітин мікроорганізмів, інгібуючи синтез їхніх нуклеїнових кислот, що викликає загибель бактерій [105, 126].

Антисептичні лікарські засоби застосовують у вигляді різних лікарських форм (розчини, таблетки для розсмоктування, мазі, пасти, плівки, аерозолі, гелі, мила тощо). Антисептики використовують методами зрошування, змащування, промивань, аплікацій, полоскань, ванночок, пов'язок, дренажів, електрофорезу тощо [55, 81, 87].

До групи антисептиків належать похідні галогенів, з-поміж яких виділяють хлорвмісні та йодовмісні. Хлорвмісні галогени – це антисептики з протимікробною і дезодорувальною дією, що практично не подразнюють тканин, забезпечуючи тривалий антимікробний вплив. Вони діють на некротизовані тканини, розчиняючи та усуваючи їх. До таких антисептиків належать 1,5 % розчин хлораміну, 0,5 % розчин хлораміну Б; 0,5-1 % розчин хлориду йоду. Але вони характеризуються певними недоліками: різкий запах хлору, подразнення (у високих концентраціях) слизової оболонки, взаємодія з металами (корозія) [103].

Йодовмісні препарати: 1 % розчин йодинолу (йодин, йодонат); 5 % спиртовий розчин йоду; розчин Люголю; Йоддицерин. Йод має швидкий і сильний дезінфікувальний ефект, коагулює білки. У концентрації 1:20000 за 1 хв йод знищує більшість патогенних і непатогенних мікроорганізмів, а через 15 хв дії пошкоджує і спороносні форми та кислотостійкі збудники [19, 56].

Із метою місцевої антисептичної дії застосовують також фторвмісні препарати. Фтористі сполуки, адсорбуючись на поверхні зуба, вступають у

хімічний зв'язок з кристалами гідрооксиаматиту. При цьому ущільняється структура емалі, зменшується її проникність, стає більш стійкою до зовнішніх впливів.

Окрему групу антисептиків становлять катіонні поверхнево-активні речовини – четвертинні амонієві основи з високою поверхневою активністю, що утворюють багато піни, механічно очищуючи поверхню. Ці сполуки мають позитивний заряд, тому прилипають до негативно заряджених оболонок мікроорганізмів, позбавляючи їх активності й патогенності. Найпоширеніші катіонні ПАР: 0,5 % розчин етонію – виявляє бактеріостатичну, бактерицидну, місцевоанестезувальну дію, стимулює загоєння ран; 0,01–0,05 % розчин мірамістину; димексид у вигляді 0,25–2 % розчину [1, 37, 97].

Основи ефективно діють на антибіотикорезистентні штами мікроорганізмів, призводячи до деструкції і порушення проникності мембран клітин мікроорганізмів та осмотичної рівноваги, знижують поверхневий натяг на межі двох фаз мікробної клітини. Їхня бактерицидна та фунгіцидна дія поєднується з утворенням великої кількості піни, забезпечуючи механічне очищення без подразнювального впливу на тканини пародонту [32].

Хлоргекседин – антисептик, який належить до похідних бігуанідину та відрізняється високою протимікробною активністю (навіть за великого розведення) й низькою токсичністю. Дія спрямована проти таких мікроорганізмів, як стафілококи, стрептококи, *Candida albicans*, *Escherichia coli* та низка інших аеробних та анаеробних бактерій [67]. Хлоргекседин залежно від використовуваної концентрації виявляє щодо грам-позитивних і грам-негативних бактерій бактеріостатичну або бактерицидну дію. Бактеріостатична дія (як водних, так і спиртових робочих розчинів) виявляється в концентрації 0,01 % і менше; бактерицидна – у концентрації більше 0,01 % за температури 22°C і дії протягом 1 хв; фунгіцидна дія – за концентрації 0,05 %, температури 22 °C. Віруліцидна дія (щодо ліпофільних вірусів) – виявляється за концентрації 0,01–1 %. На спори бактерій діє лише за

підвищеної температури. У стоматологічній практиці використовують 1–2 % розчини [1, 97, 108, 119, 129, 178].

Цетилпіридиній хлорид – антисептик з групи четвертинних амонієвих сполук, належить до катіонних сурфактантів. Виявляє бактерицидну дію щодо широкого спектра грам-позитивних і, меншою мірою, грам-негативних бактерій. Антимікробна активність цетилпіридинію зумовлена його неспецифічною взаємодією з різними компонентами бактерійної клітки: мембраною, рибосомами, білками і ферментами. Цетилпіридиній пригнічує також деякі групи вірусів і грибів. Неактивний проти бактерійних спор [45, 88].

Мірамістин моногідрат – антисептичний препарат, який виявляє широкий спектр дії, його використовують для запобігання та лікування бактеріальних, грибкових і вірусних інфекцій. Для лікування гінгівітів застосовують 0,01 % розчин мірамістину, який виявляє антимікробну й антивірусну активність, сприяє загоєнню ран і знижує стійкість мікроорганізмів до антибіотиків [45, 88].

Лікарські засоби із протизапальною дією

У патогенетичному лікуванні запалення кісткових та м'яких тканин пародонту перевагу надають нестероїдним протизапальним засобам, терапевтичний ефект яких спрямований на різні ланки фармакологічної регуляції гомеостазу. Відносно низька токсичність нестероїдних протизапальних засобів дає можливість широко застосовувати їх у стоматологічній практиці шляхом аплікацій на ясна, інсталяцій у пародонтальні кишені та перорального введення [35, 56, 168, 172].

Мефенаміну натрієва сіль – нестероїдний протизапальний засіб, який блокує циклооксигеназу, тим самим пригнічує синтез простагландинів, які своєю чергою стимулюють остеокластогенез і резорбцію альвеолярної кістки. Препарат виявляє анальгезувальну, жарознижувальну дію, прискорює загоєння ран і виразкових утворень [28, 87].

Диклофенак натрій – нестероїдний протизапальний засіб, використовують місцево у вигляді емульгелю або мазі; також у вигляді пародонтальних плівок у комбінації з цефтриаксоном і німесулідом.

Бензидамін гідрохлорид – нестероїдний протизапальний препарат, що викликає стабілізацію клітинних мембран і пригнічення синтезу простагландинів. Проникає в епітеліальний шар і накопичується в ефективній концентрації в запалених тканинах [28, 56].

Холін саліцилат – є похідною кислоти саліцилової, виявляє виражену протизапальну, анальгезувальну, жарознижувальну дію. Основним механізмом є інактивація ферменту циклооксигенази, унаслідок чого порушується синтез простагландинів. Широко застосовують гелі «Пансорал» і «Холісал», які чинять знеболювальну, протизапальну, антисептичну дію [28, 130].

Лікарські засоби для місцевого знеболення

Біклотимол – похідна біфенолів, виявляє бактеріостатичну та бактерицидну дію, низької токсичності, антисептик. До біклотимолу чутливі: *St. Aureus*, *Nemophilus*, *S. Epidermidis*, стрептококи, пневмодиплококи, а також штами, стійкі до дії пеніциліну, оксациліну, рифампіцину. Забезпечує місцеву знеболювальну та протизапальну дію [19].

Лізоцим – фактор неспецифічного захисту організму. Володіє проти-вірусною активністю, стимулює неспецифічну реактивність організму, нейтралізує медіатор запалення – гістамін. Виявляє бактеріолітичну дію, має властивість руйнувати полісахариди мікробної оболонки. Знижує розмноження переважно грам-позитивних бактерій, грам-негативні – менш чутливі [59].

Аскорбінова кислота – належить до групи водорозчинних вітамінів, бере участь в окислювально-відновлювальних реакціях; у процесах обміну, зокрема в регуляції вуглеводного обміну, обміну ароматичних амінокислот, тироксину, у синтезі катехоламінів, стероїдних гормонів, інсуліну; є необхідною складовою в процесі, синтезі колагену, проколагену, регенерації сполучної та кісткової тканини; регулює проникність капілярів (пригнічує гіалуронідазу); бере участь у всмоктуванні заліза та синтезі гемоглобіну [56].

Лідокаїн гідрохлорид моногідрат – анестетик, що виявляє швидку й довготривалу знеболювальну дію за уражень слизової оболонки порожнини рота, ясен і губ [92].

Бензокаїн – місцевий анестетик, який блокує провідність нервових імпульсів, знижуючи проникність мембран для іонів натрію, забезпечує повну тимчасову анестезію слизових оболонок і шкіри [50].

Гіалуронова кислота – базовий компонент міжклітинної речовини. Знижуючи запальну реакцію і стимулюючи загоєння пошкоджених тканин, вона також має величезний потенціал до пригнічення запальної реакції. Для осіб, які схильні до періодонтальної деструкції або мають проблеми, пов'язані з поганим загоєнням після механічного оброблення ротової порожнини, або ж мають високу схильність до рецидиву періодонтального захворювання, цей засіб надає відмінні можливості для кращого лікування проблем періодонтального характеру [33, 80, 112].

1.3 Гіалуронова кислота, її застосування в медицині та стоматології

Гіалуронова кислота (ГК) – природний нессульфатований глікозаміноглікан з високою молекулярною масою 4000-20000000 Да. Структура ГК складається з поліаніонних дисахаридних одиниць глюкуронової кислоти та N-ацетилглюкозаміну, з'єднаних чергуванням β1-3 та β1-4. Це лінійний полісахарид позаклітинного матриксу сполучної тканини, синовіальної рідини, ембріональної мезенхіми, склоподібного тіла, шкіри та багатьох інших органів і тканин тіла [62, 84].

ГК є ключовим елементом у м'яких тканинах пародонту та періодонтальній зв'язці, а також у твердих тканинах, таких, як альвеолярна кістка. Вона має багато структурних та фізіологічних функцій у цих тканинах.

ГК може мати регульовальне значення в процесі запалення, оскільки високомолекулярна ГК зазнає значної деградації до молекул меншої моле-

кулярної маси в хронічно запаленій тканині, наприклад, у разі запалення тканин ясен або в післяопераційному періоді після імплантації чи хірургічної операції.

Високомолекулярна ГК фрагментується під впливом видів реактивного кисню (ROS), зокрема й супероксидних радикальних та гідроксильних радикальних видів, що спостерігають під час захворювань пародонту; радикали утворюються насамперед шляхом інфільтрації поліморфноядерних лейкоцитів та інших клітин запалення під час бактеріального фагоцитозу [33, 91].

Фрагменти з низькою молекулярною вагою сигналізують про пошкодження тканин та мобілізують імунні клітинини, тоді як високомолекулярна ГК пригнічує імунну відповідь, запобігаючи надмірним загостренням запалення [110, 115].

Низькомолекулярна ГК виявляється особливо помітна у тканинах ясен пацієнтів на початкових стадіях пародонтиту, можливо, унаслідок дії бактеріальних ферментів (гіалуронідаз). Вона підтримує структурну й гомеостатичну цілісність тканин, регулюючи осмотичний тиск та змашування тканин.

ГК — одна з найбільш гігроскопічних молекул, відома в природі. Коли ГК додають у водний розчин, водневе з'єднання відбувається між сусідніми карбоксильними та N-ацетильними групами; ця особливість дозволяє ГК підтримувати конформаційну жорсткість і затримувати воду [117].

Починаючи приблизно з середини XX ст. ГК поступово стала знаходити своє застосування в різноманітних клінічних додатках, з яких найбільш значущими виявилися очна хірургія і лікування захворювань суглобів. Вважають, що перший у світі досвід масового застосування в медицині відбувся 1943 року, коли Н. Ф. Гамалія використовував сполуки гіалуронану в комплексних пов'язках для лікування обморожених бійців у військово-польовому госпіталі. Екстракт з пуповини, названий ним «фактор регенерації», було згодом затверджено МОЗ України як лікарський препарат

під назвою «Регенератор». У 1950-ті роки на Заході почали проводити дослідження з ГК для можливого протезування під час лікування відшарування сітківки ока. У 1972 р. Р. Міллер (R. Miller) в США почав використовувати ГК у складі імплантованих внутрішньоочних лінз, і від тоді ГК стала одним із найбільш вживаних компонентів в офтальмології. У 1970-ті роки шведська фірма «Pharmacia» розробила і вивела на світовий ринок перший комерційний препарат на основі ГК під брендом Healon для застосування під час різних видів операцій на очах. Його ефективність і безпека отримали світове визнання і зумовили багаторічне використання цього препарату аж до нашого часу. У 1970 р. ГК вперше було введено в суглоби ніг бігових коней, які страждали від артритів, й отримано позитивний результат. Від того часу застосування полісахариду в кінному спорті стало повсякденною практикою. У наші дні активно використовують біополімер у регенеративній медицині, у лікуванні артритів і артрозу [144]. Найбільш широко застосовують гідрогель для ін'єкцій у суглоби у вигляді похідних гіалуронану під брендами Hyalograft C і Chondro-gide [148].

Надзвичайно широке застосування ГК знайшла в естетичній медицині, де сьогодні препарати на її основі є «золотим стандартом» для ін'єкційної косметології [115, 151]. Це зумовлено властивістю гіалуронану зв'язувати велику кількість води, що виражається у формуванні та підтримці об'єму тканини в місці введення. У шкірі полісахарид виробляється клітинами фібробластів дерми й частково кератиноцитами епідермісу, завдяки чому підтримується постійний тонус обличчя. З віком концентрація ГК в шкірі падає, що поряд із дефіцитом колагену призводить до появи зморшок, в'ялості та інших наслідків.

Курс ін'єкцій ГК дозволяє значно компенсувати ці небажані прояви на досить тривалий період. Широкий спектр практичного застосування в косметичній дерматології заснований на її здатності надавати протизапальної, дезінфікувальної і ранозагоювальної дії; ГК сприяє регенерації епітелію, запобігає утворенню грануляційних тканин, спайок, рубців, знижує

набряклість, зменшує свербіж шкіри, нормалізує кровообіг, сприяє рубцюванню трофічних виразок. Завдяки унікальному поєднанню біологічних і фізико-хімічних властивостей, гіалуронан знаходить дедалі ширше застосування в біомедицині [152].

ГК у лікуванні гінгівіту

Наразі ГК є корисним допоміжним лікуванням під час терапії гінгівітів. Місцеве лікування 0,2 % ГК двічі на день протягом 3-тижневого періоду сприятливо впливало на пацієнтів, уражених гінгівітом, покращуючи показники бляшок, індекс папілярної кровотечі (ІПС) та щіткову рідину ясен (GCF) [147].

Місцеве застосування спрею, що містить ГК (5 разів на день протягом 1 тижня), призвело до зниження індексу кровоточивості ясен (ІБС), значень РВІ та GCF [124].

Аналогічне місцеве нанесення 0,2 % гелю ГК на ділянку запалення за гінгівіту, двічі на день протягом 4-тижневого періоду, на додаток до масштабування та звичайної гігієни ротової порожнини, сприяло значному поліпшенню індексу ясен (GI) та РВІ порівняно як з контрольною групою плацебо (масштабування плюс плацебо-гель), так і з негативною контрольною групою [161].

ГК за хронічного періодонтиту

Місцеве застосування гелю ГК, двічі на добу протягом 1 місяця, у пацієнтів з хронічним періодонтитом знижувало індекс проліферації ясенного епітелію (експресія антигена Ki-67), запальний процес та покращувало стан пародонту [151, 157].

Субгенгінгівальне введення 1 мл 0,2 мл 0,8 % гелю ГК один раз на тиждень протягом 6 тижнів покращувало швидкість потоку сульфової рідини (SFFR); у разі двох субгенгівальних введень 0,2 мл 0,8 % гелю ГК (за базовою лінією та після 1 тижня) значно зменшувалась кровотеча в групі ГК проти контрольної групи [162, 163].

Субгенгінгівальне застосування 0,2 % гелю гіалуронової кислоти (препарат GENGIGEL®) за СРП у хворих на хронічний періодонтит покращило

показник ШКТ та кровотечі (БІ) проти контролю, що підтверджується біопсією ясен, яка засвідчила значне зменшення запального інфільтрату [144].

ГК, яку застосовували відразу після SRP та через 1 тиждень після терапії, сприятливо впливає на здоров'я пародонту в пацієнтів з хронічним періодонтитом. У групі ГК це комбіноване лікування засвідчило значне поліпшення всіх клінічних показників: BOP, PPD та CAL на 12 тижні після терапії проти контрольної групи, що отримувала лише SRP [176].

Гель ГК, що застосовують місцево після SRP, масажуючи ясна зубною щіткою з м'якою щетиною протягом 3 тижнів, зменшив запалення ясен, покращивши всі клінічні параметри: ПЛІ (індекс нальоту), БОП, ППД, ШКТ та рівень зондування прикріплення (PAL) проти пацієнтів, які лікуються за допомогою звичайних гігієнічних процедур порожнини рота [148].

Ейк та ін. оцінювали ефект асоціації місцевих ГК з різною молекулярною масою. Відразу після SRP в усі пародонтальні кишені вводили гель, що містить 0,8 % ГК (1800 кДа); крім того, пацієнти застосовували гель, що містить 0,2 % ГК (1000 кДа) на ясна двічі на день протягом наступних 14 днів; проти контрольної групи (лише SRP), група ГК виявила позитивний вплив на зниження ППД та запобігання реілонізації пародонтопатогенами (такими, як *Campylobacter*, *Prevotella intermedia* та *Porphyromonas gingivalis*) [133].

Для проведення клінічних випробувань залучили 60 пацієнтів, випадковим чином об'єднаних у три групи: пацієнти 1-ї групи отримали повне SRP та субгенігальну дебридизацію, тоді як пацієнти 2 та 3 груп отримували місцево гель з ГК та гель з хлоргексидином відповідно після процедури SRP [131].

У всіх трьох групах спостерігали значне зниження рівня ППД та збільшення ЛКД між початковим та тримісячним спостереженням; однак на 3 місяці зміна ППД та ЛКД була більшою у групі 2, ніж у групі 3, але різниця була не значною.

Також було проведено дослідження щодо вивчення протизапальної дії та вплив на регенерацію кісткової тканини ГК у хірургічних та нехірургічних групах у пацієнтів із хронічним періодонтитом [151, 175].

У хірургічній групі біоабсорбувальну мембрану використовували як для тестових, так і для контрольних місць, а ГК поміщали в кишеню інфрабоні.

У нехірургічній групі було зменшено пародонтальні кишені і ГК вводили тричі з інтервалом у 1 тиждень у тестові кишені.

Спостерігали різницю у висоті кісток між тестовими та контрольними ділянками – у хірургічній групі після 12 місяців менше 1 мм, що було виявлено лише на рентгенограмах. Не було виявлено статистичної різниці на рентгенограмах нехірургічної групи, а виявлено зниження висоти кісток для обох груп після масштабування.

Зниження ППД після хірургічного лікування, як і після СРП, було очікуваним. Дослідження довели, що ГК у контакті з кістками та м'якими тканинами не впливала на імунну систему [124].

Підгінгвальне застосування 0,5 мл амінокислот та гелю ГК після ультразвукового механічного інструментарію є корисним для поліпшення параметрів пародонту в пацієнтів із середньотяжким та важким хронічним періодонтитом порівняно з пацієнтами, які отримували лише ультразвукове зригування. Це комбіноване лікування знизило ППД та БОП.

Топічне застосування 0,8 % гелю ГК на додаток до модифікованої операції на клапті Відмана (MWF) покращило CAL та рецесію ясен (GR) більше, ніж сама операція MWF або застосування плацебо-гелю, як зазначено в дослідженні [145].

Застосування ГК у хірургічній імплантації

Під час порівняння стану здоров'я комплексу періімплантатів у період загоєння імплантатів з використанням гелів ГК або хлоргексидином було виявлено статистично значущий нижчий модифікований індекс кровотечі в групі ГК, проти контрольної групи, що лікувалась хлоргексидином. Можливо, вигідне є цільове комбіноване лікування з використанням ГК 0,2 % гелю в перші 2 місяці та 0,2 % хлоргексидину з 2 до 6 місяця. Було вивчено клінічну ефективність лікування глибоких дефектів пародонту за допомогою естерифікованої ГК в упакованих волокнах дефекту. Через

рік після лікування середнє значення ППД знижувалося, ГР зростало, і фіксували посилення прихильності. Механізм дії полягав у тому, що аутологічна кістка в поєднанні з етерифікованим низькомолекулярним препаратом ГК має хороші можливості щодо прискорення утворення нових кісток за інфрабонових дефектів [80, 108, 112].

Використання тричі на день протягом 1 тижня гелю, що містить амінокислоти та 1,33 % ГК, може сприяти більш швидкому вторинному загоєнню ран, спричинених лазером, у пацієнтів, які перенесли ексцизійну біопсію пероральної м'якої тканини, ніж швидкість загоєння контрольної групи. Це може значно прискорити процеси відновлення, хоча це не впливає на рівень сприйняття болю [165].

На відміну від вищезгаданих авторів, Galli et al., провели дослідження за шкалою Лікерта після 10 днів після операції та виявили, що одноразове застосування 0,8 % ГК не сприяє загоєнню ран у разі застосування до хірургічних розрізів у ротовій порожнині [131].

У цьому дизайні дослідження розділеної порожнини рота 10 пацієнтів з 20 ділянками рецесії Міллера I класу проходили лікування та спостереження протягом 6 місяців. Експериментальні ділянки обробляли гелем ГК 0,2 % та САФ, тоді як контрольні місця обробляли тільки САФ.

Відбулися значні зміни в RD, PPD, CAL та відсотках покриття коренів в обох групах порівняно з базовими значеннями, але статистично значущої різниці між ділянками ГК та контрольними ділянками щодо RD, PPD та CAL не було. Хоча статистично значущої різниці немає, покриття коренів у ділянках ГК виявилось клінічно більш стабільним, ніж у контрольних ділянках, оброблених лише САФ через 24 тижні [166].

ГК у лікуванні виразок ротової порожнини

Кілька досліджень зосередили свою увагу на застосуванні ГК як місцевого лікування виразки порожнини рота.

Місцеве застосування 0,2 % гелю натрій гіалуронату двічі на день протягом 2 тижнів видається ефективною та безпечною терапією у пацієнтів з рецидивними афтозними виразками (RAU) [150].

Під час дослідження ефективності місцевого застосування 0,2 % гелю ГК для пероральних виразок у пацієнтів з РАУ та виразками ротової порожнини хвороби Бехета (БД) було виявлено, що застосування гелю натрій гіалуронату поліпшило суб'єктивні параметри (кількість виразок, період загоєння, візуальна аналогова шкала [VAS] для болю) та об'єктивні параметри (кількість виразок, максимальна площа виразки та запальні ознаки, такі, як набряк та температура) [175].

Висновки до розділу 1

1. Досліджено та узагальнено дані літератури щодо етіології, патогенезу та фармакотерапії інфекційно-запальних захворювань порожнини рота. Визначено, що сучасна терапія запальних захворювань пародонту має бути спрямована на усунення патологічних процесів у зубоясенних кишечках та регенерацію ушкоджених тканин пародонту з відновленням їхніх функцій.

2. Опрацьовано літературні джерела стосовно походження, фізико-хімічних, біологічних характеристик та медичного застосування гіалуронової кислоти та її похідних у стоматології.

3. Доведено перспективність створення нових стоматологічних м'яких лікарських засобів комбінованого складу, які містять протимікробні діючі речовини та інші природні й синтетичні активні фармацевтичні інгредієнти з протизапальною та репаративною дією.

РОЗДІЛ 2

ОБҐРУНТУВАННЯ ЗАГАЛЬНОЇ КОНЦЕПЦІЇ ДОСЛІДЖЕНЬ. ОБ'ЄКТИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1 Обґрунтування загальної концепції досліджень

Незважаючи на загальний підхід, плани експериментів з фармацевтичної розробки, цільові профілі якості, критичні показники якості і критичні параметри процесів будуть кардинально відрізнятися для препаратів в різних лікарських формах, а також для різних препаратів в одній і тій же лікарській формі, що необхідно враховувати при планування кожної розробки і кожного трансферу технології [51, 52].

Життєвий цикл лікарського засобу починається з фармацевтичної розробки, де і закладаються основи його якості, яка потім має відтворюватися на всіх наступних стадіях [146]. Аспекти фармацевтичної розробки регламентуються міжнародними документами, які використовуються в Україні в вигляді національних стандартів, а саме:

- «Лікарські засоби. Фармацевтична розробка (ICH Q8): СТ-Н МОЗУ 42-4.3:2011» (частина 1 та додаток);
- «Лікарські засоби. Управління ризиками для якості (ICH Q9). Настанова СТ-Н МОЗУ 42-4.2:2011» (Quality Risk Management);
- «Лікарські засоби. Фармацевтична система якості (ICH Q10). Настанова СТ-Н МОЗУ 42-4.3:2011» [47, 48, 49].

Задекларований в цих стандартах принцип «Якість шляхом розробки» – Quality by Design, відображає концепцію запланованої якості, системний підхід до розробки, заснований на виконанні комплексу наукових досліджень, що забезпечують відповідність розроблених лікарських препаратів сучасним вимогам з позицій оцінювання їх якості, ефективності та безпечності.

Згідно аналізу регламентуючої нормативної документації, нами було сформульовано методологію розробки м'якої лікарської форми для засто-

сування у стоматології та має комбінований склад. Методологія передбачає виконання трьох основних етапів: інформаційно-пошукового, дослідно-технологічного та стандартизаційно-фармакологічного. На підставі цього нами були сформульовані основні напрямки проведення досліджень:

1) вибір концентрації активних фармацевтичних інгредієнтів за допомогою фармакологічних (мікробіологічних) досліджень;

2) опрацювання виду основи відповідно до властивостей діючих речовин та місця застосування лікарського препарату, експериментальне обґрунтування вибору гелеутворювача на підставі реологічних та фізико-хімічних досліджень;

3) оптимізація складу лікарського засобу за біофармацевтичними, технологічними та іншими критеріями;

4) розробка раціональної технології лікарського засобу, створення нормативної документації на його виробництво;

5) ідентифікація та аналіз ризиків для якості розробленого лікарського засобу для проведення подальшого масштабування та валідації процесу виробництва;

6) вибір критеріїв контролю якості оромукозного гелю, а також розробка і валідація основних методик проведення аналізу, розробка проєкту методів контролю якості;

7) дослідження з метою обґрунтування терміну придатності та умов зберігання м'якого лікарського засобу комбінованого складу;

8) проведення доклінічного вивчення фармакологічної активності та токсичності.

Для розробки комбінованого стоматологічного гелю використовували дозволені до медичного застосування речовини (згідно з наказами МОЗ України від 15.01.2003 р. № 8 та від 16.06.2007 р. № 339).

У дослідженнях було використано такі АФІ, як мірамістин, метронідазол, натрієва сіль гіалуронової кислоти та допоміжні речовини: гелеутворювачі, антиоксиданти, співрозчинники, коригенти смаку, що широко застосовують під час створення м'яких лікарських форм.

2.2 Характеристика діючих та допоміжних речовин

2.2.1 Характеристика діючих речовин

Метронідазол бензоат (Metronidazole) (2-(2-метил-5-нітро-1H-імідазол-1-іл) етил бензоат, $C_{13}H_{13}N_3O_4$, М.м. 275,3) (ДФУ 2-е вид., Т. 2). Білий або злегка жовтуватий кристалічний порошок. Практично не розчинний у воді *P*, легко розчинний у хлориді метилену *P*, розчинний в ацетоні *P*, малорозчинний в етанолі *P*. Плавиться за температури від 99 до 102 °С. Вміст важких металів не більше 20 ppm, втрата в масі під час висушування не більше 0,5 %, сульфатна зола 0,1 % [27].

Натрій гіалуронат (Sodium hyaluronate, hyaluronan, natrii hyaluronas), $((C_{14}H_{20}NO_{11}Na)_n$, М. м. (401,3) $_n$, (PhEur 9.0) – дуже гігроскопічний порошок або гранули від білого до брудно-білого кольору. Натрій гіалуронат є натрієвою сіллю кислоти гіалуронової; полісахарид, що складається з D-глюкуронової кислоти і N-ацетил-D-глюкозамін дисахаридних ланцюгів, з'єднаних глікозидними мостиками. Помірно розчинний у воді *P* (що більша молекулярна маса, то повільніше відбувається розчинення), практично не розчинний у 96 % етанолі *P* та ацетоні *P*, рН 5,0–8,5 (0,5 % водного розчину); характеристична в'язкість від 1,1 м³/кг до 1,5 м³/кг. Вміст хлоридів не більше 0,5 %, важких металів не більше 10 ppm, заліза не більше 80 ppm, білка не більше 0,1 %. Втрата в масі під час висушування не більше 20 % [171].

Мірамістин (Miramistin, myramistin) (Бензилдиметил [3-(міристоіламіно)пропіл] амоній хлорид, $C_{26}H_{47}ClN_2O \cdot H_2O$, М.м. 457,14) [27]. Дрібнокристалічний порошок білого або кремового кольору, без запаху або зі слабким специфічним запахом. Легко (повільно) розчинна у воді *P*, 96 % етанолі *P*, хлороформі *P*. РН від 5,2 до 6,8 (1 г/л розчин субстанції). Втрата в масі під час висушування від 2,5 до 5,0 %, сульфатна зола не більше 0,1 %, важкі метали не більше 10 ppm. Поверхнево-активна речовина,

належить до групи катіонних ПАР (четвертинні аммонієві сполуки) і виявляє протимікробну, протизапальну і місцеву імуноад'ювантну дію.

2.2.2 Характеристика допоміжних речовин

Для розробки нового лікарського препарату використовували такі дозволені до медичного застосування допоміжні речовини:

Карбомери (син. карбополи) (Carbomera, ЄФ; Carbomers, БрФ) – білі чи майже білі, пухкі, гігроскопічні порошки. Карбомери є рідкозшитими співполімерами акрилової кислоти й поліфункціональних зшивальних агентів. Карбопол є дуже слабкою кислотою і досить легко переходить у сіль. Водні дисперсії карбомерів мають кисле середовище. Що вища концентрація полімеру в дисперсії, то нижче значення рН через більшу кількість карбоксильних груп [54].

Карбомери добре диспергуються у воді, частково набухають, утворюючи дисперсії з низьким значенням рН, що пов'язано з наявністю в початковому продукті 56-68 % кінцевих карбоксильних груп. За нейтралізації молекули набухають повністю і рівень в'язкості сильно збільшується [138].

Карбомер марки Carbopol Ultrez-10 NF. (Етиловий ефір 4-(8-хлор-5,6-дигідро-1H-бензо-[5,6]циклогептану-[1,2-в]-піридин-11-іміден-1-піперидинкарбонової кислоти) (USP30/NF 25, с. 1086; ЄФ с. 1416, монографія «Carbomers interpolymers») [128, 174].

Високомолекулярний співполімер акрилової кислоти, поперечно зшитий з поліалкілполіефіром поліспиртів. Білий, пухкий, гігроскопічний, рідкозшитий співполімер акрилової кислоти. Містить від 56 % до 68 % карбоксильних груп (- COOH) в перерахунку на суху речовину [116].

Карбополи утворюють стабільні водні дисперсії за значень рН, близьких або рівних до нейтральних (рН 6-10). Для отримання властивостей гелеутворювача необхідне є перетворення кислотної форми на лужну. Після нейтралізації водної дисперсії карбомеру нейтралізувальними агентами (розчини гідроксидів лужних металів, органічні аміни, розчин аміаку) утворюються прозорі, безбарвні гелеві системи.

Структурна в'язкість таких кислих колоїдних розчинів низька, але за нейтралізації можна отримати гелі з високою структурною в'язкістю. Остання помітно збільшується з підвищенням концентрації карбополів і майже не змінюється з підвищенням температури до 80 °С.

Для досягнення певного значення рН (від 3,0 до 10,0) за нейтралізації водних дисперсій карбополу використовують різні амідні, гідроксиди лужних металів. Необхідна кількість нейтралізувального агента залежить від його типу та еквівалентної маси. Карбопол є перспективним гелеутворювачем, концентрація якого в основах варіює в межах 0,5-2,0 %, залежно від консистенції гелевої основи [30, 138].

Ксантанова камедь (Xanthan Gum, ксантан, ксантанова смола, ксантановий віск, ЄФ р. 1323-1325) Брутто-формула: $(C_{35}H_{49}O_{29})_n$, М. м. $1 \cdot 10^6$ [128]. Порошок від коричневого до білого кольору, розчиняється у холодній та гарячій воді, практично не розчиняється в етанолі та етері. Стійкий до високих концентрацій солей, змін рН та високих температур. Структурна в'язкість 0,5 % розчину за 25 °С – 600 мПа·с, рН 1 % розчину 6-8. Додавання електролітів підвищує стабільність та в'язкість ксантанового гелю.

Головний ланцюг складається з ланки β (1→4) D-глюкози, з'єднаної з трисахаридами глюкуронової кислоти, що містяться між двома одиницями манози. Становить собою природний полісахарид мікробіологічного походження, який отримано ферментацією вуглеводню за допомогою культури *Xanthomonas Camprestris*. Гелеві основи з цією камеддю мають високу стабільність (під час заморожування/розморожування) та пластичність, високі значення структурної в'язкості за низької концентрації гелеутворювача, стійкість до ферментативного розпаду.

Натрій альгінат (Natrii alginas, монографія «Sodium alginate» ЄФ, с. 1900-1903). Брутто-формула: $[(C_6H_8O_6)_n]$, М. м. $(176)_n$. Дрібнодисперсний порошок білого або блілого жовто-коричневого кольору, рН 1 % розчину 6,5-7. Білий порошок, повільно розчинний у воді з утворенням в'язкого, колоїдного розчину, практично не розчинний у спирті та ефірі [128].

Сіль альгінової кислоти – це полісахарид, який складається із залишків D-мануронової та L-гулууронової кислот. Отримують з бурих морських водоростей родини Ламінарія [30].

Пропіленгліколь (Propyleneglycol (ПГ)) (RS)-пропан-1,2-діол (ДФУ 2-е вид., С. 563-564). Брутто-формула $C_3H_8O_2$, М.м. 76,1 [14]. В'язка, прозора, безбарвна, гігроскопічна рідина. Змішується з водою і 96 % етанолом. Температура кипіння 184-189 °С. Відносна густина 1,035-1,040 [27]. Застосовують у виробництві лікарських та косметичних форм як пом'якшувальний і зволожувальний компонент, коригує реологічні та осмотичні параметри в'язких систем та їх вологоутримувальні властивості, сприяє підвищенню проникності шкіри для багатьох діючих речовин, виявляє антиоксидантну дію. Також пропіленгліколь постає в ролі гідрофільного неводного розчинника [30].

Поліетиленоксид 400 (Macrogols, Macrogol 400) (ДФУ 2-е вид., С. 424-427) [27]. Неіонний гомополімерний етиленоксид, представлений формулою $(CH_2-CH_2O)_n$, де n – середнє число оксіетиленових груп. Поліетиленоксид 400 – прозора, безбарвна або майже безбарвна (може мати злегка жовтий відтінок), в'язка гігроскопічна рідина з легким, але характерним запахом, і гірким, злегка пекучим смаком. Змішується з водою, дуже легко розчинний в ацетоні, 96 % етанолі і метиленхлориді, практично не розчинний у жирних оліях і мінеральних маслах. Змішується з іншими поліетиленоксидами у всіх співвідношеннях (у розплаві), не змішується з естером. Динамічна в'язкість 105-130 мПа·с. Густина – 1,11-1,14 г/см³ за 25 °С [30, 94].

Натрій гідроксид (Sodium Hydroxide) (ДФУ 2-е вид., Т. 2, с. 475-476) [27]. Натрій гідроксид – білі невеликі гранули, пластівці, палички та інші форми, дуже добре розчинні у воді. Використовують розчин натрій гідроксиду 10 % як нейтралізувальний агент. Для приготування розчину натрій гідроксид у кількості 10,0 г розчиняли в 50 мл води очищеної, доводили об'єм розчину тим же розчинником до 100 мл і відстоювали. Прозорий розчин

відділяли від можливого осаду. Зберігали в щільно закоркованому скляному флаконі [53].

Триетаноламін (Triethanolamine, БрФ; Trolamine, ЄФ) (2,2',2''-нітрилотриетанол). Брутто-формула: $C_6H_{15}NO_3$, М.м 149,2. Прозора, в'язка, безбарвна або злегка жовтувата рідина, дуже гігроскопічна, зі слабким запахом аміаку. Змішується з водою і етанолом, розчинний в метиленхлориді; відносна густина за 20 °С 1,120 - 1,130 г/см³. Застосовують у виробництві лікарських та косметичних засобів у формі гелів, кремів, емульгелів як нейтралізатор карбополу [128]

Сахарин натрію (Saccharin Sodium) (2-натрій-1,2-бензисотіазол-3(2H)-он 1,1-діоксид) (ЄФ 9 вид., USP 40). Брутто-формула: $C_7H_4NNaO_3S \cdot H_2O$, М.м 205,2. Білого або майже білого кольору, без запаху або слабо ароматичний, кристалічний порошок. Легко розчинний у воді, помірно розчинний у 96 % етанолі. Має дуже солодкий смак, з металевим або гірким присмаком [128].

Підсолоджувальний агент, використовуваний у фармацевтичних композиціях у таблетках, порошках, гелях, суспензіях, рідинах та полосканнях для рота. Сахарин натрій значно більше розчинний у воді, ніж сахарин, його частіше використовують у фармацевтичних композиціях. Його підсолоджувальна здатність приблизно в 300-600 разів перевищує сахарозу [41].

Динатрій едетат (Disodium Edetate, Edetate Disodium) (динатрій дигідро(етилендинітрило)тетраацетат дигідрат. Брутто-формула: $C_{10}H_{14}N_2Na_2O_8$, М.м. 372,2) – білий кристалічний, порошок без запаху, має злегка кислий смак. Розчинний у воді, практично не розчинний у 96 % етанолі. рН 5 % розчину від 4,0 до 5,5.

Динатрій едетат використовують як стабілізувальний агент у фармацевтичних препаратах, зокрема в засобах для полоскання рота, офтальмологічних препаратах та препаратах для місцевого застосування, як правило, у концентраціях від 0,005 до 0,1 % [27].

Вода очищена (Aqua purificata, ДФУ 2.0, Том 2, ст. 129–132) – прозора, безбарвна рідина без смаку і запаху. Бутто-формула: H_2O ; молекулярна маса: 18,02; рН – 5,0-7,0 (потенціометрично) [27].

2.3 Методи дослідження

Під час виконання роботи було використано сучасні фізичні, фізико-хімічні, фармакотехнологічні, структурно-механічні, мікробіологічні та фармакологічні методи досліджень, які дозволяють об'єктивно оцінити зразки вихідних речовин і зразки розроблених гелів. Для визначення показників стандартизації зразків розробленого лікарського засобу дотримувалися рекомендацій і методик, наведених у ДФУ 2.0, с. 1098-110 в розділі «М'які лікарські засоби для нашкірного застосування».

2.3.1 Фізичні та фізико-хімічні методи досліджень

Визначення рН гелів. Рівень значення рН зразків визначали потенціометрично (ДФУ вид. 2, Т. 1, 2.2.3) за допомогою приладу РВ-11 «Sartorius AG» (Німеччина). Зразок гелю (близько 2,5 г) поміщали в хімічну склянку місткістю 100 мл, потім електроди каліброваного приладу занурювали у склянку зі зразком і визначали значення рН. Тест проводили 5-6 разів з новими порціями досліджуваних зразків гелів [26].

Визначення однорідності. Дослідження проводили згідно з методикою ДФУ вид. 2, Т. 1, п. 2.9.40 [26].

Визначення герметичності контейнера – згідно з вимогами ДФУ 1.2, додаток 1, с. 315 [24].

Визначення маси вмісту контейнера – згідно з вимогами ДФУ 1.1, п. 2.9.28, с. 86 [24].

Визначення розчинності здійснювали відповідно до ДФУ 1.2, с. 36 [24].

Визначення термостабільності. Пробірку з $(8,0 \pm 2,0)$ г досліджуваних зразків поміщали в термостат із температурою (40 ± 2) °С залишали на

1 тиждень, потім переносили в холодильник із температурою $(10 \pm 2) ^\circ\text{C}$ на 1 тиждень, після чого витримували протягом 3-х діб за кімнатної температури. Стабільність визначали візуально – за відсутністю розшарування [44].

Визначення колоїдної стабільності. Пробірки наповнювали на $2/3$ об'єму (приблизно 9,0 г) досліджуваними зразками (так, щоб маси пробірок із препаратом не відрізнялись більш, ніж на 0,02 г) і зважували з точністю до 0,01 г. Потім пробірки поміщали на водяну баню за температури $(42,5 \pm 2,5) ^\circ\text{C}$ на 20 хв, після чого насухо витирали з зовнішнього боку і розміщували в гнізда центрифуги. Центрифугували протягом 5 хв зі швидкістю 6000 об/хв [44]. Стабільність визначали візуально – за відсутністю розшарування.

Визначення реологічних властивостей гелів (ДФУ 2.0, Т. 1, п. 2.2.10, с. 58-60). Вивчення структурно-механічних властивостей гелів здійснювали на віскозиметрі Brookfield марки DV-II + PRO (США) з системою коаксіальних циліндрів, за допомогою спеціального ротаційного адаптера, який дозволяє проводити реологічні дослідження за мінімальної кількості зразка $(25,0 \pm 0,5 \text{ г})$. Коаксіальну геометрію віскозиметра складають циліндричний шпindel і циліндрична камера, які забезпечують точний контроль вимірювання реологічних параметрів експериментальних зразків. Експериментальні дослідження проходили за певних умов: за кімнатної температури, використовували шпindel SC4-21, якому надавали обертання, починаючи з малих швидкостей деформації, і фіксували показники віскозиметра [26].

Для дослідження брали наважку експериментального зразка (близько 30,0 г) і вміщували в ємність зовнішнього непорушного циліндра, після чого циліндр кріпили до станини приладу, вміщуючи в нього внутрішній рухомий циліндр. У результаті досліджуваній зразок заповнював кільцеву щілину коаксіальних циліндрів. За певних швидкостей обертання внутрішнього циліндру фіксували показники індикатора приладу. Визначення проводили за збільшення швидкості обертання циліндра і в зворотному напрямку [57].

Дотичну напругу зсуву обчислювали за допомогою формули 2.1:

$$\tau_r = Z * a, \quad (2.1)$$

де τ_r – дотична напруга зсуву, Па;

Z – константа приладу (залежить від типу циліндра);

a – покази приладу.

Вимірювання напруги зсуву τ (Па або Н/м²) і швидкості зсуву D_r (с⁻¹) проводили шляхом збільшення числа обертів шпинделя від 20 до 100 об/хв, досягаючи постійних показників за максимального обертання і подальшого зменшення швидкості обертання шпинделя.

Після обчислення напруги зсуву за визначених швидкостей зсуву розраховували структурну в'язкість досліджуваних зразків гелю, користуючись формулою 2.2:

$$\eta = (\tau_r / D_r), \quad (2.2)$$

де η – структурна в'язкість, Па·с;

τ_r – дотична напруга зсуву, Па;

D_r – швидкість зсуву, с⁻¹.

Будували реограми, визначали тип течії системи, наявність тиксо-тропних властивостей тощо.

Визначення ступеня дисперсності та лінійних розмірів дисперсної фази суспензійних систем проводили методом оптичної мікроскопії (ДФУ 2.0, Том 1, п. 2.9.37, ст. 481–483) за допомогою мікроскопа «Delta Optical Genetic Pro» із вмонтованою камерою (об'єктив 40/0,65 160/0.17; окуляр WF 10×/18) [26].

2.3.2 Методики ідентифікації та кількісного визначення активних фармацевтичних інгредієнтів

Ідентифікація та кількісне визначення метронідазол бензоату в гелі

Випробування проводять методом рідинної хроматографії (ДФУ, 2.2.29, 2.2.46) [26].

Приготування випробовуваного розчину. Близько 1000,0 мг (точна наважка) препарату поміщають у мірну колбу місткістю 100,0 мл, додають 60 мл розчинника, витримують на ультразвуковій бані до розчинення наважки. Охолоджують до кімнатної температури, доводять об'єм розчину розчинником до позначки та перемішують. Розчин переносять у центрифужну пробірку та центрифугують протягом 10 хв зі швидкістю 10000 об/хв. Розчин фільтрують крізь мембранний фторопластовий фільтр з розміром пор 0,45 мкм, відкидаючи перші 0,5 мл фільтрату. 5,0 мл отриманого розчину поміщають у мірну колбу місткістю 20,0 мл, доводять об'єм розчину розчинником до позначки та перемішують.

Розчин використовують свіжоприготованим.

Розчин порівняння. Близько 50,0 мг (точна наважка) метронідазол бензоату (ФСЗ ДФУ або USP RS) поміщають у мірну колбу місткістю 50,0 мл, додають 30 мл розчинника, витримують на ультразвуковій бані до розчинення наважки, доводять об'єм розчину тим самим розчинником до позначки та перемішують. 2,0 мл отриманого розчину поміщають у мірну колбу місткістю 50,0 мл, доводять об'єм розчину розчинником до позначки та перемішують.

Розчин використовують свіжоприготованим.

Хроматографування проводять на рідинному хроматографі з діодно-матричним детектором за таких умов:

- хроматографічна колонка Xterra RP18, Waters, розміром 150 × 4,6 мм, з розміром частинок сорбенту 5 мкм, або аналогічна, для якої виконуються вимоги тесту «Перевірка придатності хроматографічної системи»;

- рухома фаза: буферний розчин рН 3,0: *ацетонітрил Р* у співвідношенні (35:65);

- детектування за довжини хвилі 235 нм;
- швидкість потоку рухомої фази – 1,0 мл/хв;
- об'єм інжекції – 15 мкл;
- температура термостата колонки – 40 °С.

Вміст метронідазол бензоату (X_1) в 1 г препарату, у міліграмах, розраховують за формулою 2.3:

$$X_1 = \frac{S_i \times m_0 \times 2 \times P \times 100 \times 20 \times 1000}{S_0 \times 50 \times 50 \times 100 \times m_i \times 5} = \frac{S_i \times m_0 \times P \times 3,2}{S_0 \times m_i} \quad (2.3)$$

де S_i – середнє значення площ піку метронідазол бензоату, розраховане з хроматограм випробуваного розчину;

S_0 – середнє значення площ піку метронідазол бензоату, розраховане з хроматограм розчину порівняння;

m_0 – маса наважки стандартного зразка метронідазол бензоату, у міліграмах;

m_i – маса наважки препарату, у міліграмах;

P – вміст основної речовини в стандартному зразку метронідазол бензоату, у відсотках.

Вміст метронідазол бензоату ($C_{13}H_{13}N_3O_4$) в 1 г препарату має бути від 15,2 мг до 16,8 мг на момент випуску та в процесі зберігання.

Ідентифікація та кількісне визначення мірамістину в гелі

Випробування проводять методом рідинної хроматографії (ДФУ*, 2.2.29, 2.2.46) [26].

Випробовуваний розчин. Близько 1000,0 мг (точна наважка) препарату поміщають у мірну колбу місткістю 25,0 мл, додають 10 мл метанолу P , витримують протягом 5 хв на орбітальному шейкері та 15 хв на ультразвуковій бані. Розчин охолоджують до кімнатної температури, доводять метанолом P об'єм до позначки та перемішують. Розчин фільтрують крізь фторопластовий мембранний фільтр з розміром пор 0,45 мкм, відкидаючи перші 0,5 мл фільтрату. Розчин використовують свіжоприготованим.

Розчин порівняння. Близько 50,0 мг (точна наважка) мірамістину (ФСЗ ДФУ) поміщають у мірну колбу місткістю 25,0 мл, додають 10 мл метанолу *P*, обережно перемішують до розчинення наважки, доводять об'єм до позначки тим самим розчинником та знову перемішують.

5,0 мл отриманого розчину поміщають в мірну колбу місткістю 50,0 мл, доводять метанолом *P* об'єм до позначки та перемішують.

Розчин використовують свіжоприготованим.

Хроматографують розчин порівняння, одержуючи від 2 до 4 хроматограм.

Для площ піків мірамістину з одержаних хроматограм розраховують відносне стандартне відхилення (RSD). Отримання паралельних хроматограм (n_0) припиняють за досягнення вимог до RSD (ДФУ, 2.2.46).

Хроматографування проводять на рідинному хроматографі з ультрафіолетовим детектором за таких умов:

- хроматографічна колонка Phenomenex Luna C18 (2), розміром $150 \times 4,6$ мм з розміром частинок сорбенту 5 мкм, або аналогічна, для якої виконуються вимоги до придатності хроматографічної системи; (L1 за класифікацією USP);

- швидкість рухомої фази – 1,0 мл/хв;

- температура термостата колонки – 35 °C;

- об'єм інжекції – 5 мкл;

- довжина хвилі детектування – 220 нм;

- рухома фаза: ацетонітрил для хроматографії *P* – буферний розчин рН 3,0 у співвідношенні (80:20);

Вміст мірамістину в 1 г препарату, у мг, розраховують за формулою 2.4:

$$X = \frac{S_i \times m_0 \times 5 \times 25 \times P \times 1000}{S_0 \times 25 \times 50 \times m_i \times 100} = \frac{S_i \times m_0 \times P}{S_0 \times m_i} \quad (2.4)$$

де S_i – середнє значення площ піку мірамістину, розраховане з хроматограм випробовуваного розчину;

S_0 – середнє значення площ піку мірамістину, розраховане з хроматограм розчину порівняння;

m_0 – маса наважки стандартного зразка мірамістину, у міліграмах;

m_i – маса наважки препарату, у міліграмах;

P – вміст основної речовини в стандартному зразку мірамістину, у відсотках.

Вміст мірамістину в 1 грамі препарату має бути від 4,75 до 5,25 мг на момент випуску та в процесі зберігання.

Ідентифікація та кількісне визначення натрій гіалуронату в гелі

Випробування проводять методом рідинної хроматографії (ДФУ, 2.2.29, 2.2.46) [26].

Випробовуваний розчин. Близько 1000,0 мг (точна наважка) препарату поміщають у мірну колбу місткістю 25,0 мл, доводять об'єм рухомою фазою до позначки, закривають щільно кришкою розчинення гелю. Розчин переносять у центрифужну пробірку та центрифугують протягом 15 хв зі швидкістю 10000 об/хв. Надосадову рідину фільтрують крізь мембранний фторопластовий фільтр з розміром пор 0,45 мкм, відкидаючи перші 0,5 мл фільтрату. Розчин використовують свіжоприготованим.

Розчин порівняння. Близько 40,0 мг (точна наважка) натрій гіалуронату (ФСЗ ДФУ), попередньо висушеного над *фосфором* (*v*) *оксидом Р* у вакуум-сушильній шафі (остаточний тиск 0,67 kPa) за температури 60 °C протягом 5 годин, поміщають у мірну колбу місткістю 100,0 мл, додають 60 мл *води Р*, витримують на ультразвуковій бані до розчинення наважки, доводять об'єм розчину тим самим розчинником до позначки та перемішують.

10,0 мл отриманого розчину поміщають у мірну колбу місткістю 50,0 мл, доводять об'єм розчину рухомою фазою до позначки та перемішують.

Розчин використовують свіжоприготованим.

Хроматографування проводять на рідинному хроматографі з діодноматричним детектором за таких умов:

– хроматографічна колонка PL-aquagel-ОН, Agilent розміром 300 мм × 7,5 мм, з розміром частинок сорбенту 8 мкм, або аналогічна, для

якої виконуються вимоги тесту «Перевірка придатності хроматографічної системи»;

- рухома фаза А: 0,1 М розчин натрій сульфату;
- рухома фаза В: *ацетонітрил для хроматографії Р*;
- детектування за довжини хвилі : 210 нм;
- швидкість потоку рухомої фази – 1,0 мл/хв;
- об'єм інжекції – 50 мкл;
- температура термостата колонки – 40 °С.

Вміст натрій гіалуронату (X_1) в 1 г препарату, у міліграмах, розраховують за формулою 2.5:

$$X_1 = \frac{S_i \times m_0 \times 10 \times P \times 25 \times 1000}{S_0 \times 100 \times 50 \times 100 \times m_i} = \frac{S_i \times m_0 \times P}{S_0 \times m_i \times 2} \quad (2.5)$$

де S_i – середнє значення площ піку натрій гіалуронату, розраховане з хроматограм випробуваного розчину;

S_0 – середнє значення площ піку натрій гіалуронату, розраховане з хроматограм розчину порівняння;

m_0 – маса наважки стандартного зразка натрій гіалуронату, у міліграмах;

m_i – маса наважки препарату, у міліграмах;

P – вміст основної речовини у стандартному зразку натрій гіалуронату в перерахунку на суху речовину, у відсотках.

Вміст натрій гіалуронату в 1 г препарату має бути від 1,90 мг до 2,1 мг на момент випуску та в процесі зберігання.

2.3.3 Мікробіологічні дослідження

Мікробіологічні дослідження було проведено на базі мікробіологічної лабораторії відділу контролю якості ТОВ «Дослідний завод ДНЦЛЗ» під керівництвом начальника відділу Гранкіної О. Ю. та на кафедрі біотехнології НФаУ під керівництвом професора Стрілець О. П.

Вивчення мікробіологічної чистоти було проведено методом глибокого й поверхневого посіву в агар відповідно до методик ДФУ 1.4, 2.6.12, 2.6.13, 5.1.4 [25].

Дослідження антимікробної активності.

Протимікробну активність дослідних зразків гелів вивчали *in vitro* методом дифузії в агар (метод «колодязів») [63]. Цей метод ґрунтується на здатності активніючих речовин дифундувати в агарове середовище, яке попередньо інокульовано культурами мікроорганізмів. Результати досліджень дозволяють характеризувати як антимікробну активність препарату, так і вивільнення антимікробних речовин з основи, оскільки зони затримки зростання мікроорганізмів утворюються внаслідок дифузії цих речовин у щільне живильне середовище.

Приготовані зразки гелів зберігали в умовах холодильника (5 ± 3 °C). Протимікробну активність визначали відразу після приготування зразків.

Як тест-культури використовували чисті культури: грам-позитивні мікроорганізми *Staphylococcus aureus* ATCC 25293, спорову культуру *Bacillus subtilis* ATCC 6633, грам-негативну культуру *Escherichia coli* ATCC 25922. Антифунгальну дію з'ясовували щодо дріжджеподібного гриба роду *Candida* – *Candida albicans* ATCC 885-653 [5, 6]. Під час проведення досліджень використовували одностодові суспензії бактеріальних мікроорганізмів у фізіологічному розчині та дводобову культуру дріжджеподібного гриба. Мікробне завантаження складало 10^7 колонієутворювальних одиниць мікроорганізмів в 1 мл поживного середовища (КУО/мл).

До чашок Петрі, встановлених на горизонтальній поверхні, вносили по 10 мл розтопленого «голодного» агару. Після застигання нижнього шару агару на його поверхні на рівній відстані один від одного та від краю чашки розміщали стерильні сталеві тонкостінні циліндри (внутрішній діаметр – $(6,0 \pm 0,1)$ мм, висота – $(10,0 \pm 0,1)$ мм). Навколо циліндрів заливали верхній шар, що складався з 14 мл розтопленого та охолодженого до 45–48 °C агару, змішаного з посівною дозою тест-мікроорганізму. Під час роботи з

бактеріальними культурами для другого шару використовували м'ясо-пептонний агар (МПА), під час роботи з дріжджеподібним грибом – агар Сабуро. Після охолодження верхнього шару циліндри виймали стерильним пінцетом і в отримані лунки вносили досліджувані зразки до їх цілковитого заповнення. Чашки Петрі витримували 30-40 хв за кімнатної температури й поміщали в термостат – бактеріальні культури за температури $(32,5 \pm 2,5)^\circ\text{C}$ на 18-24 год, культуру дріжджеподібного гриба за $(22,5 \pm 2,5)^\circ\text{C}$ на 48 год.

Облік результатів проводили шляхом вимірювання зони пригнічення зростання мікроорганізмів, зокрема й діаметра лунок. Вимірювання проводили з точністю до 1 мм, при цьому орієнтувались на повну відсутність видного зростання.

Діаметр зони затримки зростання мікроорганізмів характеризував антимікробну активність експериментальних зразків: відсутність зон затримки зростання мікроорганізмів навколо лунки, а також зону затримки діаметром до 10 мм оцінювали як нечутливість мікроорганізмів до внесеного в лунку зразка; зони затримки зростання діаметром 11-15 мм оцінювали як слабку чутливість культури до концентрації діючої протимікробної речовини, що досліджувалась; зони затримки зростання діаметром 16-25 мм – як показник помірної чутливості штаму мікроорганізму до досліджуваного зразка; зони затримки зростання, діаметр яких перевищував 25 мм, свідчать про високу чутливість мікроорганізмів до досліджуваного зразка [16].

Вивчення ефективності антимікробних консервантів.

Проводили біологічним методом відповідно до рекомендацій ДФУ, розділ 5.1.3. Випробування проводили у такий спосіб: кожний із чотирьох контейнерів із препаратом контамінували суспензією монокультури одного з тест-мікроорганізмів, забезпечуючи мікробне навантаження 10^5 – 10^6 КУО в 1мл препарату. Контаміновані зразки ретельно перемішували для забезпечення рівномірного розподілу мікроорганізмів і зберігали протягом 28 діб за температури від 20 до 25 $^\circ\text{C}$ в захищеному від світла місці.

Для визначення числа життєздатних бактерій з випробовуваних зразків відбирали проби безпосередньо після контамінації, через 14 та 28 діб і робили висівання на густе живильне середовище СКА, для життєздатних дріжджових та плісневих грибів – на густе живильне середовище СДА.

Для визначення числа життєздатних аеробних мікроорганізмів і дріжджових та плісневих грибів по 1 мл контамінованих зразків (кожного окремо) поміщали в стерильний мірний посуд, доводили до визначеного об'єму (співвідношення 1 : 100 для визначення загального числа мікроорганізмів; 1 : 10 – дріжджових та плісневих грибів) стерильною нейтралізуювальною рідиною (полісорбат-80 – 30,0 г; лецитин – 3,0 г; гістидин гідрохлорид – 1,0 г; пептон – 1,0 г; натрій хлорид – 4,3 г; калій дигідрофосфат – 3,6 г; динатрій гідрофосфат дигідрат – 7,2 г; вода очищена – 1000 мл) та ретельно перемішували. Висівали глибинним методом у чашки Петрі з густим живильним середовищем для вирощування бактерій – соєво-казеїновий агар, а для вирощування грибів – Сабуро-декстрозний агар.

Відповідно до вимог ДФУ в оромукозних лікарських засобах логарифм зменшення числа життєздатних бактерій через 14 діб повинен складати не менше 3, через 28 діб – не спостерігатися збільшення числа мікроорганізмів. Логарифм зменшення числа життєздатних дріжджових та плісневих грибів через 14 діб повинен складати не менше 1, через 28 діб – не повинно спостерігатись збільшення числа життєздатних грибів порівняно з кількістю життєздатних мікроорганізмів у попередній контрольній точці.

2.3.4 Фармакологічні дослідження

Фармакологічні дослідження розробленого комбінованого стоматологічного гелю проводили на базі Проблемної лабораторії морфофункціональних досліджень НФаУ під керівництвом д-ра фарм. наук, проф. Малоштан Л. М та Центральної науково-дослідної лабораторії (ЦНДЛ) НФаУ під керівництвом канд. біол. наук, завідувача лабораторії Литкіна Д. В.

Під час здійснення експериментів дотримувалися етичних норм і рекомендацій щодо гуманного ставлення до лабораторних тварин, які зазна-

чено Європейською конвенцією із захисту хребетних тварин, використовуваних для експериментальних і інших наукових цілей (Страсбург, 1985), а також Наказів МОЗ України № 944 від 14.12.2009 р. і № 95 від 16.02.2009 р. [29, 127].

На базі Проблемної лабораторії морфофункціональних досліджень НФаУ вивчали специфічну активність стоматологічного комбінованого гелю на моделі експериментального гінгівіту та протизапальну дію – шляхом дослідження його антиексудативної активності у щурів і мишей на 2 моделях асептичного запалення (карагеніновому набряку і термічному запаленні).

Вивчення ефективності комбінованого стоматологічного гелю на моделі експериментального гінгівіту.

Моделювання патології відтворювали у 2 етапи. Спочатку моделювали дисбіоз ротової порожнини щурів, потім викликали локальне ураження слизової оболонки присінку нижньої щелепи та ясен. Дисбіоз ротової порожнини викликали щоденним внутрішньошлунковим введенням щурам водного розчину лінкоміцину (ПАТ «Артеріум», Україна) у дозі 60 мг/кг протягом 5 діб. Лінкоміцин використано з тієї обставини, що він значною мірою пригнічує пробіотичні види мікробів, які складають фізіологічну мікрофлору організму, тобто біфідобактерії і лактобацили. Після чого на СО присінку нижньої щелепи та ясна щурів наносили суспензію бджолоїної отрути в концентрації 2 мг/мл в об'ємі 1-2 мл/тварину протягом 3 діб. Лікування досліджуваними засобами розпочинали на 13 добу експерименту. З 14 доби починали лікування досліджуваним гелем, який наносили тваринам на уражені місця СО нижньої щелепи 1 раз на день протягом 5 діб у вигляді аплікацій.

Інтенсивність розвиненого запального процесу оцінювали за виразністю запальної реакції СО присінку нижньої щелепи. За основу було прийнято напівкількісне візуальне оцінювання в балах за Соколовським В. В. [11, 88]: 0 балів – відсутність гіперемії та будь-яких ознак; 1 бал – слабе почервоніння СО пристінку та щік; 2 бали – набряк; 3 бали – збільшення в об'ємі ясенної борозенки; 4 бали – кровоточивість.

На 14 добу (6 доба лікування) тварин виводили з експерименту декапітацією під хлороформним наркозом, збирали кров для приготування сироватки. Стан ПОЛ/АОС оцінювали за рівнем продуктів, що реагують з тіобарбітуровою кислотою (ТБК-активних продуктів) [89] та вмістом каталази [36]. Оцінку виразності запалення СО та ефективності досліджуваного засобу проводили, порівнюючи з групою ІК, на підставі клінічних критеріїв та кількості лейкоцитів у крові, яку визначали в динаміці до початку та на 5-у добу лікування [60]. Кров у тварин для дослідження брали з кінчика хвоста.

Вивчення протизапальної дії комбінованого стоматологічного гелю на моделі карагенінового набряку та термічного запалення.

Для моделювання гострого запалення у дослідженні використовували 0,1 % розчин карагеніну, який вводили субплантарно з розрахунку 0,1 мл на тварину масою 180-200 г. Розмір набряку вимірювали через 3,0 год після введення індуктора запалення за допомогою онкометра.

Протизапальну активність розраховували за формулою 2.6:

$$A = 100 - (РД \cdot 100) Рк \quad (2.6)$$

де А – антиексудативна активність;

Рд – приріст об'єму стопи в дослідній групі;

Рк – приріст об'єму стопи в контрольній групі.

Модель для оцінювання протизапальної активності відтворювали шляхом занурення задньої правої лапи мишей у гарячу воду з температурою $(66,5 \pm 0,5) ^\circ\text{C}$ на 4 с. Через 24 год після відтворення термічного запалення мишей виводили з експерименту за допомогою дислокації шийних хребців під ефірним наркозом. У тварин відрізали обидві задні лапки на рівні надстопомілкового суглоба, зважували на торсійних вагах марки «ВТ-500» і визначали різницю в масі між набряклою і здоровою лапами. Протизапальну активність досліджуваних зразків гелю оцінювали за

зменшенням набряку лапи у тварин з термічним опіком порівняно з групою контролю.

Піддослідні тварини в обох експериментах були поділені на 5 груп: 1 група – контрольна патологія; 2 – тварини, яким наносили досліджуваний гель з лікувальною метою; 3 – тварини, яким наносили препарат порівняння – гель «Метрогіл дента» з лікувальною метою; 4 – тварини, яким наносили досліджуваний гель з лікувально-профілактичною метою; 5 – тварини, яким наносили гель «Метрогіл дента» з лікувально-профілактичною метою.

Для отримання статистичних висновків під час порівняння вибірок відповідних перемінних застосовували однофакторний дисперсний аналіз – критерій Ньюмена-Кейлса для числових порівнянь або критерії Крускала-Волліса та Манна-Вітні (для даних, які не підлягають нормальному закону розподілу). Відмінності між групами вважали статистично значущими за $p < 0,05$. Статистичне оброблення даних проводили за допомогою стандартних пакетів програм «Statistica 6.0» та Excel 2007 [78, 82].

Вивчення ранозагоювальної дії комбінованого стоматологічного гелю.

Дослідження проводили на 24 аутбредних статевозрілих щурах (самках), масою 200-240 г, віком 3,5-4 місяці, що їх упродовж експерименту утримували у віварію ННТЦ МБД НФаУ в стандартних умовах, відповідних для такого виду експериментальних тварин [29, 100]. Дослідження виконували з дотриманням принципів біотики, наведених у Директиві 2010/63/EU Ради ЄС «Про охорону тварин, використовуваних з науковою метою» (Брюссель, 2010) [127].

Ранозагоювальну активність нових об'єктів вивчали на моделі повношарової трафаретної рани [104]. Площинні рани відтворювали на попередньо депільованій ділянці шкіри, у наркотизованих тварин в асептичних умовах; хірургічно рани було виконано розміром 100 мм².

Після відтворення модельної рани тварин було рандомізовано в групи по 6 тварин у кожній: група № 1 – негативний контроль (НК); група

№ 2 – де використовували тест-зразок гелю з метронідазолом та мірамістином (ТЗ); група № 3 – де використовували тест-зразок гелю з метронідазолом, мірамістином та гіалуроновою кислотою (ТЗ + ГК); група № 4 – де використовували референтний зразок (РЗ).

Досліджувані препарати наносили щоденно один раз на добу тонким шаром в емпіричній дозі 20 мг/см² до повного загоєння. Як препарат порівняння використано зареєстрований в Україні лікарський засіб із доведеною репаративною дією – мазь метилурацил з мірамістином виробництва ФФ «Дарниця».

Основними показниками верифікації ранозагоювальної дії препаратів були площа трафаретних ран (S , мм²), коефіцієнт швидкості загоєння і відсоткова кількість тварин із загоєними ранами проти контрольної групи. Ефективність препаратів вивчали в динаміці – 1, 4, 7, 10, 11, 12, 13, 14, 15, 16, 17, 18, 19, 20 та 21 доба лікування. Спостереження проводили до повного рубцювання ран.

Площу вимірювали за методом Л. Н. Попової, прикладаючи до рани прозорий трафарет і вираховуючи площу ран (y мм²), характер загоєння ран оцінювали за наявності набряку та гіперемії в динаміці [Ошибка! Источник ссылки не найден.]. Коефіцієнт швидкості загоєння рани (V) вираховували за формулою 2.7:

$$V = (S_{\text{макс}} - S_{\text{досл}}) / S_{\text{макс}}, \quad (2.7)$$

де $S_{\text{макс}}$ – максимальна площа ран (1-й день лікування), мм²;

$S_{\text{досл}}$ – площа рани в день вимірювання, мм².

Отримані результати виражали через середнє значення (M) та його похибку (SEM). Порівняння між досліджуваними групами проводили за допомогою непараметричного критерію Манна-Вітні та альтернативного методу – кутове перетворення Фішера (ϕ). Відмінності між досліджуваними групами вважали статистично значущими за $p < 0,05$. Для статистичного

оброблення використали базовий пакет програм Statistica 6 і Excel 2007 [78, 82].

Статистичне оброблення результатів досліджень. Статистичне оброблення результатів фізичних і фізико-хімічних, фармакотехнологічних та біологічних досліджень проводили відповідно до методик, наведених у ДФУ 1.1, п. 5.3, С. 151 [24].

Висновки до розділу 2

1. Наведено коротку характеристику діючих та допоміжних речовин, використаних для проведення фармацевтичної розробки стоматологічного гелю.

2. Опрацьовано та наведено методики фізичних, фізико-хімічних, структурно-механічних, технологічних, мікробіологічних та фармакологічних досліджень, які було використано під час розробки складу, технології, методів контролю якості комбінованого стоматологічного гелю.

РОЗДІЛ 3

ОБҐРУНТУВАННЯ СКЛАДУ ТА РОЗРОБКА ТЕХНОЛОГІЇ СТОМАТОЛОГІЧНОГО ГЕЛЮ КОМПЛЕКСНОЇ ДІЇ

За останні десятиліття серед лікарських засобів для застосування в стоматології постійно зростає частка препаратів у формі гелю і у вигляді зубних паст, які використовують з лікувальною метою. Гель дозволяє поєднати в собі властивості твердого тіла і рідини. Як тверде тіло він має форму, певну консистенцію, володіє здатністю затримуватися на зубах і тканинах порожнини рота. Одночасно в ньому, як в рідині, відбуваються значні й інтенсивні процеси дифузії, у результаті чого гель дуже ефективний для аплікаційного і електрофоретичного введення речовин [15, 39, 52].

Завдяки утворенню в ньому водних внутрішніх структур гель дозволяє поєднати у своєму складі хімічно несумісні речовини, тому що водяна оболонка перешкоджає хімічній реакції між ними. Гелі, виготовлені на основі рідкозшитих акрилових полімерів, мають низку переваг над мазями на ліпофільних основах, оскільки за нанесення на уражену ділянку утворюють найтонші гладкі плівки, забезпечуючи пролонгований ефект препаратів; більш повно і рівномірно вивільняють лікарські речовини, поглинають шкірні екскреторні й секреторні продукти, добре розподіляються по поверхні; надають охолоджувальної дії, не порушують фізіологічні функції, не викликають алергічних реакцій та подразнювальної дії [6, 17, 94].

Тому для розробки стоматологічного засобу та з метою вибору лікарської форми препарату було обрано гель, який є оптимальною формою серед інших м'яких лікарських форм [74, 156].

За даними літератури, у світовій фармацевтичній практиці для виробництва гелів найбільш широко використовують синтетичні високомолекулярні полімери акрилової кислоти – карбополи.

Карбопол – широко вживаний гелеутворювач, який дозволяє отримати високоефективні препарати у формі гелів, кремів для зовнішнього

застосування, гелів для орального застосування, препаратів для нанесення на слизову оболонку ока, гелів для вагінального застосування [54].

Основні переваги карбополу: отримання високих показників рівня в'язкості за низьких значень концентрації; винятково висока стійкість після довгого нагрівання та охолодження; ідентичність рівня в'язкості в широкому діапазоні значень показника рН; висока мікробіологічна й колоїдна стабільність; забезпечення стійкості суспензій нерозчинних лікарських речовин; не токсичність [30, 54].

До складу гелевої основи прийнято вводити такі гідрофільні неводні розчинники, як пропіленгліколь, ізопропанол, спирт етиловий, гліцерин та ін., так звані стимулятори проникнення – пенетранти. Вибір гідрофільних неводних розчинників і їх концентрацій пов'язаний з наявними сьогодні підходами до вибору основи як носія лікарської речовини для м'якого лікарського засобу [30, 94].

Під час створення рецептури гелю використовують цілий комплекс допоміжних речовин, який забезпечує фізичну, хімічну та мікробіологічну стабільність продукту впродовж певного проміжку часу [6, 15, 22].

Отже, серед м'яких лікарських засобів гелі посідають особливе місце, постачаючи лікарську речовину в певну ділянку запалення, а гелеві основи з карбополом найбільш перспективні для використання в розробці нових препаратів.

3.1 Теоретичне та експериментальне обґрунтування вибору діючих речовин та їх концентрації у складі стоматологічного гелю

Відповідно до сучасних поглядів запальні захворювання пародонту належать до інфекційних хронічних запальних захворювань, тому нормалізація мікрофлори порожнини рота є неодмінною умовою їх раціональної терапії. За хронічного гінгівіту й пародонтиту відбуваються зрушення в бік переважання анаеробної флори, у разі запалення в пародонтальних лакунах

кількість штамів анаеробних бактерій збільшується до 70-80 %, тоді як в нормі кількість анаеробів на перевищує 20-30 %. У розвитку гінгівіту та пародонтиту значно важать анаеробні мікроорганізми (наприклад, *P.intermedia*), і насамперед – бактероїди, які виробляють агресивні ферменти, що руйнують білки сполучної тканини, а також кісткову тканину. Цим і пояснюється доцільність місцевого застосування анаеробіцидних препаратів у лікуванні запальних захворювань пародонту [19, 20]. Враховуючи викладену вище інформацію, для розробки комплексного лікарського засобу необхідно обрати АФІ, що будуть виявляти антибактеріальну, протизапальну, антиоксидантну дію.

На сьогодні «золотим стандартом» анаеробіцидних засобів є метронідазол, що виявляє високу ефективність у разі запальних захворювань пародонту, особливо в поєднанні з іншими антисептиками.

Метронідазол чинить антибактеріальну дію, активний проти анаеробних найпростіших та анаеробних бактерій; ефективний щодо *Trichomonas vaginalis*, *Giardia intestinalis*, *Gardnerella vaginalis*, *Entamoeba histolytica*, *Lamblia spp.* (*B. fragilis*, *B. distasonis*, *B. thetaiotaomicron*, *B. vulgatus*, *B. ovatus*), *Fusobacterium spp.* і деяких грам-позитивних мікроорганізмів: *Eubacterium spp.*, *Clostridium spp.*, *Peptostreptococcus spp.*, *Peptococcus spp.* [56]. Механізм дії метронідазолу полягає в біохімічному відновленні 5-нітрогрупи метронідазолу внутрішньоклітинними транспортними протеїнами анаеробних мікроорганізмів і найпростіших. Відновлена 5-нітрогрупа метронідазолу взаємодіє з ДНК мікроорганізмів, пригнічуючи її синтез, що призводить до загибелі мікроорганізмів [58].

Крім того, за зовнішнього застосування метронідазол володіє незначною антиоксидантною і дерматотропною активністю. Доведено, що метронідазол значно зменшує вироблення нейтрофілами активного кисню, гідроксильних радикалів і перекису водню, які є потенційними окисниками і можуть завдати шкоди тканинам у місці запалення.

Метронідазол рекомендовано для монотерапії у разі анаеробних інфекцій (у широкій клінічній практиці досить рідкісна ситуація), але, як

правило, найбільш часто його застосовують для лікування змішаних аеробно-анаеробних інфекцій, а також інфекцій: шкіри (рожеві і вульгарні вугрі, інфекційні захворювання шкіри, жирна себорея, себорейний дерматит, трофічні виразки нижніх кінцівок на тлі варикозного розширення вен, цукрового діабету, опіки, пролежні тощо); м'яких тканин, суглобів; порожнини рота, навколозубних тканин; ЦНС, зокрема й абсцесів мозку, менінгіту; інтраабдомінальних (перитоніт, внутрішньочеревні абсцеси, абсцес печінки, інфекції жовчного міхура); у ділянці малого тазу (ендометрит, пельвіо-перитоніт, тубооваріальний абсцес, інфекції після кесарева розтину, інфікований аборт); бактеріального вагінозу; у колоректальній області; дихальних шляхів (абсцес легені, аспіраційна пневмонія); за ендокардитів; бактеріємії, спричиненої *Bacteroides fragilis* [94, 126, 148].

Метронідазол використовують для лікування [13, 34, 59, 107, 142]:

- інфекційно-запальних захворювань пародонту та слизової оболонки ротової порожнини;
- катарального, гіпертрофічного гінгівіту (гострий та хронічний перебіг);
- гострого виразково-некротичного гінгівіту (гінгівіт Венсана);
- генералізованого пародонтиту (хронічний та загострений перебіг);
- травм слизової оболонки порожнини рота, спричинених зубними протезами;
- альвеоліту (запалення лунки після видалення зуба);
- для профілактики загострень хронічного гінгівіту та пародонтиту.

Метронідазол у вигляді гелю застосовують у стоматології для лікування стоматиту, пародонтиту та гінгівіту. Найчастіше в стоматології використовують препарат «Метрогіл-дента» («Юнік Фармасьютикал Лабораторіз», Індія), який невеликими дозами наносять на ясна після чищення зубів і два-три рази на добу [21, 121].

Одним зі шляхів підвищення ефективності медикаментозного лікування є оптимальний вибір та комбінація лікарських препаратів. Протягом

багатьох років у косметології, у різних галузях медицини, зокрема в офтальмології, травматології (переважно для лікування опіків), артрології успішно застосовують гіалуронову кислоту. Завдяки своїм фізико-хімічним властивостям, таким, як висока в'язкість, специфічна здатність зв'язувати воду й білки та утворювати протеогліканові агрегати, гіалуронова кислота сприяє прояву численних функцій сполучної тканини, що особливо важливо для регенерації тканин пародонту та слизової оболонки порожнини рота [33]. У зв'язку з цим гіалуронова кислота знаходить дедалі ширше застосування в стоматологічній практиці.

Гіалуронова кислота є одним із головних компонентів міжклітинного матриксу сполучної тканини. Вона сприяє значною мірою клітинній проліферації. Доведено, що гіалуронова кислота захищає бактерії від антимікробної дії фагоцитів та полегшує їх адгезію до епітеліальних клітин людини. Гіалуронова кислота, формуючи міжклітинні простори, полегшує проникнення поживних речовин до клітин та видаляє продукти метаболізму, підтримує активний обмін речовин між кров'ю та тканинами, моделює функційний стан фагоцитів та імунокомпонентних клітин, взаємодіючи з рецепторами клітинних поверхонь, стимулює міграцію фібробластів та клітинну проліферацію [8, 62]. Всі ці властивості особливо важливі під час регенерації тканин. Завдяки в'язкості гіалуронової кислоти нівелюється процес проникнення бактерій та вірусів. Ця бар'єрна властивість гіалуронової кислоти має дуже важливе значення в процесах заживлення операційних ран.

Гіалуронова кислота (гіалуронат, гіалуронан) – основний компонент сполучної, епітеліальної і нервової тканини, що належить до групи ліпідів, що, завдяки своїм фізико-хімічним властивостям, забезпечує прояв більшості її функцій, зокрема структуроутворювальної, регуляції клітинного диференціювання, трофічної, транспортної [7]. У великих кількостях її виявлено в пупочному канатику, шкірі, оболонках яйцеклітин, а також у рогівці ока, кістках, клапанах серця [84, 133, 144].

У тканинах і рідинах гіалуронова кислота існує у вільному стані або асоційована з білками, утворюючи в'язкі розчини. Біополімер входить до

складу основної речовини багатьох видів сполучної тканини – до 5 % від маси (півнячі гребені, склоподібне тіло ока, синовіальна рідина, шкіра). Бере участь у підтримці водного та плазмового білкового гомеостазу. Порушення будь-якої ланки призводить до ослаблення опірності тканин пародонту і сприйнятливості до впливу негативних факторів.

Крім своїх унікальних фізико-хімічних властивостей (висока гідрофільність, особливі реологічні властивості, гістомодифікувальна дія), гіалуринова кислота володіє широким спектром біологічних впливів, позначаючись на функції ендотеліоцитів, стимулюючи біосинтез колагену, усуваючи запальні та деструктивні процеси в суглобах [118, 152, 165]. Усе це зумовило широке застосування препаратів гіалуринової кислоти в медицині, зокрема й у стоматології [91, 96, 112, 148].

З'ясовано участь натрій гіалуронату на ранніх стадіях ембріогенезу в розвитку зубного епітелію [113]. Гіалуринова кислота є необхідним компонентом непошкоджених, здорових ясен і слизової оболонки порожнини рота. Вона має тенденцію концентруватися в поверхневих шарах епітелію ясен. Тут гіалуринова кислота діє як бар'єр, надаючи стійкості й еластичності сполучній тканині пародонту – гіалуринова кислота виконує й суто механічний захист від проникнення хвороботворних агентів, хімічних речовин, протидіє поширенню бактерій, лізуючій дії гіалуронідази бактерій. Водневі зв'язки гіалуринової кислоти можуть інактивувати деякі з ферментів бактерій, що викликають запалення. Так, в області вогнища запалення утворюється в'язка зона з кислотними властивостями, що погіршує умови існування мікробів, ускладнює їх інвазію в навколишні тканини [7, 61, 115].

Гіалуринова кислота виявляє бактеріостатичну, протизапальну дію. Також дослідження виявили, що гіалуронан бактеріостатично по-різному діє на бактеріальні штами, залежно від його молекулярної маси і концентрації. Високі концентрації з середньою молекулярною вагою гіалуронану чинили найбільший бактеріостатичний ефект, особливо на *Actinobacillus actinomycetem comitans*, *Prevotella Oris*, золотистого стафілокока. Результати

цього дослідження припускають, що гіалуронан молекулярною масою 1,300 Да може бути використаний для мінімізації бактеріальних забруднень [133].

Гіалуронан-гель з високою молекулярною вагою знижує проліферацію клітин у яснах – епітеліальних клітин, фібробластів і лімфоцитів, зменшує запалення, покращує стан пародонту в пацієнтів з хронічним процесом [167].

Доведено ефективність застосування гіалуронану в терапії гінгівіту [7, 59, 151]. Запропоновано композицію на основі гіалуронової кислоти, що використовують у стоматології для зупинки кровотеч з ясен, викликаних екстракцією зуба або патологічним процесом (пародонтоз), яка становить собою водний, переважно 1-2 %-ний розчин гіалуронової кислоти, що додатково містить іони хрому (3+) [147].

Отже, гіалуронова кислота знайшла широке застосування в багатьох напрямках медицини. Ще радянськими вченими продемонстровано можливість її використання в стоматології, що підтверджується дослідженнями останніх років [22, 23, 24].

Застосування мірамістину в стоматології зумовлено його фармакологічними властивостями. Діюча речовина (мірамістин) знищує стафілококи, виявляє активну антигрибкову й протизапальну дію. Мірамістин лікує інфекції ротової порожнини, запалення слизової, сприяє загоєнню тканин [1, 5, 37, 79].

Мірамістин має широкий спектр антимікробної дії, враховуючи й госпітальні штами, резистентні до антибіотиків. Препарат виявляє виражену бактерицидну дію щодо грам-позитивних (*Staphylococcus spp.*, *Streptococcus spp.*, *Streptococcus pneumoniae* і ін.), грам-негативних (*Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Klebsiella spp.* та ін.), аеробних і анаеробних бактерій, яких визначено у вигляді монокультур і мікробних асоціацій, зокрема госпітальних штамів з полірезистентністю до антибіотиків. Проявляє протигрибкову дію на аскоміцети роду *Aspergillus* і роду *Penicillium*, дріжджові (*Rhodotorula rubra*, *Torulopsis gabrata* тощо) і дріжджоподібні гриби (*Candida albicans*, *Candida tropicalis*, *Candida krusei*, *Pityrosporum*

orbiculare (Malassezia furfur) тощо), дерматофіти (*Trichophyton rubrum*, *Trichophyton mentagrophytes*, *Trichophyton verrucosum*, *Trichophyton schoenleinii*, *Trichophyton violaceum*, *Epidermophyton Kaufman-Wolf*, *Epidermophyton floccosum*, *Microsporum gypseum*, *Microsporum canis* та ін.), а також на інші патогенні гриби у вигляді монокультур і мікробних асоціацій, враховуючи й грибкову мікрофлору з резистентністю до хіміотерапевтичних препаратів. Чинить противірусну дію, активний щодо складноутворених вірусів (віруси герпесу, вірус імунодефіциту людини та інші). Мірамістин не виявляє місцевопідразнювальної дії та алергізувальні властивості [3, 40, 79].

Отже, як АФІ нами було обрано метронідазол бензоат, натрієву сіль гіалуронової кислоти та мірамістин.

Дослідження з вивчення антимікробної активності модельних складів комбінованого гелю були першим етапом з вибору ефективної концентрації діючих речовин.

Об'єктами досліджень задля вивчення антимікробної активності були 4 модельних зразки оромукозного гелю, склад яких наведено в табл. 3.1.

Таблиця 3.1

Склад модельних зразків оромукозного гелю

Модельний зразок гелю	Вміст діючих речовин гелю, г/100 г
Зразок 1	метронідазол бензоат – 1,00; мірамістин – 0,50
Зразок 2	метронідазол бензоат – 1,20; мірамістин – 0,20
Зразок 3	метронідазол бензоат – 1,60; мірамістин – 0,50
Зразок 4	метронідазол бензоат – 1,60; мірамістин – 0,50; натрій гіалуронат – 0,20

Антимікробну активність дослідних зразків гелів вивчали *in vitro* методом дифузії в агар (метод «колодязів») [16]. Цей метод ґрунтується на здатності діючих речовин дифундувати в агарове середовище, яке попередньо інокульовано культурами мікроорганізмів.

Приготовані зразки гелів зберігали в умовах холодильника ($t = 5 \pm 3^\circ\text{C}$). Протимікробну активність визначали відразу після приготування зразків.

Як тест-культури використовували чисті культури: грам-позитивні мікроорганізми *Staphylococcus aureus* ATCC 25293, спорову культуру *Bacillus subtilis* ATCC 6633, грам-негативну культуру *Escherichia coli* ATCC 25922. Антифунгальну дію з'ясовували щодо дріжджеподібного гриба роду *Candida* – *Candida albicans* ATCC 885-653 [16, 25]. Під час проведення досліджень використовували однодобові суспензії бактеріальних мікроорганізмів у фізіологічному розчині та дводобову культуру дріжджеподібного гриба. Мікробне завантаження складало 10^7 колонієутворювальних одиниць мікроорганізмів в 1 мл поживного середовища [43].

Облік результатів проводили шляхом вимірювання зони пригнічення зростання мікроорганізмів, зокрема й діаметрів лунок, що утворили сталеві тонкостінні циліндри з внутрішнім діаметром $(6,0 \pm 0,1)$ мм. Вимірювання проводили з точністю до 1 мм, при цьому орієнтувались на повну відсутність видного зростання.

Діаметр зони затримки зростання мікроорганізмів характеризував антимікробну активність експериментальних зразків гелю таким чином:

- антимікробна дія відсутня – відсутність затримки зростання мікроорганізмів навколо лунки до зони з діаметром до 10 мм;
- слабка антимікробна дія – зона затримки зростання діаметром 11-15 мм;
- помірна антимікробна дія – зона затримки зростання діаметром 16-25 мм;
- висока антимікробна дія – зона затримки зростання діаметром більше 25 мм.

Результати проведених досліджень із вивчення протимікробних властивостей оромукозних гелів щодо різних культур мікроорганізмів наведено в табл. 3.2.

Дані, наведені в табл. 3.2, свідчать про те, що всі досліджувані зразки оромукозного гелю володіють широким спектром протимікробної дії щодо використаних тест-штамів бактерійних грам-позитивних та грам-негативних

мікроорганізмів, а також виявляють фунгіцидну дію щодо дріжджеподібного гриба роду *Candida*. Варто зазначити, що наявність протимікробної дії зразків зумовлено поєднанням антисептика й антибактеріального препарату, зокрема різними механізмами їхньої дії.

Таблиця 3.2

Результати антимікробної активності зразків (n = 5)

Зразок	Культура мікроорганізмів			
	<i>S. aureus</i> ATCC 25293	<i>B. subtilis</i> ATCC 6633	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>C. albicans</i> ATCC 885-653
	Діаметри зони затримки зростання мікроорганізмів, мм			
1	28,4 ± 0,5	26,6 ± 0,5	27,2 ± 0,4	23,8 ± 0,4
2	19,8 ± 0,4	22,6 ± 0,5	23,2 ± 0,4	21,2 ± 0,4
3	31,0 ± 0,7	27,8 ± 0,4	30,2 ± 0,4	26,6 ± 0,5
4	31,6 ± 0,5	27,6 ± 0,5	29,8 ± 0,4	26,8 ± 0,4

Експериментально доведено, що всі тест-штами мікроорганізмів є високо чутливими до досліджуваних зразків № 3 і 4 (діаметр зон затримки зростання культур перевищує 25 мм) і ці зразки гелів мають найбільшу протибактеріальну й антифунгальну активності.

Зразок № 1 також проявив високу активність щодо бактеріальних тест-культур – *S. aureus* (28,4 ± 0,5 мм), *B. subtilis* (26,6 ± 0,5 мм), *E. coli* (27,2 ± 0,4 мм), але щодо дріжджеподібного гриба роду *Candida C. albicans* цей зразок виявив помірну активність (23,8 ± 0,4 мм).

Зразок № 2 проявив помірну протимікробну дію щодо всіх використаних тест-культур – як бактерій (*S. aureus*, *B. subtilis*, *E. coli*), так і дріжджеподібного гриба роду *C. albicans* (діаметр зон затримки зростання складає 16-25 мм).

Отже, отримані результати експерименту засвідчили, що досліджувані зразки м'якої лікарської форми – оромукозні гелі – володіють широким спектром антимікробної дії, однак найбільш перспективними для подальших досліджень постають зразки № 3 і 4. Оскільки потенційна терапевтична дія гелю має бути спрямована як на етіологічні фактори, так і на патологічні

процеси, які виникають під час захворювання, для подальших досліджень нами було обрано модельний зразок гелю № 4, що додатково містить натрій гіалуронат.

3.2 Розробка раціонального складу стоматологічного гелю для лікування інфекційно-запальних захворювань ясен та слизової оболонки рота

З біофармацевтичного погляду найбільш оптимальною є присутність лікарської речовини (АФІ) у готовій лікарській формі у вигляді розчину [9, 73, 85, 93]. У зв'язку з цим нами було вивчено розчинність метронідазол бензоату, натрій гіалуронату, мірамістину (табл. 3.3) в чистих розчинниках – воді очищеній, пропіленгліколі, поліетиленоксид-400.

Таблиця 3.3

Визначення розчинності АФІ

Найменування АФІ	Розчинник	Температура, °C	Висновок
Метронідазол бензоат	Вода	23-25 °C	Практично не розчинний
	Пропіленгліколь	23-25 °C	Не розчинний
	Пропіленгліколь	80-90 °C	Добре розчинний
Натрій гіалуронат	Вода	23-25 °C	Помірно розчинний
Мірамістин	Вода	23-25 °C	Добре розчинний
	Поліетиленоксид-400	23-25 °C	Практично не розчинний
	Поліетиленоксид-400	50-60 °C	Добре розчинний

Як свідчать дані табл. 3.3, найбільш придатним для розчинення АФІ є:

- метронідазол бензоат – пропіленгліколь, підігрітий до температури 80-90 °C;
- натрій гіалуронат – вода очищена;
- мірамістин – добре розчиняється як у воді очищеній, так і в поліетиленоксид-400(ПЕО-400) за температури 50-60 °C.

Для розробки складу стоматологічного гелю для лікування інфекційно-запальних захворювань ясен та слизової оболонки рота визначали мінімальні концентрації розчинників, які забезпечують повне розчинення діючих речовин (метронідазол бензоат, натрій гіалуронат, мірамістин). Дані досліджень подано в табл. 3.4, 3.5 та 3.6.

Таблиця 3.4

**Визначення мінімальної кількості пропіленгліколю для
розчинення метронідазол бензоату 16,00 мг/г**

№ п/н	Концентрація пропіленгліколю, мг/г	Температура, °С	Висновок
1	20,00	80-90 °С	Недостатня кількість для змочування метронідазол бензоату
2	30,00	80-90 °С	Не розчинився під час перемішування протягом 30 хв
3	40,00	80-90 °С	Розчинився під час перемішування протягом 25 хв
4	50,00	80-90 °С	Розчинився під час перемішування протягом 10 хв

З огляду на результати, наведені в табл. 3.4, було обрано 5 % концентрацію пропіленгліколю для розчинення метронідазол бензоату.

Таблиця 3.5

**Визначення мінімальної кількості води очищеної для
розчинення натрієвої солі гіалуронової кислоти 2,00 мг/г**

№ п/н	Концентрація води очищеної, мг/г	Температура, °С	Висновок
1	50,00	23-25 °С	Через 30 хв перемішування помітне неповне розчинення
2	100,00	23-25 °С	Розчинилася під час перемішування протягом 30 хв
3	200,00	23-25 °С	Добре розчинилася під час перемішування протягом 10 хв

Як свідчать дані табл. 3.3, мірамістин та натрій гіалуронат розчиняються у воді. Розчинення зазначених АФІ вивчали в основному розчиннику – воді очищеній, а для мірамістину додатково ще й у ПЕО-400.

Таблиця 3.6

**Визначення мінімальної кількості ПЕО-400
для розчинення мірамістину 5,00 мг/г**

№ п/н	Концентрація ПЕО-400, мг/г	Температура, °С	Висновок
1	100,00	50-60 °С	Не достатня кількість розчинника
2	150,00	50-60 °С	Не розчинилися під час перемішування протягом 30 хв
3	200,00	50-60 °С	Розчинилися повністю під час перемішування протягом 10 хв

Проаналізувавши отримані дані, визначили мінімальну кількість води очищеної для розчинення натрій гіалуронату, що становить 20 %.

За даними табл. 3.6, для розчинення мірамістину в кількості 5,00 мг/г потрібно 20 % ПЕО-400. Використання води очищеної як розчинника забезпечує кращий результат і не потребує нагрівання, про що свідчать результати, наведені в табл. 3.7.

Таблиця 3.7

**Визначення мінімальної кількості води очищеної
для розчинення мірамістину 5,00 мг/г**

№ п/н	Концентрація води очищеної, мг/г	Температура, °С	Висновок
1	50 мг	23-25 °С	Недостатня кількість розчинника
2	75 мг	23-25 °С	Розчинення під час перемішування протягом 30 хв
3	100 мг	23-25 °С	Розчинився повністю під час перемішування протягом 10 хв

За отриманими даними з'ясовано, що для розчинення мірамістину в кількості 5,00 мг/г потрібно 10 % води очищеної.

Для вибору гелеутворювача серед карбомерів, дозволених до застосування в складі оромукозних лікарських засобів, вивчали набрякальну здатність гелеутворювачів-карбомерів: Carbopol® 974P, Carbopol® 934P, Carbopol® Ultrez 10 (табл. 3.8).

Таблиця 3.8

**Швидкість досягнення граничного ступеня набухання
карбополів різних марок**

Марка карбополу	Кількість, г/100 г	Час повного набухання
Carbopol® 974P	1,0	300 хв
Carbopol® 934P	1,0	80 хв
Carbopol® Ultrez 10 NF	1,0	10 хв

За результатами дослідів було виявлено, що швидкість досягнення граничного ступеня набрякання Carbopol® Ultrez 10 багаторазово перевищувала швидкості набрякання двох інших марок карбомерів.

У ході експериментального підбору гелеутворювача також вивчали й інші гелеутворювачі: натрій кармелозу, натрій альгінат, ксантанову камідь.

Натрій кармелоза (Carmellose Sodium) становить собою сіль натрій полікарбоксиметилового ефіру целюлози. Для виробництва гелів використовують у концентраціях від 3 до 6 % [30, 94].

Натрій альгінат (Sodium Alginate) становить собою сіль альгінової кислоти – полісахарид, який складається із залишків D-мануронової та L-гіалууронової кислоти, з'єднаних β-глікозидними зв'язками. Для виробництва гелів використовують у концентраціях від 5 до 10 % [30, 94].

Ксантанова камідь (Xanthan Gum) становить собою високомолекулярний природний полісахарид, який отримують у результаті ферментації глюкози або сахарози за допомогою бактерій культури *Xanthomonas Compestris*. Це полісахарид з довгими ланцюгами молекул, які складаються з глюкози, манози і глюкуронової кислоти. Для виробництва гелів використовують у концентраціях від 5 до 10 % [30, 94].

З метою вибору оптимального складу гелевої основи нами було працювано експериментальні зразки з різними гелеутворювачами та

проаналізовано їхні реологічні показники. Зважаючи на механізм утворення гелю, фізико-хімічні властивості та походження обраних гелеутворювачів, експериментальні зразки готували за різними технологіями.

Зразки гелів з натрій кармелозою готували за її додавання до води очищеної і перемішували до повного розчинення за температури 80-90 °С. Під час охолодження отримували прозору гелеву основу однорідної консистенції світло-жовтого кольору.

Зразки гелів з ксантановою камеддю готували за додавання до води очищеної за середніх обертів змішувача. Отримували прозору гелеву основу світло-жовтого кольору.

Зразки гелів з натрій альгінатом готували за додавання до води очищеної за середніх обертів змішувача. Отримували непрозору гелеву основу світло-коричневого кольору.

Зразки гелів з різними марками карбополу готували за стандартною технологічною схемою: необхідну кількість карбополу насипали на поверхню води очищеної і залишали для набрякання карбополу на певний час. Під час перемішування додавали обраний нейтралізатор і продовжували перемішування до утворення однорідної консистенції гелю.

До кожного з експериментальних зразків додавали розчини інших компонентів і АФІ. Деякі фізико-хімічні показники експериментальних зразків гелів наведено в табл. 3.9.

За даними, наведеними в табл. 3.9, можна зробити висновок, що всі зразки гелю мали однорідну консистенцію, значення рН всіх зразків гелів близьке до нейтрального, показники структурної в'язкості характеризують отримані гелі як пластичні системи, окрім гелю на основі натрій альгілату. За результатами випробування колоїдної стабільності зразки на основі натрій кармелози та натрій альгілату не є стабільними.

Дослідження реопоказників проводили на віскозиметрі обертового типу Brookfield DV-II+PRO з системою коаксіальних циліндрів. Експериментальні дослідження здійснювали за певних умов: за кімнатної темпера-

тури використовували шпиндель SC4-21, якому надавали обертання, починаючи з малих швидкостей деформації, і фіксували показники віскозиметра.

Таблиця 3.9

Фізико-хімічні показники експериментальних зразків гелів

Показник	Експериментальні зразки гелів на основі різних гелеутворювачів					
	Карбопол Ultrez 10 1 %	Карбопол 974 Р 1 %	Карбопол 934 Р 1 %	Натрій кармелоза 5 %	Натрій альгінат 2 %	Ксантанова камідь 1 %
Зовнішній вигляд	Гель однорідної консистенції білого кольору	Гель однорідної консистенції білого кольору	Гель однорідної консистенції білого кольору	Гель однорідної консистенції білого кольору	Гель однорідної, напіврідкої консистенції світло-жовтого кольору	Гель однорідної консистенції світло-жовтого кольору
рН 10 % розчину	5,92 ± 0,14	6,58 ± 0,18	6,23 ± 0,12	7,81 ± 0,17	6,85 ± 0,15	7,67 ± 0,15
Структурна в'язкість, η (мПа·с)	3650 ± 35	3380 ± 38	2820 ± 32	2500 ± 21	1230 ± 17	2900 ± 32
Колоїдна стабільність (за 5000 об/хв)	Стабільний	Стабільний	Стабільний	Нестабільний	Нестабільний	Стабільний

Реопараметри досліджуваних зразків наведено на рис. 3.1.

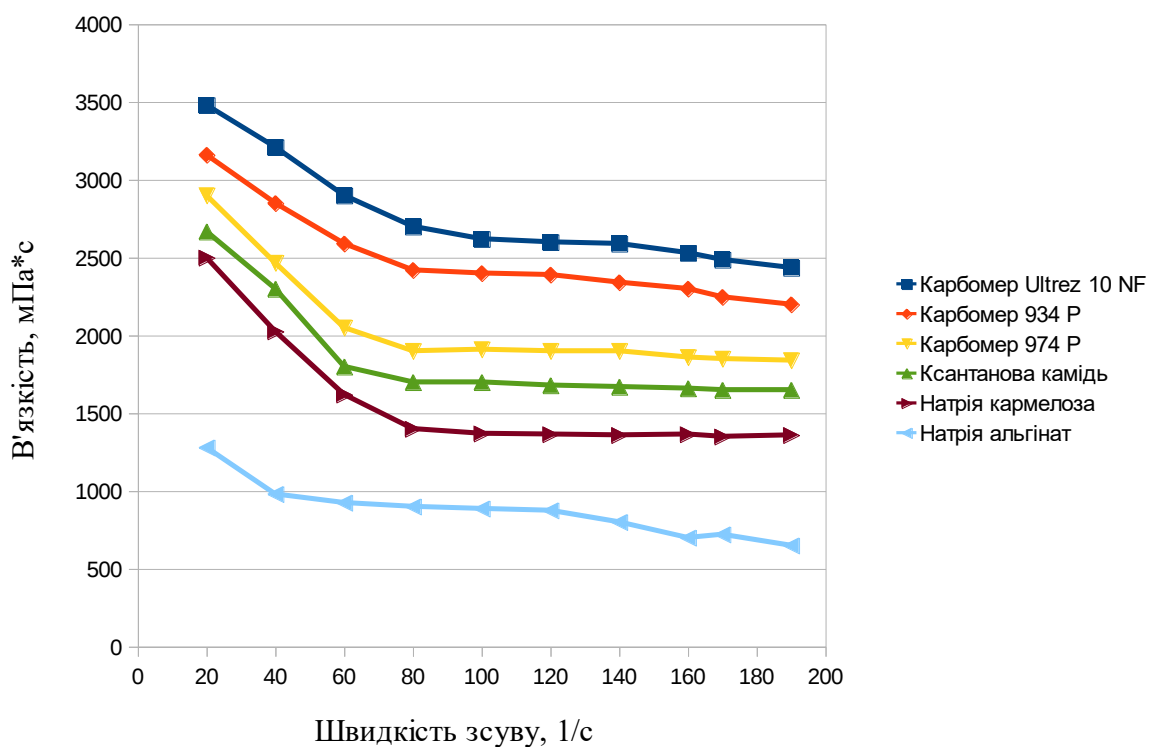


Рис. 3.1 Залежність структурної в'язкості зразків гелів від швидкості зсуву

Як видно з рис. 3.1, структурна в'язкість експериментальних зразків гелів поступово зменшується зі збільшенням швидкості зсуву. Ця залежність характерна для систем із пластичним типом течії та характеризує гелеві зразки як структуровані дисперсні системи, у яких за додавання підібраних діючих речовин не відбувається взаємодії з основою.

Графіки на рис. 3.1 підтверджують, що за показниками в'язкості карбомери як основа переважають інші види основ, а експериментальний зразок гелю з Carbopol® Ultrez 10 має найбільший показник в'язкості за однакових концентрацій карбомерів.

Отже, за результатами досліджень гелеутворювачем для стоматологічного гелю було обрано Carbopol® Ultrez 10, оскільки він має найкращі реологічні показники, найбільшу швидкість досягнення граничного ступеня набрякання.

Наступним етапом було визначення оптимальної концентрації саме Carbopol® Ultrez 10, яка має забезпечити збалансовані органолептичні, технологічні та споживчі властивості гелю. Було виготовлено зразки гелю з концентрацією карбополу від 0,7 % до 1,5 % та досліджено їх однорідність, змащуваність, структурну в'язкість. Результати наведено в табл. 3.10.

Таблиця 3.10

**Фізико-хімічні характеристики гелевих композицій на основі
Carbopol® Ultrez 10**

№ зразка	Концентрація карбополу, %	Зовнішній вигляд гелю	Однорідність	Змащуваність	Структурна в'язкість, мПа*с
1	2	3	4	5	6
1	0,7	Напівпрозорий, білого кольору, напіврідкої консистенції	однорідний	+-	2520 ± 28
2	0,9	Напівпрозорий, білого кольору, низько в'язкої консистенції	однорідний	++	3110 ± 39

1	2	3	4	5	6
3	1,1	Напівпрозорий, білого кольору, в'язкої консистенції	однорідний	++	3550 ± 41
4	1,3	Напівпрозорий, білого кольору, в'язкої консистенції	однорідний	+	3770 ± 35
5	1,5	Напівпрозорий, білого кольору, щільної консистенції	однорідний	-	4490 ± 43

З огляду на властивості різних композицій гелю, наведені в табл. 3.10, для подальших досліджень використовували зразки № 2, 3, 4.

Наступним кроком було вивчення реологічних характеристик відібраних експериментальних зразків № 2, 3, 4. Дослідження здійснювали за кімнатної температури (20 °C), використовували шпindel SC4-21.

Реологічні параметри досліджуваних зразків наведено на рис. 3.2.

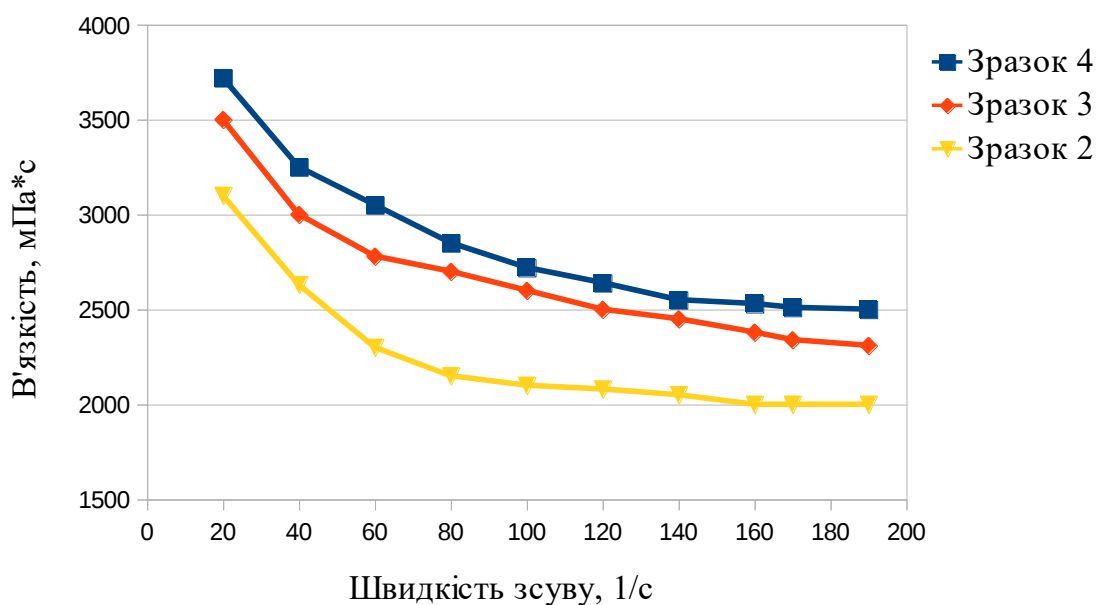


Рис. 3.2 Залежність структурної в'язкості зразків гелів на основі Carbopol® Ultrez 10 від швидкості зсуву

Проведені фізико-хімічні та реологічні дослідження дозволяють зробити висновок про раціональність використання гелеутворювача карбополу марки Ultrez 10 у концентрації 1,1 %.

Як нейтралізувальні агенти в дослідженнях використовували натрій гідроксид і трометамол. У результаті досліджень як лужний агент було обрано натрій гідроксид. Також натрій гідроксид виконує функцію коригента рН гелю. Оптимальне значення рН стоматологічного гелю для лікування інфекційно-запальних захворювань ясен та слизової оболонки рота перебуває в межах 5,0-7,0 [22].

В'язкість карбополового гелю залежить від значення рН. У ході досліджень було вивчено залежність в'язкості гелю від показника його рН, у нашому випадку, від кількості внесеного розчину натрій гідроксиду [139]. В'язкість визначали на віскозиметрі Brookfield за допомогою дискових шпинделів за швидкості обертання 20 об/хв. Дані досліджень наведено на рис. 3.3.

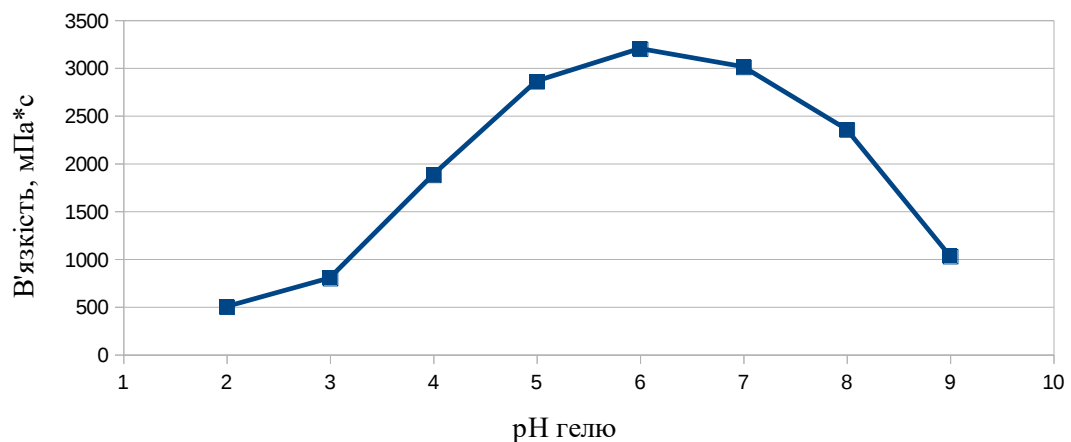


Рис. 3.3 Залежність структурної в'язкості гелю від значення рН

Як видно з рис. 3.3, максимальна, стабільна в'язкість досягається в інтервалі рН від 5,0 до 7,0.

Концентрацію натрій гідроксиду обирали шляхом зміни процентного вмісту інгредієнтів у кількісному співвідношенні. Було проаналізовано отримані зразки з різним вмістом карбополу за внесення різних концентрацій натрій гідроксиду. Отримані дані подано в табл. 3.11.

Залежність рН гелів від концентрації натрій гідроксиду

№ з/п	Концентрація натрій гідроксиду, мг/г	рН гелю
1	1,00	3,50
2	2,00	4,80
3	2,90	5,40
4	3,20	6,00
5	3,50	7,20

Нами було обрано концентрацію натрій гідроксиду, за якої рН гелю був найближче до середини визначеного діапазону рН ($\text{pH} = 6,0$). Концентрація натрій гідроксиду склала 0,32 %.

На рис. 3.4 наведено реограму отриманого гелю.

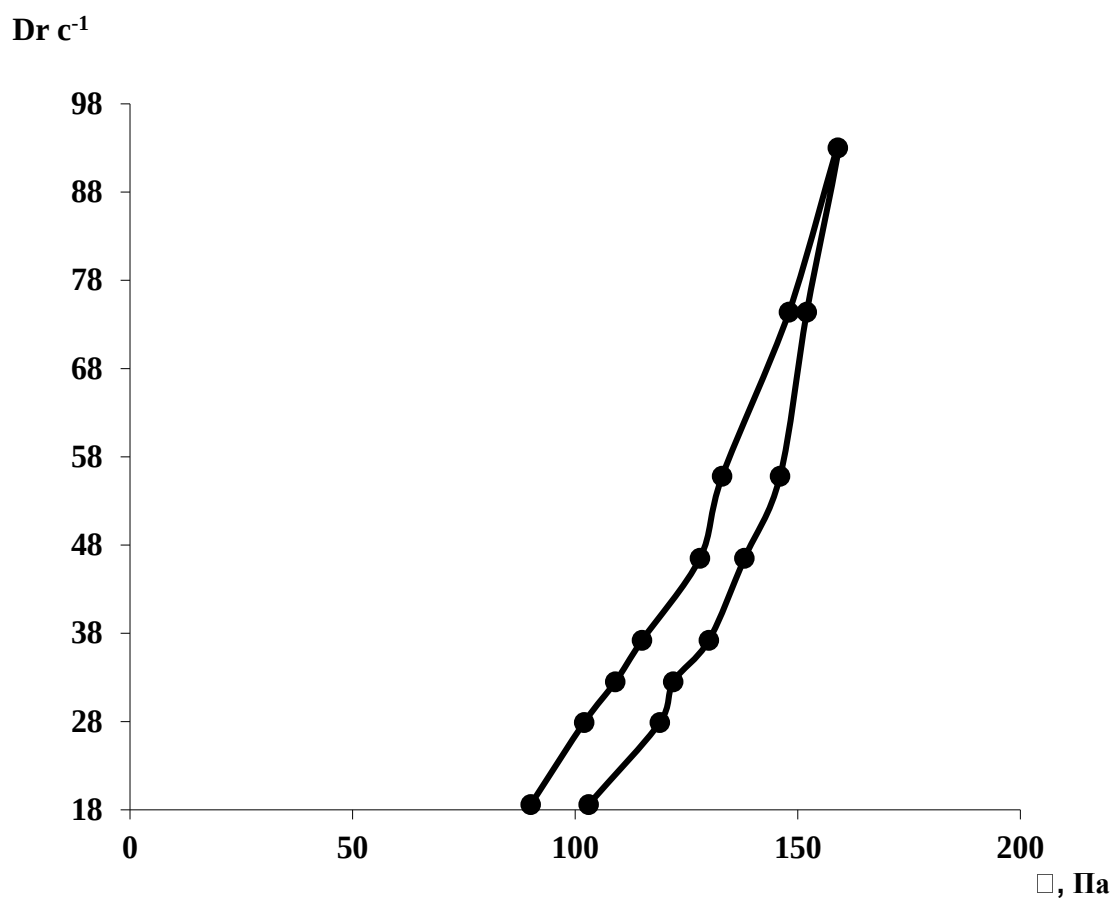


Рис. 3.4 Реограма гелю, що містить 1,1 % Carbopol® Ultrez 10, нейтралізованого натрій гідроксидом до $\text{pH} 6,0 \pm 0,2$

Як видно з реограми, отримана залежність нелінійна. Отриманий гель становить собою неньютонівську рідину з пластичним типом течії. Плинність зразка починається після прикладання невеликої напруги, що пов'язано з необхідністю розриву елементів структури.

Розраховане значення механічної стабільності отриманого гелю – 1,06 близьке до оптимального (1,0), що свідчить про незначний ступінь руйнування структурного скелета гелю і дозволяє системі відновитись завдяки наявності коагуляційних зв'язків. Відновлення структури має важливе значення та демонструє можливість витримувати механічну дію в процесі змішування і гомогенізації гелю, а також забезпечить стабільність за тривалого зберігання лікарського засобу.

Карбомери досить чутливі до електролітів, які викликають зменшення їх в'язкості, тому солі вводять у гель після нейтралізації карбомеру, для приготування гелю необхідно використовувати деіонізовану або дистильовану воду. Протипоказано використання карбомерів з мультівалентними катіонами (як, наприклад, Ca^{2+} , Mg^{2+} , Fe^{3+} , Al^{3+} і ін.), бо контамінація іонами металів (Fe, Cu, Al і ін.) призводить до поступового зниження в'язкості [54]. Тому рекомендовано додавати до складу динатрій едетат як комплексоутворювального агента, який зводить до мінімуму вплив металів.

Метронідазол бензоат також потребує стабілізації, оскільки під дією високої температури, УФ-випромінювання денного світла він руйнується з утворюванням продуктів окиснення [105, 132]. Динатрій едетат утворює з іонами важких металів стабільні, розчинні комплекси (хелати) і знижує у такий спосіб їхню проокисну активність і здатність змінювати забарвлення і смак продукту [138].

Динатрій едетат використовують як хелатний агент у фармацевтичних препаратах зазвичай у концентрації від 0,005 до 0,1 % [30].

Для визначення оптимальної кількості динатрій едетату було напрацьовано лабораторні зразки комбінованого гелю з різною концентрацією антиоксиданту. Для прискорення процесу окиснення зразки гелю зберігали за температури 40°C. Результати наведено в табл. 3.12.

Таблиця 3.12

**Вплив концентрації динатрій едетату на стабільність
діючих речовин стоматологічного гелю**

№ п/н	Концентрація динатрій едетату, мг/г	Опис	Домішки					Кількісний вміст, мг/г		
			Метронідазол: домішка В, %	Метронідазол: домішка А, %	Метронідазол: домішка С, %	Неіндефіковані домішки, %	Нітри	Метронідазол бензоат	Натрій гіаурунат	Мірамістин
1	0,05	Білий, однорідний гель	0,10	0,82	0,77	0,42	Більше 50 ppm	14,9	1,97	4,9
2	0,10	Білий, однорідний гель	0,09	0,37	0,31	0,29	Більше 50 ppm	15,4	1,98	4,9
3	0,30	Білий, однорідний гель	<0,05	0,18	0,20	0,14	Більше 50 ppm	15,8	2,01	4,9
4	0,50	Білий, однорідний гель	<0,05	0,13	0,10	<0,05	Не більше 50 ppm	16,1	2,01	5,0
5	1,00	Білий, однорідний гель	<0,05	0,13	0,11	<0,05	Не більше 50 ppm	16,0	2,02	5,0

Після 45 діб зберігання проводили контроль якості дослідних зразків гелю, визначали кількісний вміст АФІ та домішок, які регламентовано МКЯ на субстанцію метронідазол бензоату. З наведених даних табл. 3.12 видно, що динатрій едетат ефективний як антиоксидант у концентрації від 0,50 мг/г і більше. За низьких концентрацій динатрій едетату спостерігається збільшення та вихід за граничні норми вмісту кількості домішок, пов'язаних з нестабільністю метронідазол бензоату в гелі. Отже, було обрано концентрацію динатрій едетату 0,5 мг/г, яка забезпечувала отримання стабільного гелю.

Однією з умов розробки оромукозних лікарських засобів є визначення їхніх смакових характеристик та їх корекція в разі необхідності [26].

Зважаючи на слабо-гіркий смак метронідазол бензоату і мірамістину, як підсолоджувач стоматологічного гелю використали сахарин натрію, який добре зарекомендував себе і є широко застосовуваним у складі лікарських засобів як коригент смаку [41]. Для вибору концентрації було напрацьовано зразки з різними концентраціями сахарину натрію й проведено контроль на 10 добровольцях з вивчення смакових характеристик гелю. Узагальнені дані смакових характеристик гелю наведено в табл. 3.13.

Таблиця 3.13

Вплив концентрації сахарину натрію на смакові характеристики гелю

№ з/п	Концентрація сахарину натрію, мг/г	Смакові характеристики
1	0,50 мг	Майже не відчуються зміни смакових характеристик
2	1,00 мг	Має оптимальні смакові характеристики
3	1,5 мг	Має пересолоджений присмак

Було виявлено, що найбільш оптимальні смакові характеристики має зразок з концентрацією сахарину натрію 1 мг/г.

Отже, за результатами проведених досліджень нами було визначено якісний і кількісний склад стоматологічного гелю для лікування інфекційно-запальних захворювань порожнини рота, що наведено в табл. 3.14.

Таблиця 3.14

Кількісний і якісний склад комбінованого стоматологічного гелю

Найменування компонента	Склад, мг/г	Функціональне значення
<i>Діючі речовини:</i>		
Метронідазол бензоат	16,00 мг	діюча речовина
Натрій гіалуронат	2,00 мг	діюча речовина
Мірамістин	5,00 мг	діюча речовина
<i>Допоміжні речовини:</i>		
Пропіленгліколь	50,00 мг	розчинник
Carbopol® Ultrez 10	11,00 мг	гелеутворювач
Натрій гідроксид	3,20 мг	нейтралізатор, регулятор рН
Сахарин натрію	1,00 мг	коригент смаку
Динатрій едетат	0,50 мг	стабілізатор
Вода очищена	до 1,00 г	розчинник

3.3 Розробка технології комбінованого стоматологічного гелю

Технологію отримання препарату у формі гелю розроблено на основі фізико-хімічних властивостей лікарських і допоміжних речовин із застосуванням різних технологічних прийомів, що дозволяють отримати якісний ефективний і стабільний препарат.

З огляду на результати вивчення розчинності метронідазол бензоату, натрієвої солі гіалуронової кислоти та мірамістину у воді та гідрофільних неводних розчинниках, найбільш доцільним серед гідрофільних неводних розчинників для розчинення метронідазол бензоату є пропіленгліколь. Повне розчинення терапевтичної дози метронідазол бензоату, яка міститься в гелі, відбувається за температури 70-80 °С за концентрації пропіленгліколю 50 мг/г. Натрієва сіль гіалуронової кислоти та мірамістин добре розчиняються у воді очищеній.

Проведено хімічний аналіз лабораторного зразка гелю, у якому метронідазол бензоат було введено у вигляді розчину в пропіленгліколі за температури 70-80 °С. Результати аналізу наведено в табл. 3.15.

Таблиця 3.15

Результати аналізу гелю за введення метронідазол бензоату у вигляді розчину

№	Показник	Вимога	Результат
1	Опис	Однорідний прозорий або напівпрозорий гель	Напівпрозорий однорідний гель білого кольору
2	Кількісний вміст: метронідазол бензоату	15,2-16,8 мг/г	13,52 мг/г
3	Вміст супутніх домішок: домішка А домішка В домішка С неідентиф. домішки	Не більше 1,0 % Не більше 1,0 % Не більше 0,5 % Не більше 0,2 %	1,43 % 0,31 % 0,1 % не виявлено

Отримані результати (табл. 3.15) свідчать, що метронідазол бензоат за розчинення в пропіленгліколі за температури 70-80 °С частково руйнується. Нагрівання призводить до перевищення кількісного вмісту домішки А, граничний вміст якої визначено нормативною документацією на АФІ. Отриманий гель непрозорий, має білий колір, тобто за введення розчину метронідазол бензоату в гелеву основу і подальшого охолодження діюча речовина викристалізовується і міститься в гелевій основі у вигляді тонкої суспензії.

Як альтернативний варіант технології нами було досліджено можливість введення метронідазол бензоату в гель у вигляді мікронізованого порошку за типом суспензії без нагрівання пропіленгліколю. Результати досліджень наведено в табл. 3.16.

Таблиця 3.16

**Результати аналізу гелю за введення метронідазол бензоату
у вигляді суспензії**

№	Показник	Вимога	Результат
1	Опис	Однорідний прозорий або напівпрозорий гель	Напівпрозорий однорідний гель білого кольору
2	Кількісний вміст: метронідазол бензоату	15,2-16,8 мг/г	16,12 мг/г
3	Вміст супутніх домішок:		
	домішка В	Не більше 1,0 %	<0,05 %
	домішка А	Не більше 1,0 %	<0,06 %
	домішка С	Не більше 0,5 %	<0,05 %
	неідентиф. домішки	Не більше 0,2 %	<0,05 %

Результати визначення кількісного вмісту метронідазол бензоату та допускних домішок у гелі, наведені в табл. 3.16, доводять, що внесення метронідазол бензоату у вигляді суспензії забезпечує його хімічну стабільність і відповідає вимогам специфікації на препарат.

Було проведено порівняльне дослідження з визначення розміру й розподілення кристалів метронідазол бензоату в зразках гелю, виготовленого за двома опрацьованими технологіями.

Розмір частинок метронідазол бензоату в досліджуваних зразках гелю визначали під мікроскопом XY-B2TLED за поляризованого світла згідно з ДФУ 2.9.37.

Близько 10 мг кожного досліджуваного зразка поміщали на предметне скло та накривали покривним склом розміром 15 x 15 мм. Зразок розподіляли таким чином, щоб сформувати тонкий рівномірний шар, для цього ретельно, круговими рухами розтирали пробу за допомогою покривного скла.

Зразки вивчали за збільшення через об'єктив (40 x 0,65), використовуючи два поляризаційні фільтри, один з яких, що виконує функцію поляризатора, розміщували між джерелом світла і досліджуваним зразком, а другий, що править за аналізатор, – між досліджуваним зразком і оком дослідника. Мікрофотографії досліджуваних зразків гелю наведено на рис. 3.5 та 3.6.

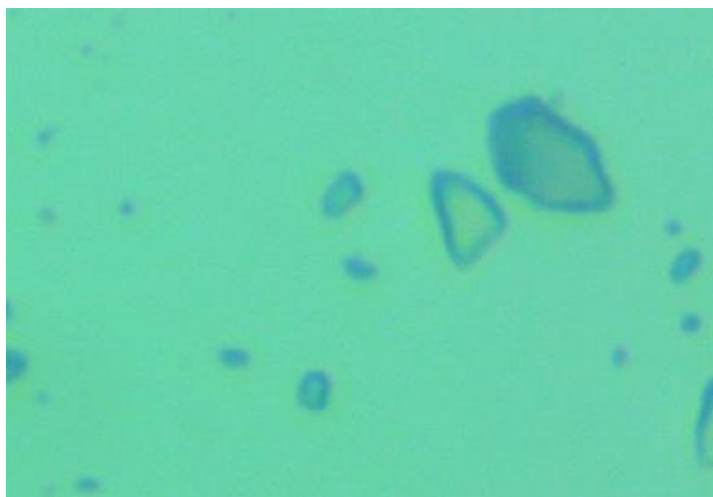


Рис. 3.5 Мікрофотографії гелю з метронідазол бензоатом, який введено у вигляді розчину

Відповідно до отриманих на рис. 3.5 і рис. 3.6 результатів, спосіб введення метронідазол бензоату в гелеву основу не впливає на розмір частинок речовини та рівномірність її розподілення. Також найімовірніше можна припустити, що за викристалізації метронідазол бензоату з розчину в пропіленгліколі розмір утворених агломератів може бути більший, ніж розмір частинок мікронізованого порошку АФІ.

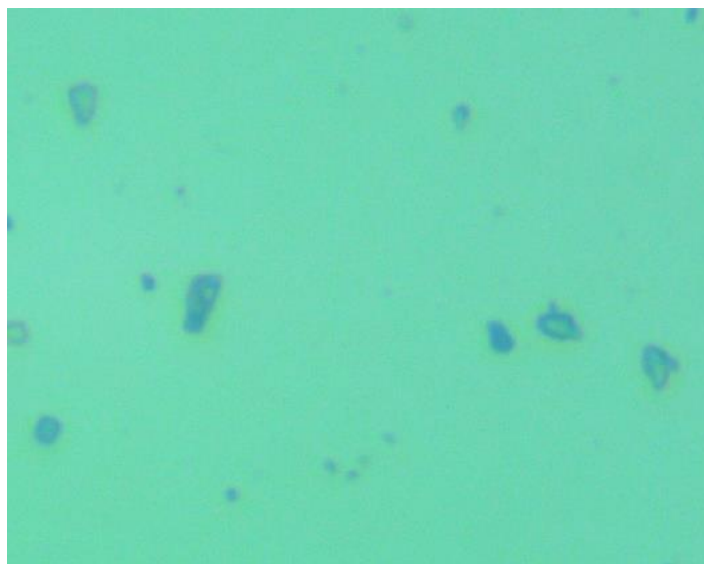


Рис. 3.6 Мікрофотографії гелю з метронідазол бензоатом, який введено у вигляді суспензії

Отже, за результатами хімічного аналізу, поданих у табл. 3.13 і 3.14, та визначенням розміру частинок суспензії мікроскопічним методом висуємо, що оптимальним способом введення метронідазол бензоату в гелеву основу є його суспензія в пропіленгліколі.

Для забезпечення найкращого розподілення метронідазол бензоату ми використовували мікронізовану субстанцію. Також було необхідно дослідити та визначити оптимальні технологічні параметри гомогенізації метронідазол бензоату в пропіленгліколі за температури 20-25 °С.

Було напрацьвано декілька експериментальних зразків суспензії за різними технологічними параметрами гомогенізації (табл. 3.17).

Таблиця 3.17

**Визначення параметрів гомогенізації суспензії
метронідазол бензоату в пропіленгліколі**

№ з/п	Швидкість гомогенізації	Тривалість гомогенізації	Висновок
Зразок 1	1000	10 хв	Отримана суспензія не однорідна, зустрічаються видимі частинки
Зразок 2	1500	10 хв	
Зразок 3	2000	10 хв	
Зразок 4	3000	10 хв	Отримана суспензія однорідна, відсутні видимі частинки
Зразок 5	3500	10 хв	
Зразок 6	4000	10 хв	

Зразки вивчали під мікроскопом XY-B2TLED за поляризованого світла згідно з ДФУ 2.9.37.

Мікрофотографії досліджуваних зразків гелю наведено на рис. 3.7.

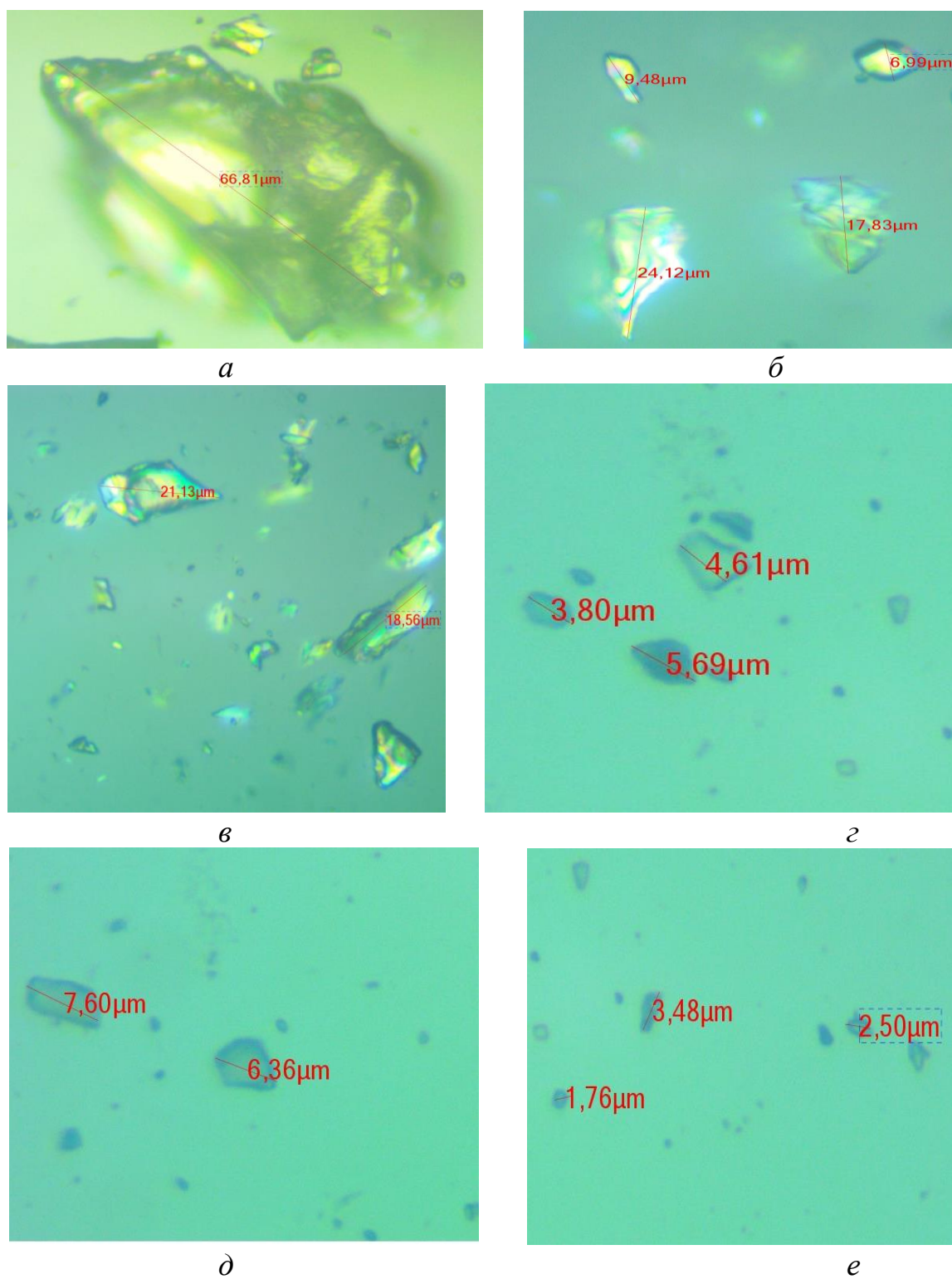


Рис. 3.7 Мікрофотографії зразків гелю, отриманого за різними параметрами гомогенізації: *a* – зразок 1; *б* – зразок 2; *в* – зразок 3; *г* – зразок 4; *д* – зразок 5; *е* – зразок 6

Як видно з рис. 3.7, навіть за гомогенізації зі швидкістю 1000 об/хв дисперсність отриманої суспензії задовольняє вимогам ДФУ, тобто розмір частинок не перевищує 90 мкм. За збільшення швидкості до 3000 об/хв розміри найбільших частинок метронідазол бензоату не перевищують 10 мкм, що видно на мікрофотографіях зразків гелю № 4-6. Гомогенізація метронідазол бензоату з пропіленгліколем зі швидкістю від 3000 до 4000 об/хв протягом 10 хв забезпечує отримання однорідного напівпрозорого гелю білого кольору.

Мірамістин та натрій гіалуронат вводили в гелеву основу з урахуванням їх розчинності у вигляді водних розчинів. Було проведено фізико-хімічний аналіз отриманого нерозфасованого гелю. Результати досліджень, наведені в табл. 3.18, засвідчили, що обрані технологічні параметри не впливають на хімічну стабільність діючих речовин та дозволяють отримати гель без продуктів їх деградації.

Таблиця 3.18

**Результати визначення кількісного вмісту діючих речовин
у складі гелю**

(внесення метронідазол бензоату у вигляді суспензії,
натрій гіалуронату та мірамістину у вигляді розчинів)

№	Показник	Вимога	Результат
1	Опис	Однорідний прозорий або напівпрозорий гель	Гель напівпрозорий, білого кольору
2	Кількісне визначення: метронідазол бензоат натрій гіалуронат мірамістин	15,2-16,8 мг/г 1,90-2,10 мг/г 4,75-5,25 мг/г	16,32 мг/г 2,02 мг/г 5,04 мг/г
3	Супутні домішки: домішка В домішка А домішка С неідентиф. домішки	Не більше 1,0 % Не більше 1,0 % Не більше 0,5 % Не більше 0,2 %	<0,05 % <0,06 % <0,05 % <0,05 %

Для приготування гелевої основи необхідно диспергувати карбопол у воді очищеній, після набрякання карбопол нейтралізують лужним агентом – розчином натрій гідроксиду.

Під час розробки технології комбінованого гелю було досліджено спосіб отримання гелевої основи, де для нейтралізації карбополу використовували багатокомпонентний розчин, який містив, окрім натрій гідроксиду, динатрій едетат і сахарин натрію. Спостереження протягом двох місяців за гелевою основою, отриманою за зазначеною технологією, засвідчили, що гелева основа стабільна, не змінила зовнішній вигляд і свої реологічні властивості.

За результатами проведених досліджень нами розроблено технологію виробництва комбінованого стоматологічного гелю [155], яка передбачає такі стадії:

Стадія 1. Готування та зважування компонентів

Сировину для приготування гелю (метронідазол бензоат, натрій гіалуронат, мірамістин, пропіленгліколь, карбопол Ultrez 10, натрій гідроксид, сахарин натрію, динатрій едетат та воду очищену) після вхідного контролю відважують на вагах у збірники й передають на наступні стадії.

Стадія 2. Приготування розчину нейтралізатора

У збірник з частиною попередньо відваженої води очищеної вносять під час перемішування почергово динатрій едетат, сахарин натрію і натрій гідроксид і продовжують перемішування до повного розчинення кожного компонента. Контроль повного розчинення проводять візуально. Приготовлений розчин передають на стадію 6 «Приготування гелевої основи».

Стадія 3. Приготування розчину мірамістину

У збірник з частиною попередньо відваженої води очищеної вносять під час перемішування мірамістин і продовжують перемішування до повного розчинення. Приготовлений розчин передають на стадію 7 «Приготування гелю».

Стадія 4. Приготування розчину натрій гіалуронату

У збірник з частиною попередньо відваженої води очищеної вносять під час перемішування натрій гіалуронату і продовжують перемішування до повного розчинення. Приготовлений розчин передають на стадію 7 «Приготування гелю».

Стадія 5. Приготування суспензії метронідазол бензоату

У реактор з гомогенізатором з попередньо відваженим пропіленгліколем вносять метронідазол бензоат і проводять гомогенізацію вмісту за 3000-4000 об/хв протягом 10 хв. Приготовлену суспензію передають на стадію 7 «Приготування гелю».

Стадія 6. Приготування гелевої основи

У реактор завантажують відважену кількість води очищеної та карбополу і проводять перемішування до повного диспергування карбополу.

До повністю диспергованого карбополу під час перемішування вносять за декілька разів розчин зі стадії 2 і продовжують перемішування до повної однорідності гелевої основи.

Однорідність гелевої основи контролюють візуально.

Стадія 7. Приготування гелю

У реактор з гелевою основою за постійного перемішування невеликими частинами вносять суспензію метронідазол бензоату. Проводять перемішування. Потім невеликими частинами під час перемішування вносять розчин натрій гіалуронату. Наступним додають розчин мірамістину за постійного перемішування до повного розподілення в гелевій основі і проводять гомогенізацію зі швидкістю 300-400 об/хв до отримання однорідного гелю. Після гомогенізації відбирають контрольні проби з різних ділянок реактора і проводять проміжний контроль готового гелю, що має відповідати вимогам МКЯ на нерозфасований гель.

Стадія 8. Фасування гелю в туби

Приготовлений гель перекачують у бункер тубонаповнювального автомата і фасують по 15,0 г або 30,0 г у туби ламінатні з нагвинчуванням бушоном за ТУ У 28.7-25463020-002-2003.

Проводять контроль точності дозування, продуктивності автомата і правильності маркування туб (номер серії і термін придатності).

Стадія 9. Пакування туб у пачки

Туби з інструкцією до застосування пакують у пачки на автоматі. Контролюють комплектність – туба, інструкція до застосування, бушон.

Стадія 10. Пакування пачок у коробки

На пакувальному столі вручну проводять пакування пачок у коробки.

Серію готової продукції формують з розрахунку одного завантаження реактора-гомогенізатора.

Критичні параметри: кількість сировини, температура підігрівання, повнота розчинення, швидкість обертання змішувачів, швидкість гомогенізації, однорідність готового гелю.

Критичні операції: відважування сировини, підігрівання компонентів, розчинення компонентів, гомогенізація.

Параметри, які контролюють: вага сировини, температура розчинення, повнота розчинення розчинів, швидкість обертання змішувачів, однорідність готового гелю, відповідність нефасованого гелю вимогам МКЯ.

Технологічну схему виробництва гелю наведено на рис. 3.8.

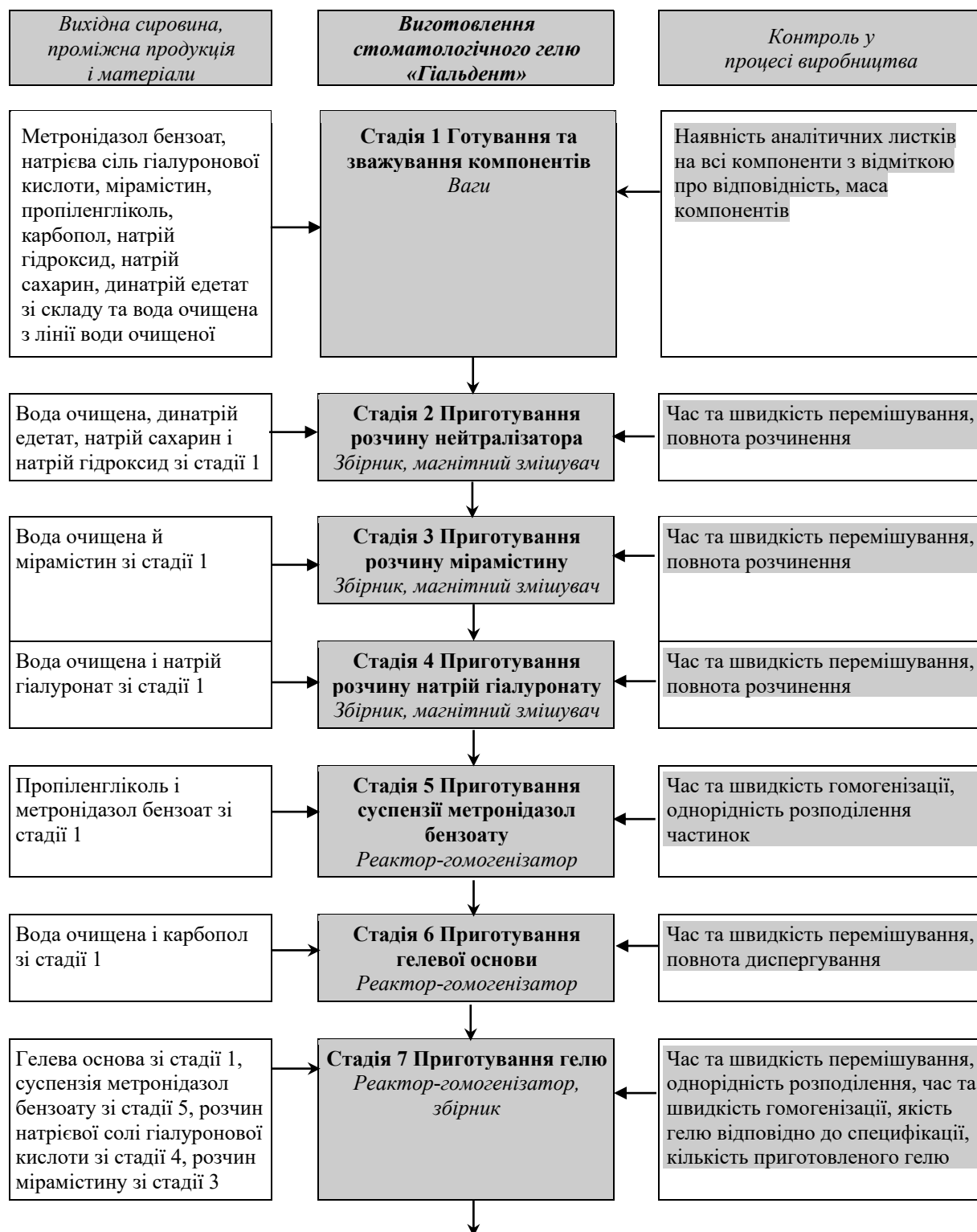


Рис. 3.8 Технологічна схема виробництва комбінованого стоматологічного гелю «Гіальдент» (початок)

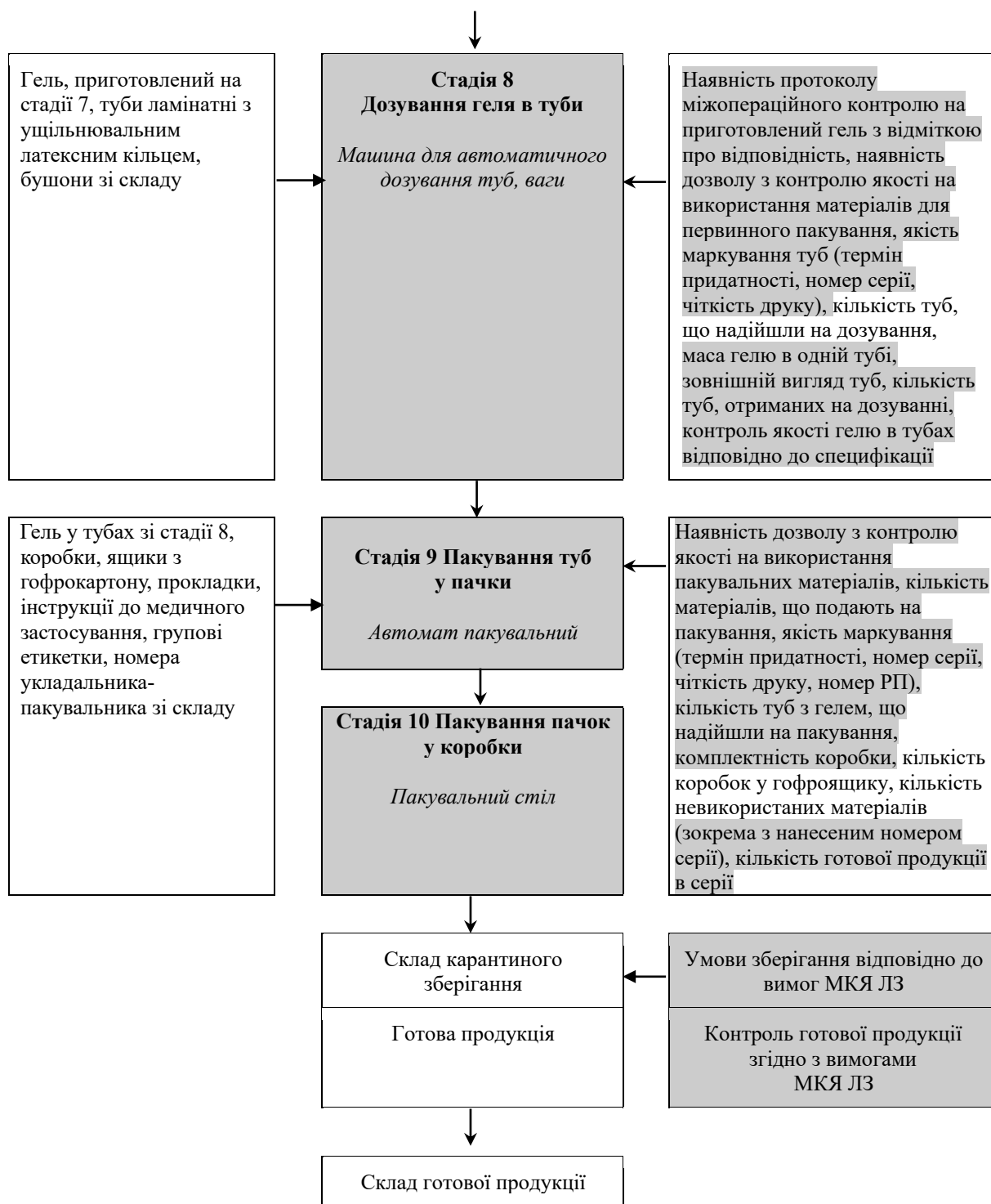


Рис. 3.8 Технологічна схема виробництва комбінованого стоматологічного гелю «Гіальдент» (продовження)

3.4 Визначення ризиків для якості розробленого лікарського засобу та валідація технологічного процесу гелю «Гіальдент»

Валідацію технологічного процесу проводять з метою отримання документального підтвердження того, що в результаті чіткого виконання всіх стадій технологічного процесу можливе ефективне відтворення виробництва препарату, який відповідає розробленим специфікаціям і МКЯ ЛЗ [64].

Об'єктом валідації є технологічний процес виробництва лікарського засобу гель «Гіальдент по 15 г в тубах». Процес виробництва препарату є стандартним відповідно до Настанови 42-3.5:2016 «Лікарські засоби. Валідація процесів». Процедуру валідації було проведено на трьох дослідно-промислових серіях [67, 71].

Критичним параметром процесу є такий параметр, варіабельність якого може безпосередньо вплинути на показники якості як напівпродукту, так і готового продукту, а отже, він постає об'єктом моніторингу та контролю [102]. Загальне оцінювання ризиків нами було проведено на стадії фармацевтичної розробки за процедурою «ідентифікація-аналіз-оцінка ризику» з метою визначення схеми валідаційних робіт на 3-х дослідно-промислових серіях [68]. Для виділених ризиків побудовано діаграму Ісікави, яку наведено на рис. 3.9.

Було проведено оцінювання ймовірності їх виникнення з погляду впливу на якість напівпродукту/продукту/процесу і ступінь їх значущості.

Для оцінювання і управління ризиками під час виробництва розробленого лікарського препарату також використовували метод аналізу експлуатаційної безпеки та критичних контрольних точок (Hazard Analysis and Critical Control Points – НАССР). Для визначення критичних контрольних точок використовували інструмент НАССР – «дерево прийняття рішень». Стандартне «дерево прийняття рішень» складається з питань, які дозволяють визначити, чи є конкретна контрольна точка (контрольований параметр) виробничого процесу критичною для управління потенційною небезпекою [2, 158].

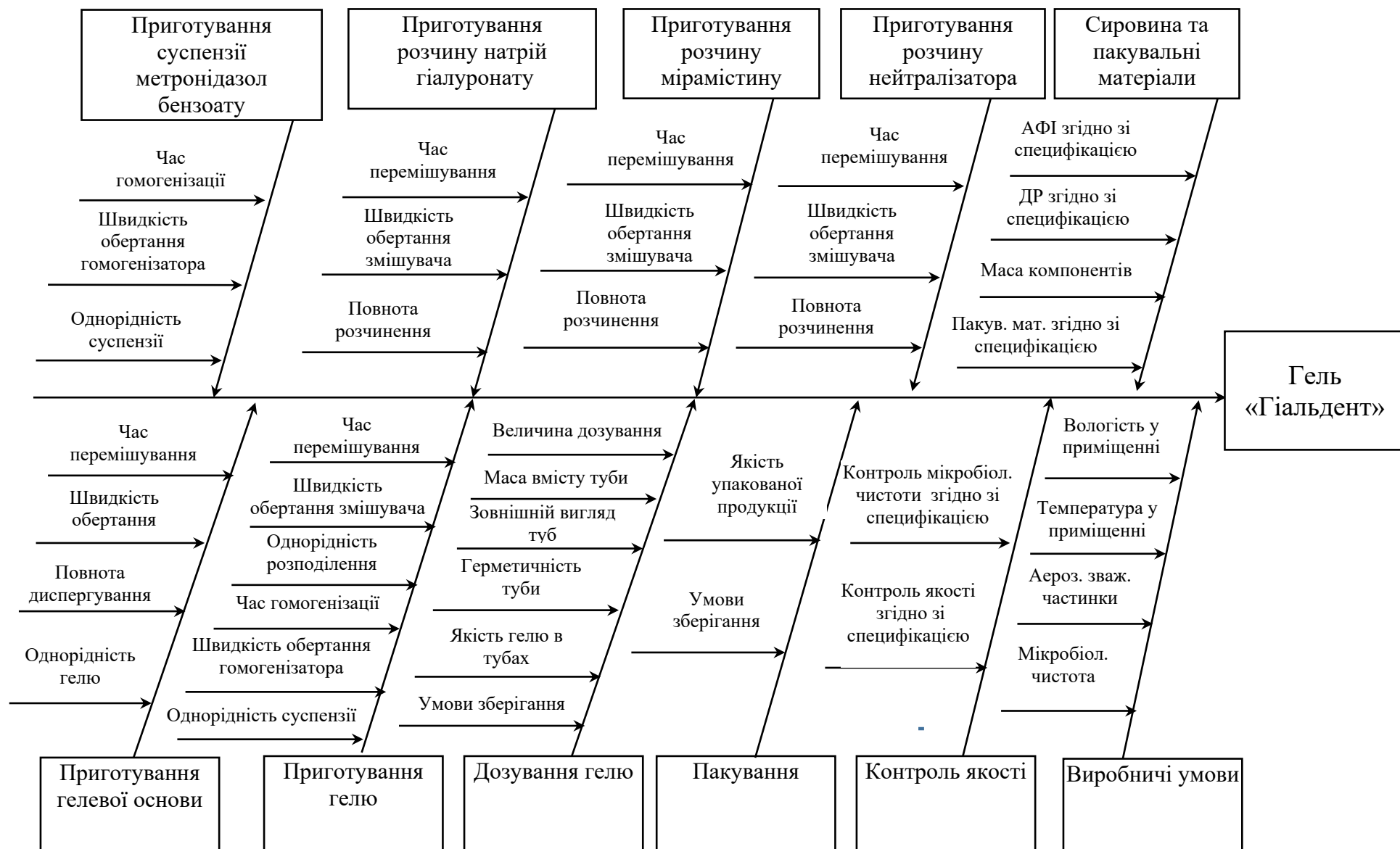


Рис. 3.9 Діаграма Ісікави для визначення критичних параметрів технологічного процесу

Аналіз й оцінювання небезпечності окремих стадій технологічного процесу та визначення критичності контрольованих параметрів проводила експертна група фахівців. До групи входили кваліфіковані спеціалісти підрозділу з фармацевтичної розробки, цеху з виробництва м'яких лікарських засобів, відділу контролю якості. Члени експертної групи теоретично та практично обізнані з використанням інструментів управління ризиками для якості, зокрема методом НАССР.

Майже всі стадії технологічного процесу (рис. 3.8) виробництва стоматологічного гелю є критичними, тому їх позначено на схемі сірим кольором. Використовуючи інструмент «дерево прийняття рішень», нами було визначено критичні контрольні точки технологічного процесу виробництва гелю та критерії прийнятності. Результати наведено в табл. 3.19.

Таблиця 3.19

**Критичні стадії, критичні контрольні точки (параметри процесу)
та критерії прийнятності виробництва стоматологічного
гелю «Гіальдент»**

Критична стадія	Критичний параметр	Критерій прийнятності
1	2	3
Стадія 1 Готування та зважування компонентів	точність зважування компонентів	Забезпечується правильним підбором ваг з необхідними межами вимірювання і точністю зважування
	маса компонентів	Згідно з виробничою рецептурою і протоколом виготовлення серії
	вхідний контроль сировини	Наявність протоколів аналізу та дозволу на використання у виробництві
Стадія 2 Приготування розчину нейтралізатора	час перемішування	20÷25 хв
	швидкість обертання змішувача	300÷500 об/хв
	повнота розчинення	розчин має бути прозорим

Продовження табл. 3.19

1	2	3
Стадія 3 Приготування розчину мірамістину	час перемішування	15÷25 хв
	швидкість обертання змішувача	300÷500 об/хв
	повнота розчинення	розчин має бути прозорим
Стадія 4 Приготування розчину натрієвої солі гіалуронової кислоти	час перемішування	20÷30 хв
	швидкість обертання змішувача	300÷500 об/хв
	повнота розчинення	розчин має бути прозорим
Стадія 5 Приготування суспензії метронідазол бензоату	час гомогенізації	5÷10 хв
	швидкість обертання гомогенізатора	3000÷4000 об/хв
	повнота диспергування	відсутність недиспергованих частинок
Стадія 6 Приготування гелевої основи	час перемішування	30÷35 хв
	швидкість обертання змішувача	50÷60 об/хв
	повнота диспергування	відсутність недиспергованих частинок
	час перемішування	50÷60 хв
	швидкість обертання змішувача	20÷30 об/хв
	однорідність гелю	гель має бути однорідним
Стадія 7 Приготування гелю 7.1 Внесення суспензії метронідазол бензоату	час перемішування	20÷30 хв
	швидкість обертання змішувача	50÷60 об/хв
	однорідність розподілення	гель має бути однорідним
7.2 Внесення розчину натрієвої солі гіалуронової кислоти	час перемішування	20÷30 хв
	швидкість обертання змішувача	50÷60 об/хв
	однорідність розподілення	гель має бути однорідним

Продовження табл. 3.19

1	2	3
7.3 Внесення розчину мірамістину	час перемішування	20÷30 хв
	швидкість обертання змішувача	50÷60 об/хв
	однорідність розподілення	гель має бути однорідним
7.4 Гомогенізація	час гомогенізації	5÷10 хв
	швидкість обертання гомогенізатора	300÷400 об/хв
	однорідність суспензії	гель має бути однорідним
	якість гелю виготовленого	згідно з вимогами специфікації
Стадія 8 Дозування гелю	установлення маси дозування	по 15,5
	маса вмісту туби	не менше 15 г
	контроль зовнішнього вигляду туб	відсутність механічних пошкоджень, забруднень на тубах
	контроль герметичності туб	повинні бути герметичними
	контроль якості гелю в тубах	відповідно до вимог специфікації
	контроль умов зберігання	зберігати за температури не вище 25 °С

Оцінювання факторів ризику проводили на основі двох показників: вірогідність виникнення фактора небезпеки та ступінь ризику, яку створює цей фактор. Вірогідність виникнення фактора ризику мала таку градацію:

- маловірогідна – 1 раз/місяць до 1 раз/рік;
- достатньо вірогідна – 1 раз/тиждень до 1 раз/місяць;
- вірогідна – 1 раз/день до 1 раз/тиждень;
- дуже вірогідна – більше ніж 1 раз/день.

Ступінь ризику оцінювали за десятибальною шкалою, де 0 – відсутність ризику, 1-4 – низький ступінь ризику, 5-6 – середній ступінь ризику, 7-9 – високий ступінь ризику, 10 – надвисокий ризик.

Під час опрацювання технології гелю здійснювали моніторинг визначених критичних контрольних точок з метою розробки запобігальних і коригувальних дій у разі їх виходу за межі критеріїв прийнятності. Фактори ризику та запобіжні дії щодо їх усунення наведено в табл. 3.20.

Таблиця 3.20

**Фактори ризику та запобіжні дії під час виробництва
комбінованого стоматологічного гелю**

Назва критичної операції	Фактор ризику	Вірогідність виникнення фактора ризику	Опис ризику	Запобіжні/ корегувальні заходи	Ступінь ризику
Вхідний контроль сировини	Мікробіологічний	Мало-вірогідна	Мікробіологічна контамінація сировини	Контроль умов зберігання, контроль відповідності пакування вимогам специфікації, контроль термінів зберігання сировини	2
	Хімічний	Мало-вірогідна	Невідповідність сировини вимогам специфікації		3
Відважування діючих та допоміжних речовин	Фізичний	Мало-вірогідна	Невідповідність маси наважок сировини технологічній документації	Контроль зважування, перевірка термінів метрологічних сертифікатів терезів, контрольне повторне зважування підготовлених наважок	4
Приготування розчинів	Хімічний	Мало-вірогідна	Невідповідність режиму приготування технологічній документації	Контроль режиму приготування розчинів	6
Приготування суспензії метронідазолу	Фізичний	Достатньо вірогідна	Частинки суспензії перевищують максимально допускний розмір	Використання мікронізованої субстанції метронідазол бензоату, Контроль режиму гомогенізації	7
	Хімічний	Мало-вірогідна	Перевищення вмісту допускних домішок	Контроль температурного режиму	5
Приготування гелевої основи	Фізичний	Достатньо вірогідна	Неоднорідність гелевої основи	Контроль часу набухання гелеутворювача та режиму перемішування після нейтралізації	7
Приготування гелю	Фізичний	Достатньо вірогідна	Неоднорідність розподілення діючих речовин у гелі	Контроль режиму перемішування	7

Як видно з табл. 3.20, у процесі виробництва гелю «достатньо вірогідною» є поява фактора ризику (фізичного фактора) на стадіях приготування суспензії метронідазол бензоату, приготування гелевої основи та приготування гелю. «Маловірогідною» є поява небезпечного фактора на таких стадіях, як відважування діючих та допоміжних речовин, приготування розчинів та проведення вхідного контролю сировини. Визначено ступінь ризику кожного фактора, який перебуває в межах від 2 до 7 балів, та розроблено коректувальні й запобігальні дії для всіх критичних контрольних точок з метою уникнення ризиків для якості лікарського засобу. Отже, за допомогою аналізу ризиків для проведення валідації було визначено критичні фактори і контрольовані параметри [153].

Відбір проб проміжної та готової продукції на стадіях «Приготування гелю» і «Дозування гелю» проводили згідно з табл. 3.21. Схема відбору проб гелю Гіальдент» з реактора-гомогенізатора на стадії «Приготування гелю» наведено на рис. 3.10.

Таблиця 3.21

Валідаційні випробування на окремих стадіях виробництва гелю

Найменування стадії технологічного процесу	Найменування показника якості проміжної продукції	План додаткового відбору проб та кількість місць відбору
Приготування гелю	Контроль однорідності вмісту діючих речовин і контрольованих речовин у гелі приготовленому	Реактор-гомогенізатор 10 проб, відібраних пробовідбірником з різних місць реактора-гомогенізатора, згідно зі схемою відбору проб (рис. 3.10)
Дозування гелю	Середня доза маси вмісту туби	На початку і в кінці стадії дозування, і кожну годину по 20 туб

Здійснено контроль критичних показників й заповнено форми протоколу проведення валідації технологічного процесу відповідно до розробленої схеми (табл. 3.22).

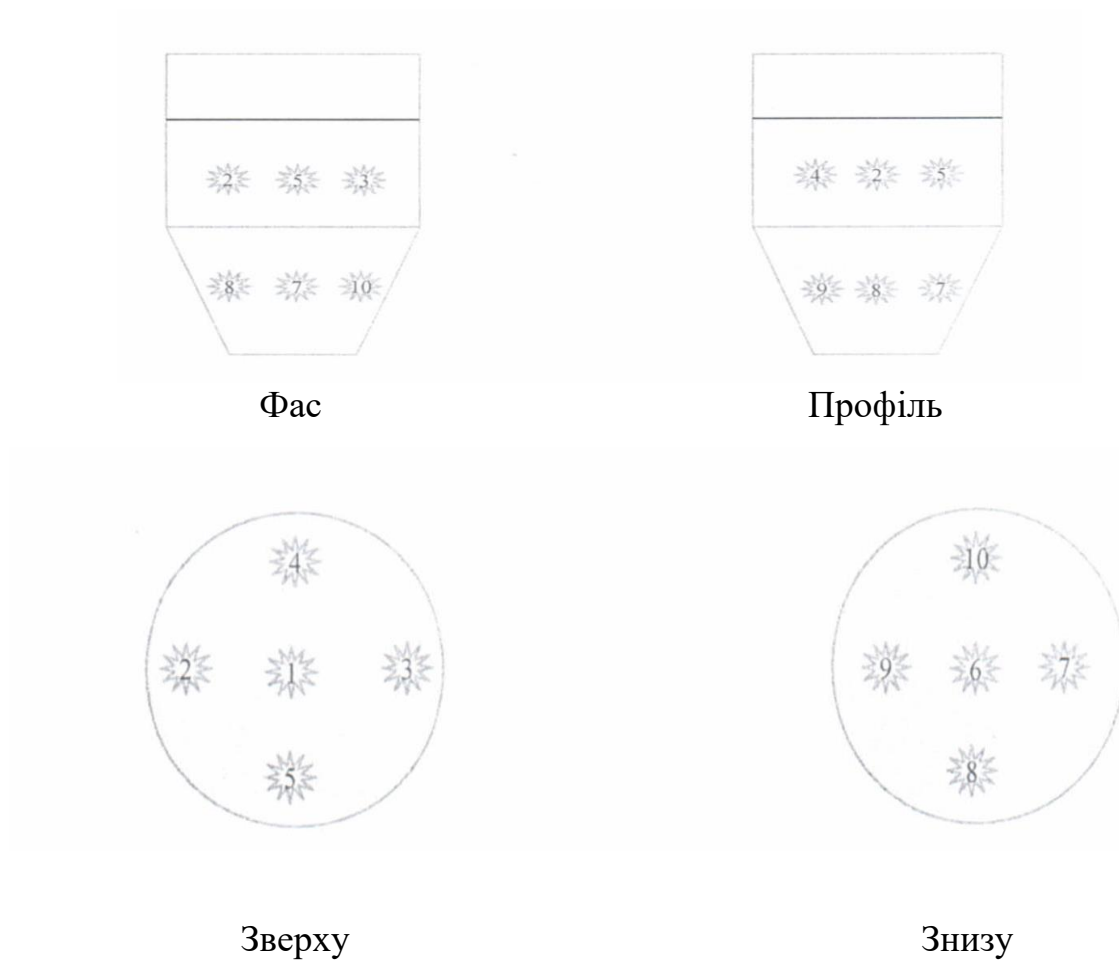


Рис. 3.10 Схема відбору проб гелю «Гіальдент» з реактора-гомогенізатора на стадії «Приготування гелю»

Таблиця 3.22

Схема валідації технологічного процесу виробництва гелю

№ п/п	Найменування критичного показника	Критерій прийнятності	Результат контролю			Оцінка відповідності	
			с 0010618	с 0020618	с 0030618	Так	Ні
1	2	3	4	5	6	7	8
Виготовлення серії							
<i>1. Контроль сировини, використаної у виробництві</i>							
1.1	Якість сировини	Документальне підтвердження якості сировини				Так	
<i>2. Зважування компонентів (стадія 1)</i>							
2.1	Статус ваг	Свідоцтво метрологічної перевірки ваг чинне				Так	
		Проведено калібрування ваг				Так	

Продовження табл. 3.22

1	2	3	4	5	6	7	8
2.2	Кількість зваженої сировини	Згідно з вимогами технології виробництва					
	Метронідазол бензоат	0,192 кг	0,192 кг	0,192 кг	0,192 кг	Так	
	Натрієва сіль гіалуронової кислоти	0,024 кг	0,024 кг	0,024 кг	0,024 кг	Так	
	Мірамістин	0,06 кг	0,06 кг	0,06 кг	0,06 кг	Так	
	Пропіленгліколь	0,60 кг	0,60 кг	0,60 кг	0,60 кг	Так	
	Карбомер	0,132 кг	0,132 кг	0,132 кг	0,132 кг	Так	
	Натрій гідроксид	0,0384 кг	0,0384 кг	0,0384 кг	0,0384 кг	Так	
	Сахарин натрію	0,012 кг	0,012 кг	0,012 кг	0,012 кг	Так	
	Динатрій едетат	0,006 кг	0,006 кг	0,006 кг	0,006 кг	Так	
	Вода очищена	До 12,00 кг	До 12,00 кг	До 12,00 кг	До 12,00 кг	Так	
3. Приготування розчину нейтралізатора (стадія 2)							
3.1	У збірник завантажують	Вода очищена, динатрій едетат, сахарин натрію, натрій гідроксид				Так	
3.2	Швидкість обертання змішувача	(300÷500) об/хв	500 об/хв	400 об/хв	300 об/хв	Так	
	Час перемішування	(20÷25) хв	25 хв	23 хв	20 хв	Так	
3.3	Контроль повноти розчинення	Візуально, відсутність нерозчинених частинок				Так	
4. Приготування розчину мірамістину (стадія 3)							
4.1	У збірник завантажують	Вода очищена, мірамістин				Так	
4.2	Швидкість обертання змішувача	(300÷500) об/хв	500 об/хв	400 об/хв	300 об/хв	Так	
	Час перемішування	(15÷25) хв	25 хв	20 хв	15 хв	Так	
4.3	Контроль повноти розчинення	Візуально, відсутність нерозчинених частинок				Так	
5. Приготування розчину натрій гіалуронату (стадія 4)							
5.1	У збірник завантажують	Вода очищена, натрієва сіль гіалуронової кислоти				Так	
5.2	Швидкість обертання змішувача	(300÷500) об/хв	500 об/хв	400 об/хв	300 об/хв	Так	
	Час перемішування	(20÷30) хв	30 хв	25 хв	30 хв	Так	
5.3	Контроль повноти розчинення	Візуально, відсутність нерозчинених частинок				Так	
6. Приготування суспензії метронідазол бензоату (стадія 5)							
6.1	У збірник завантажують	Пропіленгліколь, метронідазол бензоат				Так	
6.2	Швидкість обертання гомогенізатора	(3000÷4000) об/хв	4000 об/хв	3500 об/хв	3000 об/хв	Так	
	Час гомогенізації	(5÷10) хв	10 хв	7 хв	5 хв	Так	
6.3	Контроль однорідності суспензії	Візуально, відсутність агломератів				Так	

Продовження табл. 3.22

1	2	3	4	5	6	7	8
<i>7. Приготування гелевої основи (стадія 6)</i>							
7.1	У реактор завантажують	Вода очищена, карбопол				Так	
	Швидкість обертання змішувача	(50÷60) об/хв	60 об/хв	55 об/хв	50 об/хв	Так	
	Час перемішування	(30÷35) хв	35 хв	33 хв	30 хв	Так	
	Контроль повноти диспергування	Візуально, відсутність недиспергованих частинок				Так	
7.2	У реактор завантажують	Розчин зі стадії 2				Так	
	Швидкість обертання змішувача	(50÷60) об/хв	60 об/хв	55 об/хв	50 об/хв	Так	
	Час перемішування	(20÷30) хв	30 хв	25 хв	20 хв	Так	
	Контроль однорідності гелю	Візуально, гель має бути однорідним				Так	
<i>8. Приготування гелю (стадія 7)</i>							
8.1	У реактор завантажують	Суспензія метронідазол бензоату зі стадії				Так	
	Швидкість обертання змішувача	(50÷60) об/хв	60 об/хв	55 об/хв	50 об/хв	Так	
	Час перемішування	(20÷30) хв	30 хв	25 хв	20 хв	Так	
	Контроль однорідності розподілення	Візуально, гель має бути однорідним				Так	
8.2	У реактор завантажують	Розчин натрієвої солі гіалуронової кислоти				Так	
	Швидкість обертання змішувача	(50÷60) об/хв	60 об/хв	55 об/хв	50 об/хв	Так	
	Час перемішування	(20÷30) хв	30 хв	25 хв	20 хв	Так	
	Контроль однорідності розподілення	Візуально, гель має бути однорідним				Так	
8.3	У реактор завантажують	Розчин мірамістину				Так	
	Швидкість обертання змішувача	(50÷60) об/хв	60 об/хв	55 об/хв	50 об/хв	Так	
	Час перемішування	(20÷30) хв	30 хв	25 хв	20 хв	Так	
	Контроль однорідності розподілення	Візуально, гель має бути однорідним				Так	
8.4	Гомогенізація						
	Швидкість обертання гомогенізатора	(3000÷4000) об/хв	4000 об/хв	3500 об/хв	3000 об/хв	Так	
	Час гомогенізації	(5÷10) хв	10 хв	7 хв	5 хв	Так	
	Контроль однорідності гелю	Візуально, гель має бути однорідним				Так	
8.5	Контроль якості гелю приготовленого						
	Опис					Так	
	Ідентифікація					Так	
	Однорідність					Так	

Продовження табл. 3.22

1	2	3	4	5	6	7	8
	рН					Так	
	В'язкість					Так	
	Кількісне визна-чення					Так	
	Умови зберігання					Так	
9. Дозування гелю (стадія 8)							
9.1	Установлення маси дозування	По 10,4 г				Так	
9.1	Контроль маси вмісту туби	Не менше 10,0 г				Так	
9.2	Якість гелю в тубах	Згідно зі специфікацією				Так	
9.3	Контроль умов зберігання	Зберігати в тубах за температури не вище 25 °С				Так	
10. Пакування та маркування (стадія 9, 10)							
10.1	Контроль якості готового продукту	Згідно зі специфікацією				Так	
10.2	Контроль умов зберігання	За температури не більше 25 °С				Так	

Для перевірки й оптимізації вибраних режимів було проведено масштабування процесу виробництва з використанням промислового обладнання, здійснено напрацювання 3-х дослідно-промислових серій гелю «Гіальдент» по 15 г у тубі в коробці, у цехових умовах. Вибір розміру серії зумовлено конструктивними особливостями технологічного обладнання, що відповідає вимогам Настанови з якості СТ-Н МОЗУ 42-3.5: 2004. «Лікарські засоби. Валідація процесу» (не менше 10% від обсягу промислової серії). Дослідно-промислова серія препарату «Гіальдент» по 15 г у тубі в коробці формується на Стадії 7 «Приготування гелю», складається з одного завантаження реактора-гомогенізатора і в теоретичному вираженні становить 12,00 кг (табл. 3.23).

Відповідно до розрахункових мас компонентів лікарського засобу, наведених в таблиці, визначених у ході фармацевтичної розробки препарату критичних параметрів з критеріями прийнятності технологічного процесу було напрацьовано серії препарату на цеховому обладнанні ТОВ «Фармацевтична компанія “Здоров’я”» з метою оптимізації технології та вивчення стабільності. Технологію виробництва дослідно-промислової серії 0010618 лікарського засобу гель «Гіальдент» наведено нижче.

**Склад та завантаження дослідно-промислової серії
гелю «Гіальдент» по 15,0 г у тубі в коробці**

Найменування компонента	Склад, мг/г	Кількість сировини на серію, кг
Діючі речовини:		
Метронідазол бензоат	16,00 мг	0,192 кг
Натрій гіалуронат	2,00 мг	0,024 кг
Мірамістин	5,00 мг	0,06 кг
Допоміжні речовини:		
Пропіленгліколь	50,00 мг	0,60 кг
Карбомер	11,00 мг	0,132 кг
Натрій гідроксид	3,20 мг	0,0384 кг
Натрій сахарин	1,00 мг	0,012 кг
Динатрій едетат	0,50 мг	0,006 кг
Вода очищенна	до 1,00 г	До 12,00 кг

Стадія 1. Підготовка та зважування компонентів

Сировину для приготування гелю (метронідазол бензоат, натрій гіалуронат, мірамістин, пропіленгліколь, карбопол, натрій гідроксид, натрій сахарин, динатрій едетат та воду очищену) після вхідного контролю відважували на вагах у збірники й передавали на наступні стадії.

Стадія 2. Приготування розчину нейтралізатора

У збірник з попередньо відваженою водою очищеною вносили під час перемішування зі швидкістю 500 об/хв по чергово динатрій едетат, натрій сахарин і натрій гідроксид і продовжували перемішування протягом 25 хв до повного розчинення кожного компонента. Контроль повного розчинення проводили візуально. Приготовлений розчин передавали на стадію 6 «Приготування гелевої основи».

Стадія 3. Приготування розчину мірамістину

У збірник з попередньо відваженою водою очищеною вносили під час перемішування 500 об/хв мірамістин і продовжували перемішування протягом 25 хв до повного розчинення. Приготовлений розчин передавали на стадію 7 «Приготування гелю».

Стадія 4. Приготування розчину натрій гіалуронату

У збірник з попередньо відваженою водою очищеною вносили під час перемішування натрієву сіль гіалуронової кислоти і продовжували перемішування за 500 об/хв протягом 30 хв до повного розчинення. Приготовлений розчин передавали на стадію 7 «Приготування гелю».

Стадія 5. Приготування суспензії метронідазол бензоату

У збірник з попередньо відваженим пропіленгліколем вносили метронідазол бензоат і проводили гомогенізацію за 4000 об/хв протягом 10 хв. Приготовлену суспензію передавали на стадію 7 «Приготування гелю».

Стадія 6. Приготування гелевої основи

У реактор поміщали відважену кількість води очищеної та карбополу і проводили перемішування за 60 об/хв протягом 35 хв до повного диспергування карбополу.

До диспергованого та набряклого карбополу під час перемішування 60 об/хв вносили частинами розчин зі стадії 2 і продовжували перемішування протягом 30 хв до повної однорідності гелевої основи.

Однорідність гелевої основи контролювали візуально.

Стадія 7. Приготування гелю

У реактор з гелевою основою за постійного перемішування вносили невеликими порціями суспензію метронідазол бензоату. Проводили перемішування за 60 об/хв протягом 30 хв. Після чого невеликими порціями вносили розчин натрієвої солі гіалуронової кислоти за 60 об/хв. Потім вносили розчин мірамістину за 60 об/хв і продовжували перемішування протягом 30 хв до повного розподілення в гелевій основі. Проводили гомогенізацію вмісту за 400 об/хв протягом 10 хвилин до отримання однорідного гелю.

Після гомогенізації відбирали контрольні проби з різних ділянок реактора і проводили проміжний хімічний контроль нерозфасованого гелю (табл. 3.24).

**Результати проміжного контролю нерозфасованого
гелю «Гіальдент» (с 0010618)**

Назва показника	Допускна норма	Результат
Опис	М'який напівпрозорий гель білого кольору	Відповідає
Ідентифікація	мірамістин метронідазол бензоат натрій гіалуронат	Відповідає Відповідає Відповідає
Розмір частинок	Не менше 95 % частинок повинні мати розмір < 50 мкм	відповідає
рН	5,0-7,0	6,04
В'язкість	2300-3800 мПа*с	2600 мПа*с
Кількісне визначення: метронідазол бензоат мірамістин натрій гіалуронат	Вміст в 1 г препарату: 15,2-16,8 мг 4,75-5,25 мг 1,90-2,10 мг	Вміст в 1 г препарату: 15,9 мг 5,00 мг 2,05 мг

Стадія 8. Фасування гелю в туби

Приготовлений гель перекачують у бункер тубонаповнювального автомата і фасують по 15,0 г у туби ламінатні з бушоном.

Проводять контроль точності дозування, продуктивності автомата і правильності маркування туб (номер серії і термін придатності).

Стадія 9. Пакування туб у пачки

Туби з інструкцією до застосування пакують у пачки на автоматі. Контролюють комплектність пакування (туба, інструкція до застосування, бушон).

Стадія 10. Пакування пачок у коробки

На пакувальному столі вручну проводять пакування пачок у коробки.

Відбирають пачки препарату з різних коробок і проводять повний контроль готового гелю, що має відповідати вимогам МКЯ ЛЗ.

Технологія виробництва дослідно-промислової серії 0020619 лікарського засобу гелю «Гіальдент» наступна:

Стадія 1. Підготовка та зважування компонентів

Сировину для приготування гелю (метронідазол бензоат, натрій гіалуронат, мірамістин, пропіленгліколь, карбопол, натрій гідроксид, натрій сахарин, динатрій едетат та воду очищену) після вхідного контролю відважували на вагах у збірники й передавали на наступні стадії.

Стадія 2. Приготування розчину нейтразізатора

У збірник з попередньо відваженою водою очищеною вносили під час перемішування зі швидкістю 400 об/хв почергово динатрій едетат, натрій сахарин і натрій гідроксид і продовжували перемішування протягом 20 хв до повного розчинення кожного компонента. Контроль повного розчинення проводили візуально. Приготовлений розчин передавали на стадію 6 «Приготування гелевої основи».

Стадія 3. Приготування розчину мірамістину

У збірник з попередньо відваженою водою очищеною вносили під час перемішування зі швидкістю 400 об/хв мірамістин і продовжували перемішування до повного розчинення протягом 20 хв. Приготовлений розчин передавали на стадію 7 «Приготування гелю».

Стадія 4. Приготування розчину натрій гіалуронату

У збірник з попередньо відваженою водою очищеною вносили під час перемішування натрій гіалуронат і продовжували перемішування за 400 об/хв до повного розчинення протягом 25 хв. Приготовлений розчин передавали на стадію 7 «Приготування гелю».

Стадія 5. Приготування суспензії метронідазол бензоату

У збірник з попередньо відваженим пропіленгліколем вносили метронідазол бензоат і проводили гомогенізацію за 3500 об/хв протягом 7 хв. Приготовлену суспензію передавали на стадію 7 «Приготування гелю».

Стадія 6. Приготування гелевої основи

У реактор поміщали відважену кількість води очищеної та карбополу й проводили перемішування за 55 об/хв до повного диспергування карбополу протягом 33 хв.

До диспергованого та набряклого карбополу під час перемішування 55 об/хв вносили частинами розчин зі стадії 2 і продовжували перемішування до повної однорідності гелевої основи протягом 25 хв.

Однорідність гелевої основи контролювали візуально.

Стадія 7. Приготування гелю

У реактор з гелевою основою за постійного перемішування вносили невеликими порціями суспензію метронідазол бензоату. Проводили перемішування за 55 об/хв протягом 25 хв. Після чого невеликими порціями вносили розчин натрієвої солі гіалуронової кислоти за 55 об/хв. Потім вносили розчин мірамистину за 55 об/хв і продовжували перемішування до повного розподілення в гелевої основі протягом 25 хв. Проводили гомогенізацію вмісту за 350 об/хв до отримання однорідного гелю протягом 10 хв.

Після гомогенізації відбирали контрольні проби з різних ділянок реактора і проводили проміжний хімічний контроль нерозфасованого гелю (табл. 3.25).

Таблиця 3.25

Результати проміжного контролю нерозфасованого гелю «Гіальдент» (с 0020618)

Назва показника	Допускна норма	Результат
Опис	М'який напівпрозорий гель білого кольору	Відповідає
Ідентифікація	мірамистин метронідазол бензоат натрій гіалуронат	Відповідає Відповідає Відповідає
Розмір частинок	Не менше 95 % частинок повинні мати розмір < 50 мкм	Відповідає
рН	5,0-7,0	5,85
В'язкість	2300-3800 мПа*с	2450 мПа*с
Кількісне визначення: метронідазол бензоат мірамистин натрій гіалуронат	Вміст в 1 г препарату: 15,2-16,8 мг 4,75-5,25 мг 1,90-2,10 мг	Вміст в 1 г препарату: 16,1 мг 4,95 мг 1,98 мг

Стадія 8. Фасування гелю в туби

Приготовлений гель перекачують у бункер тубонаповнювального автомата і фасують по 15,0 г у туби ламінатні з бушоном.

Проводять контроль точності дозування, продуктивності автомата і правильності маркування туб (номер серії і термін придатності).

Стадія 9. Пакування туб у пачки

Туби з інструкцією до застосування пакують у пачки на автоматі пакування туб у пачки. Контролюють комплектність пакування (туба, інструкція до застосування, бушон).

Стадія 10. Пакування пачок у коробки

На пакувальному столі вручну проводять пакування пачок у коробки.

Відбирали туби препарату з різних коробок і проводили повний контроль готового гелю.

Технологія виробництва дослідно-промислової серії 0030619 лікарського засобу гель «Гіальдент» наступна:

Стадія 1. Підготовка та зважування компонентів

Сировину для приготування гелю (метронідазол бензоат, натрій гіалуронат, мірамістин, пропіленгліколь, карбопол, натрій гідроксид, натрій сахарин, динатрій едетат та воду очищену) після вхідного контролю відважували на вагах у збірники й передавали на наступні стадії.

Стадія 2. Приготування розчину нейтралізатора

У збірник з попередньо відваженою водою очищеною вносили під час перемішування зі швидкістю 300 об/хв по чергово динатрій едетат, натрій сахарин і натрій гідроксид і продовжували перемішування до повного розчинення кожного компонента протягом 15 хв. Контроль повного розчинення проводили візуально. Приготовлений розчин передавали на стадію 6 «Приготування гелевої основи».

Стадія 3. Приготування розчину мірамістину

У збірник з попередньо відваженою водою очищеною вносили під час перемішування 300 об/хв мірамістин і продовжували перемішування

до повного розчинення протягом 15 хв. Приготовлений розчин передавали на стадію 7 «Приготування гелю».

Стадія 4. Приготування розчину натрій гіалуронату

У збірник з попередньо відваженою водою очищеною вносили під час перемішування натрій гіалуронат і продовжували перемішування за 300 об/хв до повного розчинення протягом 20 хв. Приготовлений розчин передавали на стадію 7 «Приготування гелю».

Стадія 5. Приготування суспензії метронідазол бензоату

У збірник з попередньо відваженим пропіленгліколем вносили метронідазол бензоат і проводили гомогенізацію за 3000 об/хв протягом 5 хв. Приготовлену суспензію передавали на стадію 7 «Приготування гелю».

Стадія 6. Приготування гелевої основи

У реактор поміщали відважену кількість води очищеної та карбополу й проводили перемішування за 50 об/хв до повного диспергування карбополу протягом 30 хв.

До диспергованого та набухлого карбополу під час перемішування 50 об/хв вносили частинами розчин зі стадії 2 і продовжували перемішування до повної однорідності гелевої основи протягом 20 хв.

Однорідність гелевої основи контролювали візуально.

Стадія 7. Приготування гелю

У реактор з гелевою основою за постійного перемішування вносили невеликими порціями суспензію метронідазол бензоату. Проводили перемішування за 50 об/хв протягом 20 хв. Після чого невеликими порціями вносили розчин натрієвої солі гіалуронової кислоти за 50 об/хв. Потім вносили розчин мірамістину за 50 об/хв і продовжували перемішування до повного розподілення в гелевої основі протягом 20 хв. Проводили гомогенізацію вмісту за 300 об/хв до отримання однорідного гелю протягом 10 хв.

Після гомогенізації відбирали контрольні проби з різних ділянок реактора і проводили проміжний хімічний контроль нерозфасованого гелю (табл. 3.26).

**Результати проміжного контролю
нерозфасованого гелю «Гіальдент» (с 0030618)**

Назва показника	Допускна норма	Результат
Опис	М'який напівпрозорий гель білого кольору	Відповідає
Ідентифікація	мірамістин метронідазол бензоат натрій гіалуронат	Відповідає Відповідає Відповідає
Розмір частинок	Не менше 95 % частинок повинні мати розмір < 50 мкм	Відповідає
рН	5,0-7,0	5,92
В'язкість	2300-3800 мПа*с	2680 мПа*с
Кількісне визначення: метронідазол бензоат мірамістин натрій гіалуронат	Вміст в 1 г препарату: 15,2-16,8 мг 4,75-5,25 мг 1,90-2,10 мг	Вміст в 1 г препарату: 16,02 мг 5,03 мг 2,00 мг

Стадія 8. Фасування гелю в туби

Приготовлений гель перекачують у бункер тубонаповнювального автомата і фасують по 105,0 г у туби ламінатні з бушоном.

Проводять контроль точності дозування, продуктивності автомата і правильності маркування туб (номер серії і термін придатності).

Стадія 9. Пакування туб у пачки

Туби з інструкцією до застосування пакують у пачки на автоматі пакування. Контролюють комплектність пакування (туба, інструкція до застосування, бушон).

Стадія 10. Пакування пачок у коробки

На пакувальному столі вручну проводять пакування пачок у коробки.

Відбирали туби препарату з різних коробок і проводили повний контроль готового гелю.

На дослідно-промислових серіях було здійснено оптимізацію параметрів проведення технологічного процесу, відпрацювання критичних параметрів у всіх стадіях, запланованих для виробництва, з визначенням критеріїв прийнятності та схеми валідації.

Результати контролю трьох дослідно-промислових серій лікарського засобу гель «Гіальдент» відповідно до розробленого проєкту МКЯ ЛЗ наведено в табл. 3.27.

Таблиця 3.27

**Результати контролю дослідно-промислових серій готового
лікарського препарату «Гіальдент» по 15 г в тубах**

Назва показника	Допускна норма	с 0010618	с 0020618	с 0030618
Опис	М'який напівпрозорий гель білого кольору	Відповідає	Відповідає	Відповідає
Ідентифікація	мірамістин метронідазол бензоат натрій гіалуронат	Відповідає Відповідає Відповідає	Відповідає Відповідає Відповідає	Відповідає Відповідає Відповідає
Розмір частинок	Не менше 95 % частинок повинні мати розмір < 50 мкм	Відповідає	Відповідає	Відповідає
pH	5,0-7,0	6,07	5,92	6,00
В'язкість	2300 - 3800 мПа*с	2750 мПа*с	2550 мПа*с	2700 мПа*с
Кількісне визначення:	Вміст в 1 г препарату:			
метронідазол бензоат	15,2 - 16,8 мг	15,9 мг	16,1 мг	16,02 мг
мірамістин	4,75 - 5,25 мг	5,00 мг	4,95 мг	5,03 мг
натрій гіалуронат	1,90 - 2,10 мг	2,05 мг	1,98 мг	2,00 мг
Вміст туби	Не менше 15 г	15,45 г	15,41 г	15,35 г
Герметичність туби	Пакування має бути герметичним	Відповідає	Відповідає	Відповідає
Мікробіологічна чистота	Загальна кількість аероб- них мікроорганізмів (ТАМС) – критерії при- йнятності: 10 ² КУО/г Загальне число дріжджо- вих і цвілевих грибів (ТУМС) – критерії при- йнятності: 10 ¹ КУО/г Staphylococcus aureus – відсутність у 1 г Pseudomonas aeruginosa – відсутність у 1 г	Менше 10 ² КУО/г Менше 10 ¹ КУО/г Відсутні Відсутні	Менше 10 ² КУО/г Менше 10 ¹ КУО/г Відсутні Відсутні	Менше 10 ² КУО/г Менше 10 ¹ КУО/г Відсутні Відсутні

Як видно з даних табл. 3.27, за всіма показниками якості дослідно-промислові зразки гелю відповідають вимогам специфікації проєкту МКЯ ЛЗ на гель «Гіальдент по 15 г в тубах».

Висновки до розділу 3

1. Теоретично й експериментально обґрунтовано склад комбінованого стоматологічного гелю для лікування інфекційно-запальних захворювань ясен та слизової оболонки рота. За результатами вивчення антимікробної активності визначено ефективні концентрації діючих речовин у складі гелю: метронідазол бензоату – 16 мг/г, мірамістину – 5 мг/г, натрій гіалуронату – 2 мг/г.

2. Визначено розчинність обраних активних фармацевтичних інгредієнтів в гідрофільних розчинниках (вода очищена, пропіленгліколь, поліетиленоксид-400), виготовлено модельні зразки гелю з використанням гелеутворювачів синтетичного та природного походження. З'ясовано, що за фізико-хімічними, технологічними та споживчими властивостями перевагу мають гелі на основі карбомерів, зокрема Carbopol® Ultrez 10.

3. Дослідженням структурно-механічних показників гелю визначено раціональну концентрацію гелеутворювача Carbopol® Ultrez 10, яка становить 1,1 %. Використання як нейтралізатора розчину натрій гідрооксиду в концентрації 0,32 % забезпечує стабільне значення рН розробленого стоматологічного гелю. Реологічними дослідженнями доведено, що комбінований стоматологічний гель на основі карбомеру марки Ultrez 10 є пластичною системою з помірними тиксотропними властивостями та задовільними споживчими характеристиками.

4. Доведено ефективність застосування динатрій едетату в концентрації 0,5 %, як антиоксиданта і стабілізатора розробленого стоматологічного гелю. Як коригент смаку до складу препарату введено сахарин натрію у концентрації 0,1 %.

5. Технологічними дослідженнями доведено раціональність введення метронідазол бензоату до складу гелю у формі суспензії в пропіленгліколі. Визначено оптимальні параметри гомогенізації суспензії метронідазол бензоату в пропіленгліколі перед її введенням в гелеву основу. Гомогенізація зі швидкістю 3000 об/хв протягом 10 хв забезпечує отримання мікронізованої дисперсної фази й однорідність гелю.

6. Розроблено промислову технологію виробництва комбінованого стоматологічного гелю «Гіальдент». З використанням інструментів аналізу ризиків, зокрема діаграми Ісікави та «Дерева прийняття рішень», визначено критичні стадії, параметри технологічного процесу та критерії їх прийнятності, а також розроблено програму валідації технології.

7. Проведено масштабування технології виробництва розробленого стоматологічного гелю «Гіальдент» та валідацію технологічного процесу в умовах промислового виробництва. Доведено відтворюваність технології гелю та отримання лікарського препарату, що відповідає вимогам ДФУ та проєкту МКЯ ЛЗ, якщо відхилення технологічних параметрів відбувається у визначених межах.

Результати експериментальних досліджень цього розділу наведено в таких публікаціях:

1. Орленко Д. С., Яковенко В. К., Андрюкова Л. М., Доровський О. В. Дослідження з вибору допоміжних речовин у складі комбінованого стоматологічного гелю. *Сучасні досягнення фармацевтичної технології і біотехнології* : зб. наук. пр. Вип. 5. Х.: Вид-во НФаУ. 2018. С. 272–275. (Особистий внесок: проведення дослідження, оброблення одержаних даних, написання статті).

2. Orlenko D., Yakovenko V., Vyshnevskaya L. Study of structural and mechanical properties of bases in the development of dental gel with combined composition. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2019. №5 (21) P. 35–41. (Особистий внесок: планування і проведення дослідження, аналіз та узагальнення отриманих результатів, підготування статті).

3. Orlenko D., Yakovenko V., Vyshnevskia L. Research on the development of dental gel technology with metronidazole benzoate and hyaluronic acid. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2019. № 6 (22). P. 24-29. *(Особистий внесок: планування і проведення дослідження, аналіз та узагальнення отриманих результатів, підготування статті)*.

4. Orlenko D. S., Yakovenko V. K. Using the HACCP method in quality risk management in the production of oromucosal gel. *Аннали Мечніковського інституту*. 2020. № 2. С. 24–29 *(Особистий внесок: планування і проведення дослідження, аналіз та узагальнення отриманих результатів, готування статті)*.

5. Орленко Д. С., Стрельников Л. С., Малоштан Л. Н., Яковенко В. К. Изучение антимикробной и противовоспалительной активности оромукозного геля комбинированного состава. *Вестник фармации*. 2020. № 3 (89). С. 70–76. *(Особистий внесок: планування експерименту, виготовлення експериментальних зразків, оброблення одержаних даних, підготування статті)*.

6. Склад для лікування гінгівіту та пародонтиту : патент на корисну модель 139452 України / Доровський О. В., Хорунжий Г. Г., Когута О. М., Орленко Д. С. № и 2019 05619 ; заявл. 23.05.2019; опубл. 10.01.2020, Бюл. № 1. *(Особистий внесок: участь у патентному пошуку, планування та виконання експериментальних досліджень, узагальнення отриманих результатів, участь у підготуванні опису до патенту)*.

7. Орленко Д. С., Яковенко В. К. Комбінований стоматологічний гель для лікування гінгівіту і парадонтиту : інформ лист. Київ : Укрмедпатентінформ МОЗ України, 2020. № 78-2020. 4 с.

8. Orlenko D., Iakovenko V., Dorovsky O. Substantiation of the composition of combined gel for therapy of inflammatory processes of gums and mucous membrane of the oral cavity. *Science and practice 2017*. Book of abstracts: The 8th International conference on pharmaceutical sciences and pharmacy practice. December 15, 2017, Kaunas, Lithuania. P. 98.

9. Orlenko D., Dorovskoy O., Yakovenko V. Design of dental composition with hyaluronic acid. *Science and practice 2018*. Book of abstracts: The 9th International pharmaceutical conference November 9, 2018, Kaunas, Lithuania. P. 71.

10. Orlenko D., Yakovenko V. Technological studies in the design a combined stomatological gel. *Приоритеты фармации и стоматологии: от теории к практике*: сб. мат. VII науч.-практ. конф. с междунар. участием. Алматы. 2018. С. 119.

11. Орленко Д. С., Яковенко В. К. Валідація технологічного процесу виробництва комбінованого стоматологічного гелю. *Сучасні аспекти створення екстемпоральних алопатичних, гомеопатичних і косметичних лікарських засобів*: матеріали науково-практичної інтернет-конференції, Харків, 1 березня 2019 р., Харків : НФаУ. С. 160.

12. Орленко Д. С., Яковенко В. К. Определение способа введения в основу активных фармацевтических ингредиентов стоматологического геля. *Актуальные проблемы современной медицины и фармации*: Сборник тезисов докладов LXXIII Международной научно-практической конференции студентов и молодых ученых. Минск: БГМУ. 2019. С. 1545.

13. Орленко Д. С., Яковенко В. К. Встановлення критичних показників якості при фармацевтичній розробці стоматологічного гелю *Управління якістю в фармації* : матеріали XIII наук.-практ. конф., Харків, 17 трав. 2019 р. Х. : НФаУ. 2019. С. 114.

РОЗДІЛ 4

РОЗРОБКА МЕТОДИК АНАЛІЗУ, СТАНДАРТИЗАЦІЯ ТА ДОСЛІДЖЕННЯ СТАБІЛЬНОСТІ СТОМАТОЛОГІЧНОГО ГЕЛЮ

Одним із важливих етапів створення нового лікарського засобу є розробка методик якісного та кількісного аналізу АФІ та визначення загальних показників якості готового лікарського препарату.

Розробка методик аналізу діючих речовин у складі лікарського препарату спирається на методи контролю якості окремих АФІ, які потрібно адаптувати до обраної лікарської форми. До складу розробленого лікарського засобу входять 3 діючих речовини: метронідазол бензоат, мірамістин, натрій гіалуронат.

Для кількісного визначення метронідазол бензоату в субстанції згідно з методиками ДФУ та ЄФ використовують метод титрування в неводному середовищі (титрування розчином хлорної кислоти в середовищі оцтової кислоти безводної) [27, 128]. Така методика селективна щодо речовин, що мають у своїй молекулярній структурі аміногрупу. Крім метранідазол бензоату, у готовій лікарській формі містяться інші сполуки (мірамістин, натрій гіалуронат, сахарин натрію), у структурі яких є аміногрупа [76]. Отже, метод титрування, який використовують під час кількісного визначення речовини в субстанції виявився непридатним для визначення метронідазол бензоату в готовій лікарській формі [72].

Метод абсорбційної спектрофотометрії в УФ-області також не дозволяє провести достовірне кількісне оцінювання вмісту метронідазол бензоату через інші компоненти лікарського засобу. Під час вимірювання випробуваного розчину внесок «плацебо» в кінцевий результат перевищує максимально допустиме значення 0,51% [18, 26, 95].

У монографіях лікарських форм для орального застосування, наведених у провідних світових фармакопеях, зокрема у Фармакопеї США і Британській фармакопеї, метронідазол бензоат представлено у вигляді суспензії. Для його кількісного визначення використовують метод високоефективної

рідинної хроматографії, що володіє більшою селективністю проти методу абсорбційної спектрофотометрії [149, 174].

Застосування методу ВЕРХ дозволяє одночасно визначати кількісний вміст та проводити ідентифікацію речовин, а також цей метод є специфічним, точним і відтворюваним [109, 123]. Отже, для ідентифікації та кількісного визначення активних фармацевтичних інгредієнтів стоматологічного гелю ми використовували метод ВЕРХ.

4.1 Розробка та валідація методики кількісного визначення метронідазол бензоату у складі стоматологічного гелю

Випробування проводять методом рідинної хроматографії (ДФУ, п. 2.2.29, п. 2.2.46) відповідно до методики, наведеної в розділі 2.

Ідентифікація метронідазол бензоату

На хроматограмах випробовуваного розчину та розчину порівняння, отриманих у розділі «Кількісне визначення. Метронідазол бензоат», знімають спектри поглинання на вершинах хроматографічних піків метронідазол бензоату в діапазоні довжин хвиль від 190 нм до 380 нм.

Спектр поглинання піку метронідазол бензоата на хроматограмі випробовуваного розчину має збігатися зі спектром поглинання відповідного піку на хроматограмі розчину порівняння [114].

Хроматографують розчин порівняння, отримуючи від 2 до 4 хроматограм. Для площ піку метронідазол бензоату з отриманих хроматограм розчину порівняння розраховують відносне стандартне відхилення (RSD). Отримання паралельних хроматограм (n_0) припиняють після досягнення вимог до RSD (ДФУ, 2.2.46).

Хроматографують випробовуваний розчин та розчин порівняння, отримуючи кількість паралельних хроматограм (n) не менше, ніж під час перевіряння придатності хроматографічної системи (n_0).

Хроматографування проводять на рідинному хроматографі з діодноматричним детектором.

Вміст метронідазол бензоату (X_1) в 1 г препарату, у міліграмах, розраховували за формулою:

$$X_1 = \frac{S_i \times m_0 \times 2 \times P \times 100 \times 20 \times 1000}{S_0 \times 50 \times 50 \times 100 \times m_i \times 5} = \frac{S_i \times m_0 \times P \times 3,2}{S_0 \times m_i}$$

де S_i – середнє значення площ піку метронідазол бензоату, розраховане з хроматограм випробуваного розчину;

S_0 – середнє значення площ піку метронідазол бензоату, розраховане з хроматограм розчину порівняння;

m_0 – маса наважки стандартного зразка метронідазол бензоату, у міліграмах;

m_i – маса наважки препарату, у міліграмах;

P – вміст основної речовини у стандартному зразку метронідазол бензоату, у відсотках.

Вміст метронідазол бензоату ($C_{13}H_{13}N_3O_4$) в 1 г препарату має бути від 15,2 мг до 16,8 мг на момент випуску та в процесі зберігання.

Хроматограми розчину стандартного зразка метранідазол бензоату та випробуваного розчину гелю «Гіальдент» наведено на рис. 4.1 та 4.2.

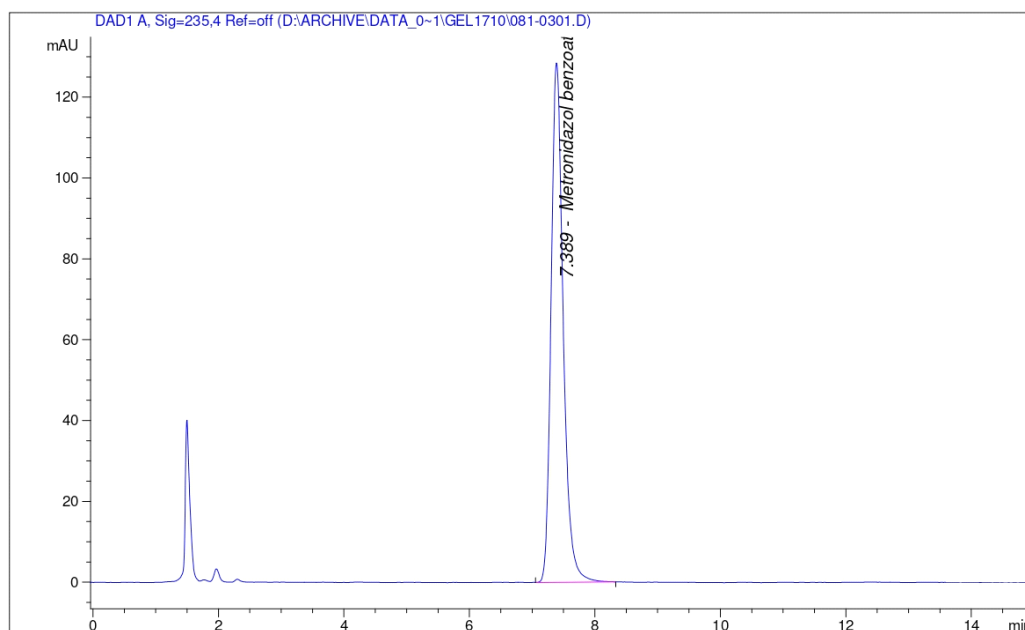


Рис. 4.1 Хроматограма розчину стандартного зразка метранідазол бензоату

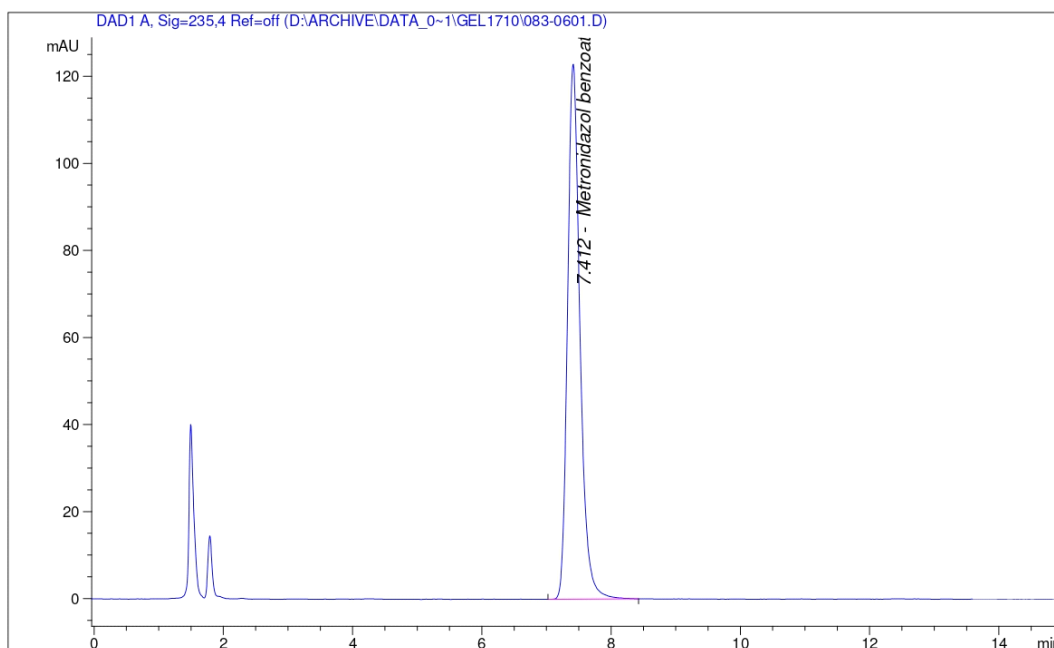


Рис. 4.2 Хроматограма випробовуваного розчину гелю для ідентифікації та кількісного визначення метронідазол бензоату

Дослідження валідаційних характеристик методики кількісного визначення метронідазол бензоату

1. Перевірка придатності хроматографічної системи

Критерії прийнятності: відносне стандартне відхилення (RSD) площ піків метронідазол бензоату, отриманих з хроматограм розчину порівняння, повинно задовольняти вимогам ДФУ, 2.2.46:

	Кількість паралельних інжекцій				
	2	3	4	5	6
RSD, %	0,25	0,67	0,96	1,19	1,38

За результатами, наведеними в табл. 4.1, вимоги до придатності хроматографічної системи виконуються для мінімальної кількості паралельних інжекцій.

**Результати перевірки придатності хроматографічної системи
для методики кількісного визначення метронідазол бензоату**

n _i	Площа піку (S _i)	RSD, %		Ефективність колонки, число теоретичних тарілок		Коефіцієнт симетрії	
		Розраховано	Вимоги	Розраховано	Вимоги	Розраховано	Вимоги
1	1746,47	-	-	8684	≥ 2000	1,175	≤ 2,0
2	1751,15	0,19	≤ 0,25	8592		1,168	
3	1741,44	0,28	≤ 0,67	8622		1,174	
4	-	-	≤ 0,96	-		-	
5	-	-	≤ 1,19	-		-	
6	-	-	≤ 1,38	-		-	

Подальші валідаційні випробування стосувалися таких характеристик:

- контроль специфічності методики;
- контроль лінійності методики;
- контроль правильності методики;
- контроль збіжності методики;
- контроль внутрішньолабораторний прецизійності методики.

Критерії прийнятності під час проведення контролю специфічності методики:

- на хроматограмах розчину плацебо не повинно бути піків з часом утримування в діапазонах для метронідазол бензоату;
- коефіцієнт спектральної чистоти піку метронідазол бензоату повинен бути не менше 995,0:

Зіставлено хроматограми розчину порівняння і хроматограми розчину плацебо. За хроматограмою розчину порівняння для піку метронідазол бензоату визначають часи утримування (t_{Ri}), ширину піків (W_i) і діапазони. Результати наведено в табл. 4.2.

**Виявлення специфічності методики кількісного
визначення метронідазол бензоату**

Хроматограма №			1	2
Пік метронідазол бензоату	Розчин порівняння	t_{Ri}	7,742	7,743
		w_i	0,800	0,789
		$t_{Ri} \pm w_i$	6,942-8,542	6,954-8,532
	Розчин плацебо	Об'єднаний діапазон $t_{Ri} \pm w_i$		6,942-8,542
		Наявність піків плацебо з часом утримання в об'єднаному діапазоні $t_{Ri} \pm w_i$		ні

За результатами аналізу з'ясовано, що на хроматограмах розчину плацебо відсутні піки з часом утримання в діапазоні $t_{Ri} \pm w_i$ для аналіту, отже, компоненти плацебо не впливають на результати аналізу, отримані за допомогою досліджуваної методики. Коефіцієнти спектральної чистоти піку аналіту відповідають критерію прийнятності. Отже, досліджувана методика володіє достатньою специфічністю.

Критерії прийнятності контролю лінійності методики

Для лінійної залежності наведеної площі хроматографічного піку від наведеної концентрації вмісту аналіту:

- вільний член лінійної залежності не повинен перевищувати свій довірчий інтервал: $|a| \leq 2,56 \%$;
- коефіцієнт лінійної кореляції: $R_c \geq \min R_c$.

Результати визначення лінійності методики подано в табл. 4.3.

Для аналіту будують графік залежності наведеної площі хроматографічного піку від наведеної концентрації S_i (c_i). Візуально оцінюють лінійність отриманої залежності, оцінюють відповідність лінійного коефіцієнта кореляції R_c залежності y_i (x_i) критерію прийнятності.

Графік залежності наведеної площі хроматографічного піку від наведеної концентрації метронідазол бензоату подано на рис. 4.3.

Результати визначення лінійності методики

Наважка субстанції метронідазол бензоату, мг				80,1 мг	
Вміст основної речовини в субстанції метронідазол бензоату, %				99,9 %	
Втрата в масі під час висушування субстанції метронідазол бензоату, %				0,05 %	
№ модельного розчину	Вміст аналіту, %	S_i	$\bar{S}_i$	$X_i, \%$	$y_i, \%$
1	80	1396,317; 1398,834	1397,426	79,7	79,9
2	85	1488,904; 1485,923	1487,414	84,6	85,1
3	90	1569,275; 1572,692	1570,984	89,6	89,8
4	95	1661,247; 1657,136	1659,192	94,6	94,9
5	100	1749,164; 1749,164	1748,275	99,6	100,0
6	105	1831,283; 1836,071	1833,677	104,6	104,9
7	110	1919,531; 1923,462	1921,497	109,5	109,9
8	115	2010,614; 2007,833	2009,224	114,5	114,9
9	120	2097,337; 2092,648	2094,993	119,5	119,8

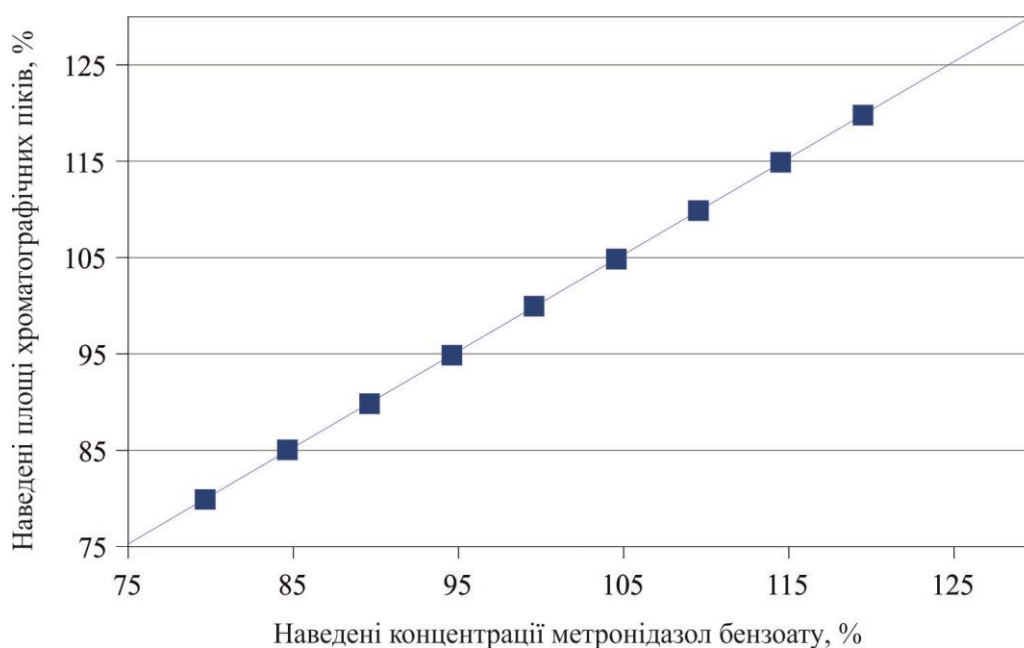


Рис. 4.3 Графік залежності площі хроматографічного піку від концентрації метронідазол бензоату

Для лінійної залежності виду: $y_i = a + b \cdot x_i$ розраховують методом найменших квадратів (МНК) параметри a і b [ДФУ].

Порівнюють абсолютну величину вільного члена лінійної залежності з розрахованим довірчим інтервалом Δa . Вільний член лінійної залежності не повинен перевищувати свій довірчий інтервал (табл. 4.4).

Таблиця 4.4

**Результати визначення коефіцієнтів лінійної залежності
та їх кореляції**

Метронідазол бензоат	
Вільний член лінійної залежності $ a $	0,1739
Кутовий коефіцієнт лінійної залежності b	1,0014
s_y^2	186,4310
s_0^2	0,0050
Δa	2,56
Виконання вимоги $ a \leq \Delta a$	Вимога виконується
Загальний індекс кореляції R_c	0,9999
$\min R_c$	0,9981
Виконання вимоги $R_c \geq \min R_c$	Вимога виконується

Для лінійної залежності наведеної площі хроматографічного піку від наведеної концентрації метронідазол бензоату $|a| \leq \Delta a$ ($0,1739 < 2,56$); $R_c \geq \min R_c$ ($0,9999 > 0,9981$). Отже, досліджена методика лінійна в діапазоні концентрації аналіту 80-120 %.

Критерії прийнятності контролю правильності методики

Правильність методики характеризує величина систематичної похибки δ , тобто відхилення середнього значення відношення виявлено/введено від 100 %.

Систематична похибка повинна бути незначною проти максимально допустимі невизначеності результатів аналізу $\max \Delta_{As}$: $\delta \leq 0,32 \cdot \max \Delta_{As}$, тобто: $\delta \leq 0,51\%$.

Результати визначення контролю правильності методики наведено в табл. 4.5.

**Результати визначення контролю правильності методики
кількісного визначення метронідазол бензоату**

№ модельного зразка	Вміст метронідазол бензоату, %	Співвідношення виявлено/введено, z_i , %	Середнє значення співвідношення виявлено/введено, z_i , %	Систематична похибка, δ , %
1	80	100,3	10,32	0,32
2	85	100,48	10,32	0,32
3	90	100,23	10,32	0,32
4	95	100,29	10,32	0,32
5	100	100,38	10,32	0,32
6	105	100,28	10,32	0,32
7	110	100,31	10,32	0,32
8	115	100,33	10,32	0,32
9	120	100,25	10,32	0,32

Як видно з даних таблиці, величина систематичної похибки задовольняє умові $\delta \leq 0,51\%$ ($\delta = 0,32 < 0,51$).

Критерій прийнятності контролю збіжності методики

Довірчий інтервал одиничного значення для вибірки відношення виявлено/введено повинен задовольняти умовам $\Delta z \leq 1,6\%$.

Величина довірчого інтервалу Δ_z досліджуваної методики кількісного визначення задовольняє вимогам ($\Delta_z = 0,139 < 1,6\%$).

4.2 Розробка та валідація методики кількісного визначення мірамістину у складі стоматологічного гелю

Випробування проводять методом рідинної хроматографії (ДФУ, п. 2.2.29, п. 2.2.46) відповідно до методики, наведеної в розділі 2.

Ідентифікація мірамістину

На хроматограмах випробовуваного розчину та розчину порівняння, отриманих у розділі «Кількісне визначення. Мірамістин», знімають спектри

поглинання на вершинах хроматографічних піків мірамістину в діапазоні довжин хвиль від 190 нм до 280 нм.

Спектр поглинання піку мірамістину на хроматограмі випробовуваного розчину має збігатися зі спектром поглинання відповідного піку на хроматограмі розчину порівняння [114].

Для площ піків мірамістину з одержаних хроматограм розраховують відносне стандартне відхилення (RSD). Отримання паралельних хроматограм (n_0) припиняють за досягнення вимог до RSD (ДФУ, п. 2.2.46).

Хроматографують розчин порівняння та випробовуваний розчин, отримуючи число паралельних хроматограм (n) для кожного з розчинів не менше, ніж під час перевіряння придатності хроматографічної системи (n_0).

Хроматографування проводять на рідинному хроматографі з ультрафіолетовим детектором.

Вміст мірамістину в 1 г препарату, у мг, розраховують за формулою:

$$X = \frac{S_i \times m_0 \times 5 \times 25 \times P \times 1000}{S_0 \times 25 \times 50 \times m_i \times 100} = \frac{S_i \times m_0 \times P}{S_0 \times m_i}$$

де S_i – середнє значення площ піку мірамістину, розраховане з хроматограм випробовуваного розчину;

S_0 – середнє значення площ піку мірамістину, розраховане з хроматограм розчину порівняння;

m_0 – маса наважки стандартного зразка мірамістину, у міліграмах;

m_i – маса наважки препарату, у міліграмах;

P – вміст основної речовини у стандартному зразку мірамістину, у відсотках.

Вміст мірамістину в 1 грамі препарату має бути від 4,75 до 5,25 мг на момент випуску та в процесі зберігання.

Хроматограми випробовуваного розчину гелю «Гіальдент» та розчину стандартного зразка мірамістину наведено на рис. 4.4. та 4.5.

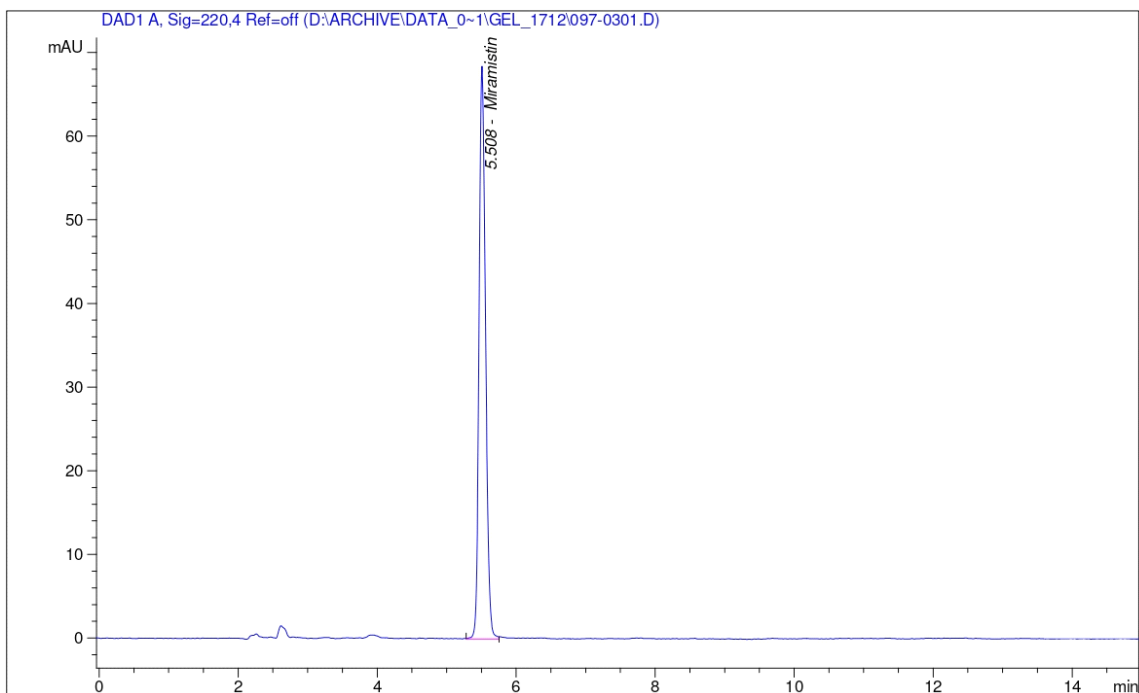


Рис. 4.4 Хроматограма розчину стандартного зразка мірамістину

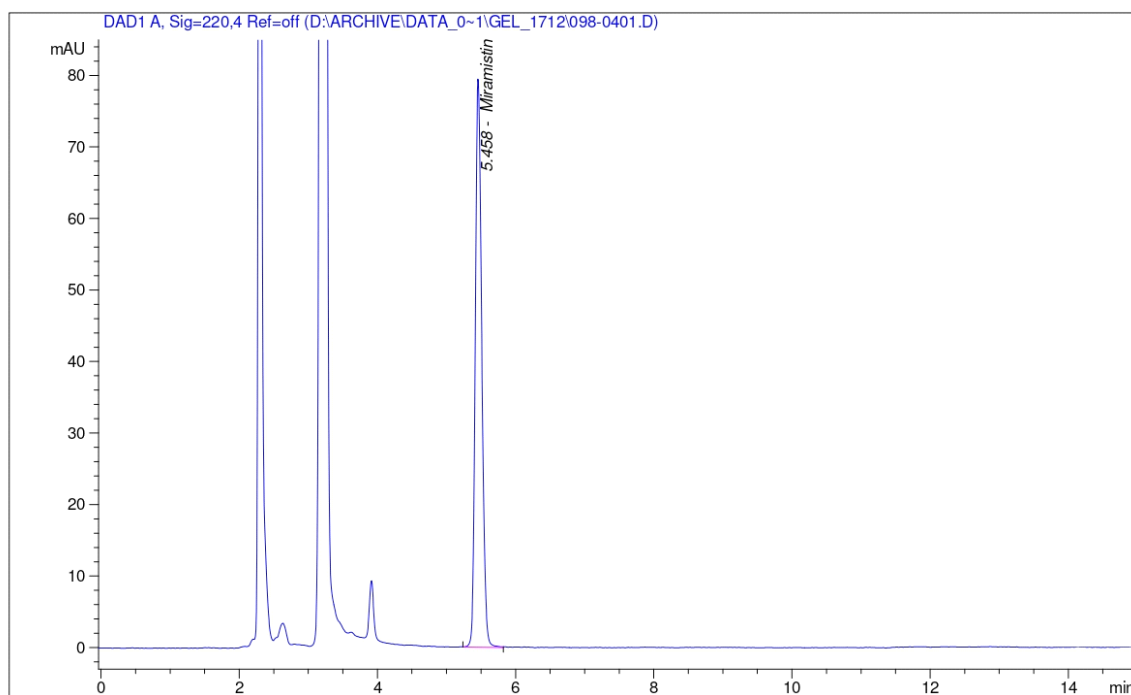


Рис. 4.5 Хроматограма випробовуваного розчину гелю для ідентифікації та кількісного визначення мірамістину

Дослідження валідаційних характеристик методики кількісного визначення мірамістину

Перевірка придатності хроматографічної системи має такі критерії прийнятності:

– відносне стандартне відхилення (RSD) площ піків мірамістину, отриманих з хроматограм розчину порівняння повинно задовольняти вимогам ДФУ, 2.2.46:

	Кількість паралельних інжекцій				
	2	3	4	5	6
RSD, %	0,25	0,67	0,96	1,19	1,38

– число теоретичних тарілок, розраховане з хроматограм розчину порівняння за піком мірамістину, має бути не менше 2000;

– коефіцієнт симетрії піку мірамістину, розрахований з хроматограм розчину порівняння, повинен бути не більше 1,8.

Для площ піку мірамістину розраховують відносне стандартне відхилення (RSD). Також оцінюють ефективність хроматографічної колонки за піком метронідазол бензоату і коефіцієнт симетрії піку мірамістину. Результати, наведені в табл. 4.6, підтверджують, що вимоги до придатності хроматографічної системи виконуються для мінімальної кількості паралельних інжекцій.

Таблиця 4.6

**Результати перевірки придатності хроматографічної системи
для кількісного визначення мірамістину**

n _i	Площа піку (S _i)	RSD, %		Ефективність колонки, число теоретичних тарілок		Коефіцієнт симетрії	
		Розраховано	Вимоги	Розраховано	Вимоги	Розраховано	Вимоги
1	441,34	-	-	17184	≥ 2000	1,186	≤ 2,0
2	442,204	0,14	≤ 0,25	17090		1,193	
3	443,107	0,2	≤ 0,67	17105		1,196	
4	-	-	≤ 0,96	-		-	
5	-	-	≤ 1,19	-		-	
6	-	-	≤ 1,38	-		-	

Подальші валідаційні випробування стосувалися таких характеристик:

- контроль специфічності методики;
- контроль лінійності методики;
- контроль правильності методики;
- контроль збіжності методики;
- контроль внутрішньолабораторний прецизійності методики.

Критерії прийнятності під час проведення контролю специфічності методики:

- на хроматограмах розчину плацебо не повинно бути піків з часом утримування в діапазонах для мірамістину;
- коефіцієнт спектральної чистоти піку мірамістину повинен бути не менше 995,0: $F_p \geq 995,0$

Зіставляють хроматограми розчину порівняння і хроматограми розчину плацебо. За хроматограмою розчину порівняння для піку мірамістину визначають часи утримування (t_{Ri}), ширину піків (W_i) і діапазони. Результати наведено в табл. 4.7.

Таблиця 4.7

Виявлення специфічності методики кількісного визначення мірамістину

Хроматограма			1	2
Пік мірамістину	Розчин порівняння	t_{Ri}	5,554	5,508
		w_i	0,393	0,373
		$t_{Ri} \pm w_i$	5,161-5,947	5,135-5,881
	Розчин плацебо	Об'єднаний діапазон $t_{Ri} \pm w_i$		5,135-5,947
		Наявність піків плацебо з часом утримання в об'єднаному діапазоні $t_{Ri} \pm w_i$	ні	ні

За даними табл. 4.7, специфічність методики кількісного визначення мірамістину підтверджується тим, що на хроматограмах розчину плацебо відсутні піки з часом утримування в діапазоні $t_{Ri} \pm w_i$ для аналіту, отже,

компоненти плацебо не впливають на результати аналізу, отримані за допомогою досліджуваної методики. Коефіцієнти спектральної чистоти піку аналіту відповідають критерію прийнятності, і досліджувана методика володіє достатньою специфічністю.

Критерії прийнятності контролю лінійності методики

Для лінійної залежності наведеної площі хроматографічного піку від наведеної концентрації вмісту аналіту:

- вільний член лінійної залежності не повинен перевищувати свій довірчий інтервал: $|a| \leq 2,56\%$;
- коефіцієнт лінійної кореляції: $R_c \geq \min R_c$.

Результати визначення лінійності методики подано в табл. 4.8.

Таблиця 4.8

Результати визначення лінійності методики кількісного визначення мірамістину

Наважка субстанції мірамістину, мг				417,0 мг	
Вміст основної речовини в субстанції мірамістину, %				99,4 %	
Втрата в масі під час висушування субстанції мірамістину, %				3,63 %	
№ модельного розчину	Вміст аналіту, %	S_i	$\bar{S}_i$	$X_i, \%$	$y_i, \%$
1	80	352,324; 351,210	351,767	80,1	79,6
2	85	373,063; 373,822	373,443	85,1	84,5
3	90	394,872; 393,908	394,390	90,1	89,3
4	95	418,548; 419,360	418,954	95,1	94,8
5	100	442,957; 443,814	443,386	100,1	100,4
6	105	460,334; 461,183	460,759	105,1	104,3
7	110	486,206; 485,025	485,616	110,1	109,9
8	115	504,067; 503,883	503,975	115,1	114,1
9	120	528,699; 529,135	528,917	120,1	119,7

Для аналізу будують графік залежності наведеної площі хроматографічного піку від наведеної концентрації S_i (c_i) (рис. 4.6). Візуально оцінюють лінійність отриманої залежності, оцінюють відповідність лінійного коефіцієнта кореляції R_c залежності y_i (x_i) критерію прийнятності.

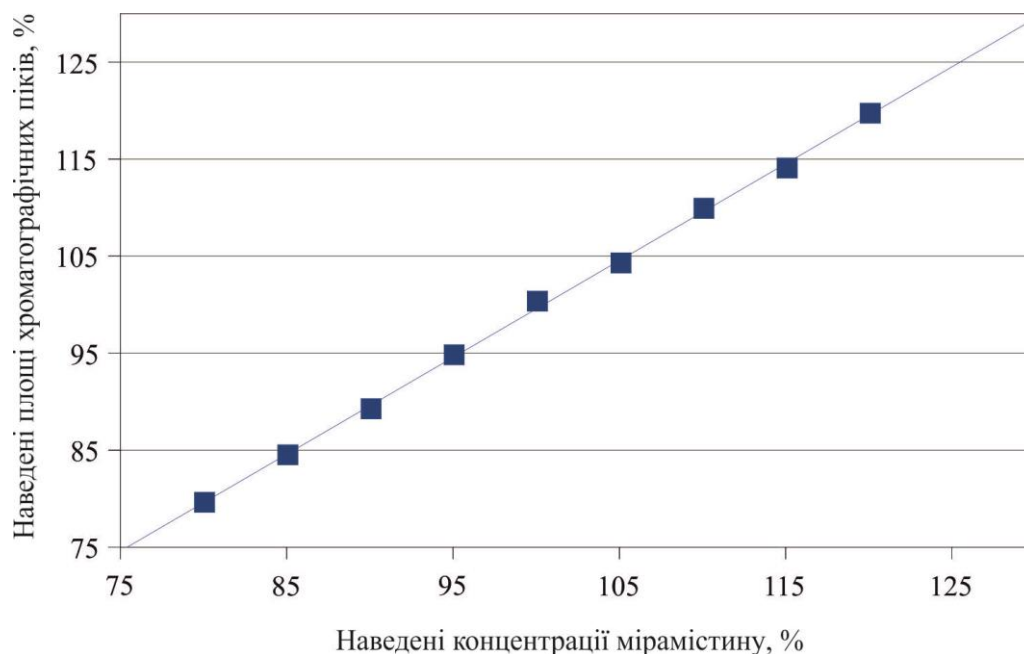


Рис. 4.6 Графік залежності площі хроматографічного піку від концентрації мірамістину

Для лінійної залежності виду: $y_i = a + b \cdot x_i$ розраховують методом найменших квадратів (МНК) параметри a і b .

Порівнюють абсолютну величину вільного члена лінійної залежності з розрахованим довірчим інтервалом Δa . Вільний член лінійної залежності не повинен перевищувати свій довірчий інтервал. Результати розрахунків наведені в табл. 4.9.

Для лінійної залежності наведеної площі хроматографічного піку від наведеної концентрації мірамістину $|a| \leq \Delta a$ ($0,2988 < 2,56$); $R_c \geq \min R_c$ ($0,9995 > 0,9981$). Отже, методика лінійна в діапазоні концентрації аналіту 80-120 %.

Таблиця 4.9

**Результати визначення коефіцієнтів лінійної залежності
та їх кореляції**

Мірамістин	
Вільний член лінійної залежності $ a $	0,2988
Кутовий коефіцієнт лінійної залежності b	0,9985
s_y^2	187,4270
s_0^2	0,1780
Δ_a	2,56
Виконання вимоги $ a \leq \Delta_a$	Вимога виконується
Загальний індекс кореляції R_c	0,9995
$\min R_c$	0,9981
Виконання вимоги $R_c \geq \min R_c$	Вимога виконується

Критерії прийнятності контролю правильності методики

Правильність методики характеризує величина систематичної похибки δ , тобто відхилення середнього значення відношення виявлено/введено від 100 %.

Систематична похибка повинна бути незначною проти максимально допускної невизначеності результатів аналізу $\max \Delta_{As}$: $\delta \leq 0,32 \cdot \max \Delta_{As}$, тобто: $\delta \leq 0,51$ %.

Результати визначення контролю правильності методики подано в табл. 4.10.

Таблиця 4.10

**Визначення контролю правильності методики кількісного
визначення мірамістину**

№ модельного зразка	Вміст мірамістину, %	Співвідношення виявлено/введено, z_i , %	Середнє значення співвідношення виявлено/введено, z_i , %	Систематична похибка, δ , %
1	2	3	4	5
1	80	99,46	99,54	0,46
2	85	99,38	10,32	0,32
3	90	99,11	10,32	0,32

Продовження табл. 4.10

1	2	3	4	5
4	95	99,75	10,32	0,32
5	100	100,29	10,32	0,32
6	105	99,24	10,32	0,32
7	110	99,85	10,32	0,32
8	115	99,12	10,32	0,32
9	120	99,70	10,32	0,32

Як видно з даних таблиці, величина систематичної похибки задовольняє умові $\delta \leq 0,51\%$ ($\delta = 0,46 < 0,51$).

Критерій прийнятності контролю збіжності методики

Довірчий інтервал одиничного значення для вибірки відношення виявлено/введено повинен задовольняти умові: $\Delta_z \leq 1,6\%$.

Величина довірчого інтервалу Δ_z досліджуваної методики кількісного визначення задовольняє вимогам $\Delta_z \leq 1,6\%$ ($\Delta_z = 0,723 < 1,6\%$).

4.3 Розробка методик ідентифікації та кількісного визначення натрій гіалуронату у складі стоматологічного гелю

Випробування проводять методом рідинної хроматографії (ДФУ, п. 2.2.29, п. 2.2.46).

Хроматографують розчин порівняння, отримуючи від 2 до 4 хроматограм. Для площ піку гіалуронової кислоти з отриманих хроматограм розчину порівняння розраховують відносне стандартне відхилення (RSD). Отримання паралельних хроматограм (n_0) припиняють за досягнення вимог до RSD (ДФУ, 2.2.46).

Хроматографують випробовуваний розчин та розчин порівняння, отримуючи кількість паралельних хроматограм (n) не менше, ніж під час перевіряння придатності хроматографічної системи (n_0).

Хроматографування проводять на рідинному хроматографі з діодноматричним детектором.

Вміст натрій гіалуронату (X_1) в 1 г препарату, у міліграмах, розраховують за формулою:

$$X_1 = \frac{S_i \times m_0 \times 10 \times P \times 25 \times 1000}{S_0 \times 100 \times 50 \times 100 \times m_i} = \frac{S_i \times m_0 \times P}{S_0 \times m_i \times 2}$$

де S_i – середнє значення площ піку натрій гіалуронату, розраховане з хроматограм випробуваного розчину;

S_0 – середнє значення площ піку натрій гіалуронату, розраховане з хроматограм розчину порівняння;

m_0 – маса наважки стандартного зразка натрій гіалуронату, у міліграмах;

m_i – маса наважки препарату, у міліграмах;

P – вміст основної речовини у стандартному зразку натрій гіалуронату в перерахунку на суху речовину, у відсотках.

Вміст натрій гіалуронату в 1 г препарату має бути від 1,90 мг до 2,1 мг на момент випуску та в процесі зберігання [154].

Хроматограми випробуваного розчину гелю «Гіальдент» та розчину стандартного зразка натрій гіалуронату наведено на рис. 4.7 та 4.8.

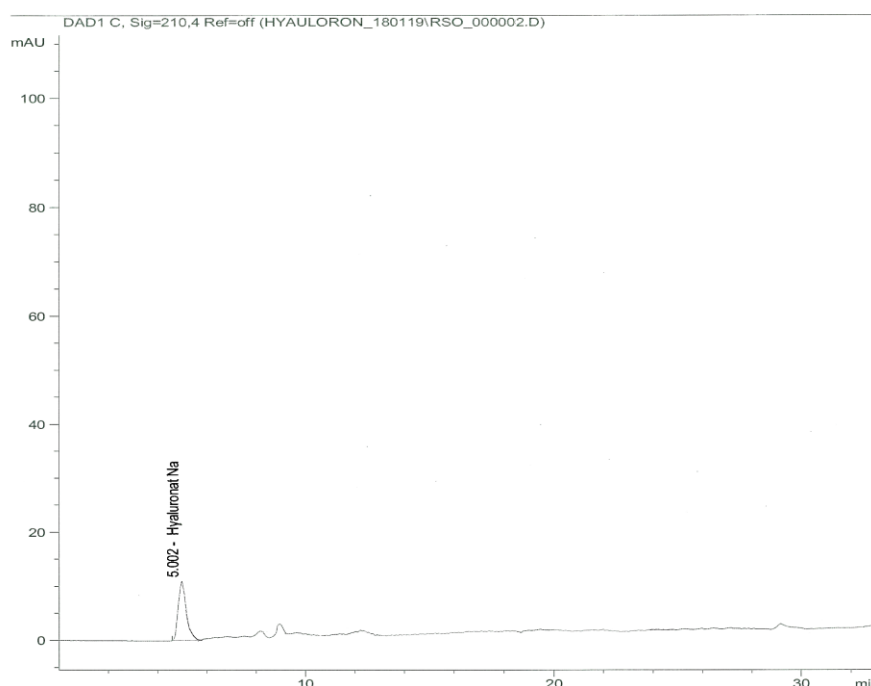


Рис. 4.7 Хроматограма розчину стандартного зразка натрій гіалуронату

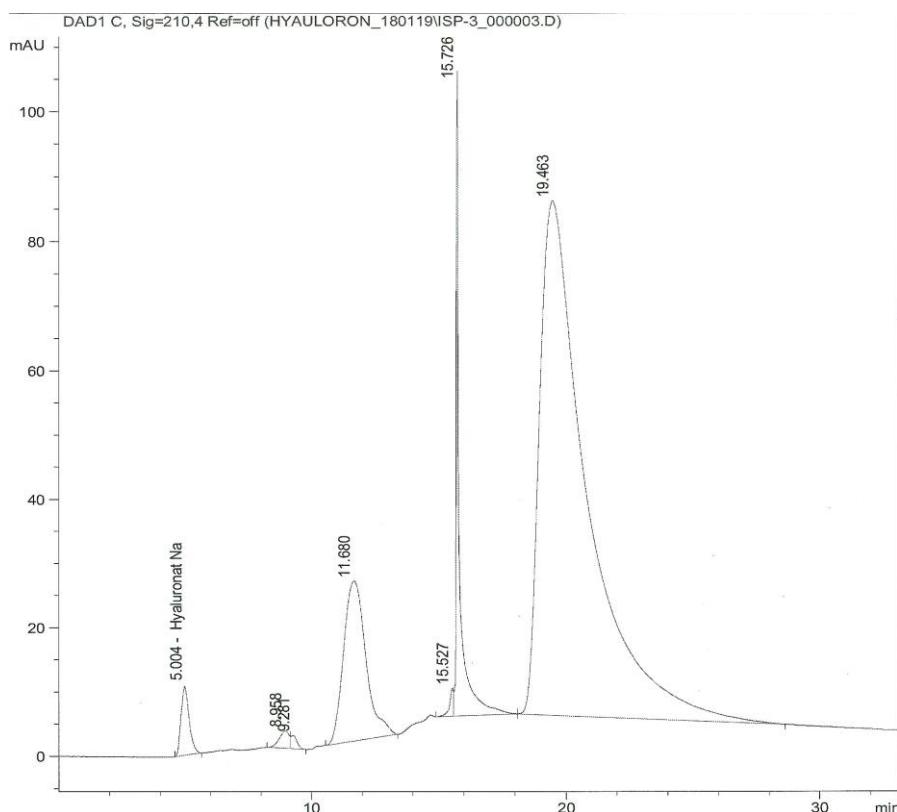


Рис. 4.8 Хроматограма випробовуваного розчину гелю для ідентифікації та кількісного визначення натрій гіалуронату

Дослідження валідаційних характеристик методики кількісного визначення натрій гіалуронату

Перевірка придатності хроматографічної системи має такі критерії прийнятності:

– відносне стандартне відхилення (RSD) площ піків натрій гіалуронату, отриманих з хроматограм розчину порівняння повинно задовольняти вимогам ДФУ, 2.2.46:

	Кількість паралельних інжекцій				
	2	3	4	5	6
RSD, %	0,25	0,67	0,96	1,19	1,38

– число теоретичних тарілок, розраховане з хроматограм розчину порівняння за піком натрій гіалуронату, має бути не менше 500;

– коефіцієнт симетрії піку натрій гіалуронату, розрахований з хроматограм розчину порівняння, повинен бути не більше 2,5.

Для площ піку натрій гіалуронату розраховують відносне стандартне відхилення (RSD). Також оцінюють ефективність хроматографічної колонки за піком натрій гіалуронату і коефіцієнт симетрії натрій гіалуронату.

Результати, наведені в табл. 4.11, підтверджують, що вимоги до придатності хроматографічної системи виконуються для мінімальної кількості паралельних інжекцій.

Таблиця 4.11

**Результати перевірки придатності хроматографічної системи
для кількісного аналізу натрій гіалуронату**

n _i	Площа піку (S _i)	RSD, %		Ефективність колонки, число теоретичних тарілок		Коефіцієнт симетрії	
		Розраховано	Вимоги	Розраховано	Вимоги	Розраховано	Вимоги
1	244,85	-	-	985	≥ 500	1,280	≤ 2,5
2	245,327	0,14	≤ 0,25	973		1,277	
3	244,127	0,25	≤ 0,67	980		1,293	
4	-	-	≤ 0,96	-		-	
5	-	-	≤ 1,19	-		-	
6	-	-	≤ 1,38	-		-	

Подальші валідаційні випробування стосувалися таких характеристик:

- контроль специфічності методики;
- контроль лінійності методики;
- контроль правильності методики;
- контроль збіжності методики;
- контроль внутрішньолабораторний прецизійності методики.

Критерії прийнятності контролю специфічності методики:

- на хроматограмах розчину плацебо не повинно бути піків з часом утримування в діапазонах для натрій гіалуронату;
- коефіцієнт спектральної чистоти піку натрій гіалуронату повинен бути не менше 995,0: $F_p \geq 995,0$

Зіставляють хроматограми розчину порівняння і хроматограми розчину плацебо. За хроматограмою розчину порівняння для піку натрій гіалуронату визначають часи утримування (t_{Ri}), ширину піків (W_i) і діапазони (табл. 4.12).

Таблиця 4.12

Виявлення специфічності методики кількісного визначення натрій гіалуронату

Хроматограма			1	2
Пік натрій гіалуронату	Розчин порівняння	t_{Ri}	5,004	4,969
		w_i	1,133	1,141
		$t_{Ri} \pm w_i$	3,871-6,137	3,828-6,110
	Розчин плацебо	Об'єднаний діапазон $t_{Ri} \pm w_i$		Об'єднаний діапазон $t_{Ri} \pm w_i$
		Наявність піків плацебо з часом утримання в об'єднаному діапазоні $t_{Ri} \pm w_i$	немає	немає

Специфічність методики кількісного визначення натрій гіалуронату підтверджується тим, що на хроматограмах розчину плацебо відсутні піки з часом утримування в діапазоні $t_{Ri} \pm w_i$ для аналіту, отже, компоненти плацебо не впливають на результати аналізу, отримані за допомогою досліджуваної методики. Коефіцієнти спектральної чистоти піку аналіту відповідають критерію прийнятності, і досліджувана методика володіє достатньою специфічністю.

Критерії прийнятності контролю лінійності методики

Для лінійної залежності наведеної площі хроматографічного піку від наведеної концентрації вмісту аналіту:

- вільний член лінійної залежності не повинен перевищувати свій довірчий інтервал: $|a| \leq 2,56\%$;
- коефіцієнт лінійної кореляції: $R_c \geq \min R_c$.

Результати визначення лінійності методики наведено в табл. 4.13.

**Результати визначення лінійності методики кількісного
визначення натрій гіалуронату**

Наважка субстанції натрій гіалуронату, мг				90,5 мг	
Вміст основної речовини в субстанції натрій гіалуронату, %				99,4 %	
Втрата в масі під час висушування субстанції натрій гіалуронату, %				12,40%	
№ модельного розчину	Вміст аналіту, %	S_i	$\bar{S}_i$	$X_i, \%$	$y_i, \%$
1	80	197,124; 196,517	196,821	80,0	80,3
2	85	208,692; 208,232	206,362	85,0	85,1
3	90	219,393; 219,875	219,634	90,0	89,6
4	95	232,308; 231,809	232,059	95,0	94,7
5	100	245,641; 246,215	245,928	100,0	100,3
6	105	255,647; 256,133	255,890	105,0	104,4
7	110	269,383; 268,605	268,994	110,0	109,8
8	115	284,866; 284,915	284,891	115,0	116,2
9	120	296,371; 296,852	296,612	120,0	121,0

Для аналіту будують графік залежності наведеної площі хроматографічного піку від наведеної концентрації S_i (c_i) (рис. 4.9). Візуально оцінюють лінійність отриманої залежності, оцінюють відповідність лінійного коефіцієнта кореляції R_c залежності y_i (x_i) критерію прийнятності.

Для лінійної залежності виду: $y_i = a + b \cdot x_i$ розраховують методом найменших квадратів параметри a і b .

Порівнюють абсолютну величину вільного члена лінійної залежності з розрахованим довірчим інтервалом Δa . Вільний член лінійної залежності

не повинен перевищувати свій довірчий інтервал. Результати визначень наведено в табл. 4.14.

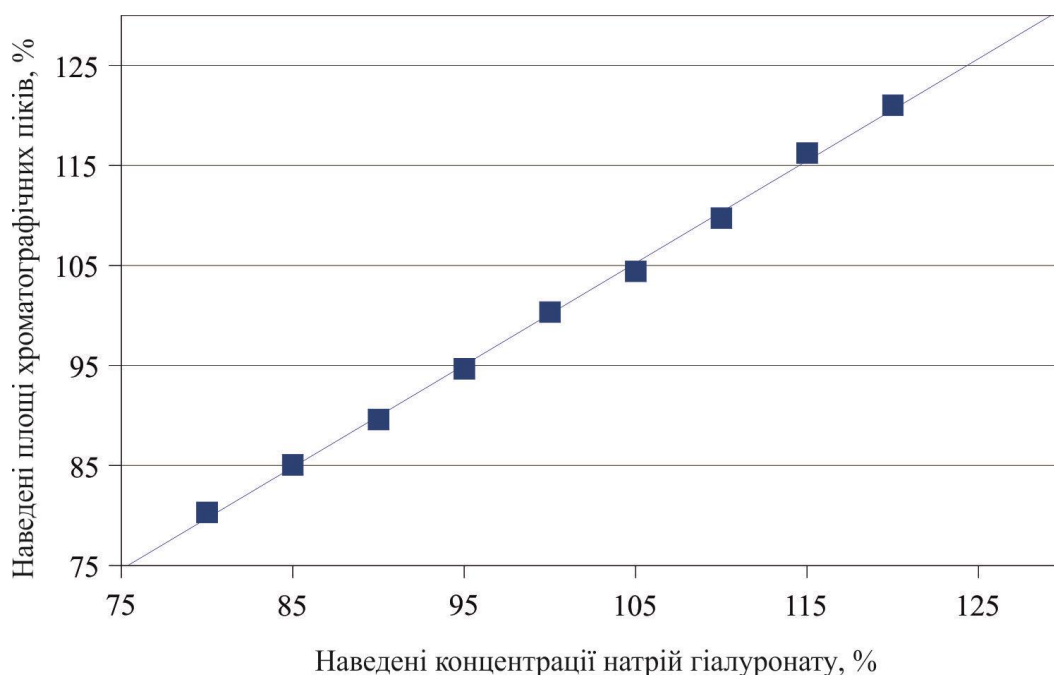


Рис. 4.9 Графік залежності площі хроматографічного піку від концентрації натрій гіалуронату

Таблиця 4.14

**Результати визначення коефіцієнтів лінійної залежності
та їх кореляції**

Натрій гіалуронат	
Вільний член лінійної залежності $ a $	1,9490
Кутовий коефіцієнт лінійної залежності b	1,0210
s_y^2	195,8920
s_0^2	0,3670
Δ_a	2,56
Виконання вимоги $ a \leq \Delta_a$	Вимога виконується
Загальний індекс кореляції R_c	0,9991
$\min R_c$	0,9981
Виконання вимоги $R_c \geq \min R_c$	Вимога виконується

Для лінійної залежності наведеної площі хроматографічного піку від наведеної концентрації натрій гіалуронату $|a| \leq \Delta_a$ ($01,9490 < 2,56$); $R_c \geq \min R_c$ ($0,9991 > 0,9982$). Отже, методика лінійна в діапазоні концентрації аналіту 80-120%.

Критерії прийнятності контролю правильності методики

Правильність методики характеризує величина систематичної похибки δ , тобто відхилення середнього значення відношення виявлено/введено від 100 %.

Систематична похибка повинна бути незначною проти максимально допускної невизначеності результатів аналізу $\max \Delta_{As}$: $\delta \leq 0,32 \cdot \max \Delta_{As}$, тобто: $\delta \leq 0,51$ %.

Результати визначення контролю правильності методики подано в табл. 4.15.

Таблиця 4.15

Визначення контролю правильності методики кількісного визначення натрій гіалуронату

№ модельного зразка	Вміст натрій гіалуронату, %	Співвідношення виявлено/введено, z_i , %	Середнє значення співвідношення виявлено/введено, z_i , %	Систематична похибка, δ , %
1	80	100,39	100,12	0,12
2	85	100,07	10,32	0,32
3	90	99,57	10,32	0,32
4	95	99,65	10,32	0,32
5	100	100,33	10,32	0,32
6	105	99,43	10,32	0,32
7	110	99,76	10,32	0,32
8	115	101,07	10,32	0,32
9	120	100,84	10,32	0,32

Як видно з даних таблиці, величина систематичної похибки задовольняє умові $\delta \leq 0,51\%$ ($\delta = 0,12 < 0,51$).

Критерій прийнятності контролю збіжності методики

Довірчий інтервал одиничного значення для вибірки відношення виявлено/введено повинен задовольняти умові: $\Delta z \leq 1,6 \%$.

Величина довірчого інтервалу Δz досліджуваної методики кількісного визначення задовольняє вимогам $\Delta z \leq 1,6 \%$ ($\Delta z = 1,075 < 1,6 \%$).

4.4 Розробка методики кількісного визначення супровідних домішок метронідазол бензоату в стоматологічному гелі

Випробування проводять методом ВЕРХ відповідно до вимог ДФУ п. 2.2.29 та п. 2.2.46.

Випробовуваний розчин. Близько 1000 мг препарату поміщають у мірну колбу місткістю 25,0 мл, додають 20 мл розчинника, витримують на ультразвуковій бані до розчинення наважки. Розчин охолоджують до кімнатної температури, доводять об'єм розчину до позначки тим самим розчинником та перемішують. Розчин центрифугують протягом 15 хв зі швидкістю 10000 об/хв. Надосадову рідину фільтрують крізь фторопластовий фільтр з розміром пор 0,45 мкм, відкидаючи перші 0,2 мл фільтрату.

Розчин використовують свіжоприготовленим.

Розчин порівняння. 1,0 мл випробовуваного розчину поміщають у мірну колбу місткістю 50,0 мл, доводять об'єм розчину розчинником до позначки та перемішують.

5,0 мл отриманого розчину поміщають у мірну колбу місткістю 50,0 мл, доводять об'єм розчину розчинником до позначки та перемішують.

Розчин плацебо. Близько 1000 мг препарату поміщають у мірну колбу місткістю 25,0 мл, додають 20 мл розчинника, витримують на ультразвуковій бані до розчинення наважки. Розчин охолоджують до кімнатної температури, доводять об'єм розчину до позначки тим самим розчинником та перемішують. Розчин центрифугують протягом 15 хв зі швидкістю 10 000 об/хв. Надосадову рідину фільтрують крізь фторопластовий фільтр з розміром пор 0,45 мкм, відкидаючи перші 0,2 мл фільтрату.

Розчини готують в умовах, захищених від дії світла.

Хроматографують розчин порівняння, отримуючи від 2 до 4 хроматограм.

Для площ піків метронідазол бензоату з отриманих хроматограм розраховують відносне стандартне відхилення (RSD). Отримання паралельних хроматограм (n_0) припиняють за досягнення вимог ДФУ п. 2.2.46 до RSD для $B \pm 15\%$.

Хроматографують розчин для перевірки придатності хроматографічної системи, розчин плацебо, розчин порівняння та випробовуваний розчин, отримуючи число паралельних хроматограм (n) для кожного з розчинів не менше, ніж під час перевіряння придатності хроматографічної системи (n_0).

Хроматографування проводять на рідинному хроматографі з діодно-матричним детектором за таких умов:

- хроматографічна колонка Symmetry C18, Waters розміром $250 \times 4,6$ мм з розміром частинок сорбенту 5 мкм, або аналогічна, для якої виконуються вимоги до придатності хроматографічної системи;

- швидкість рухомої фази – 1,0 мл/хв;
- температура термостата колонки – 30 °C;
- об'єм інжекції – 10 мкл;
- довжина хвилі детектування – 235 нм;
- рухома фаза А: буферний розчин рН 3,2;
- рухома фаза В: *ацетонітрил для хроматографії Р*.

Використовують програму режимів і градієнтів, яку наведено в табл. 4.16.

Порядок виходу піків на хроматограмі для перевірки придатності хроматографічної системи: 1 – домішка В ($RRT = 0,24$), 2 – домішка А ($RRT = 0,32$), 3 – домішка С (час утримування близько 17,7 хв). Хроматограми розчину порівняння, випробовуваного розчину та розчину плацебо наведено на рис. 4.10–4.12.

Програма хроматографування за тестом «Супровідні домішки»

Час (хв)	Рухома фаза А (%, об/об)	Рухома фаза В (%, об/об)	Примітки
0 – 7	85	15	Ізократичний режим
7 – 17	85 → 55	15 → 45	Лінійний градієнт
17 – 42	55	45	Ізократичний режим
42 – 43	55 → 85	45 → 15	Лінійний градієнт
43 – 48	85	15	Ізократичний режим

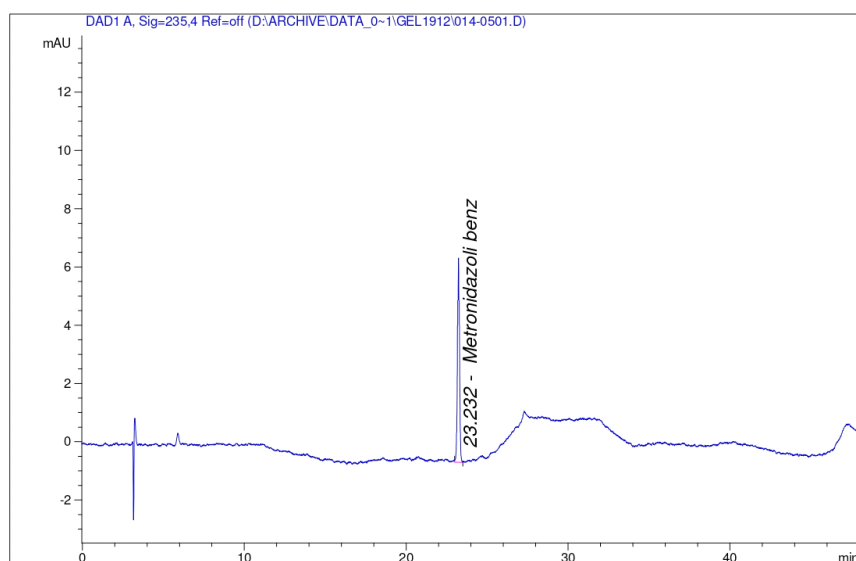


Рис. 4.10 Хроматограма розчину порівняння для визначення супровідних домішок метронідазол бензоату

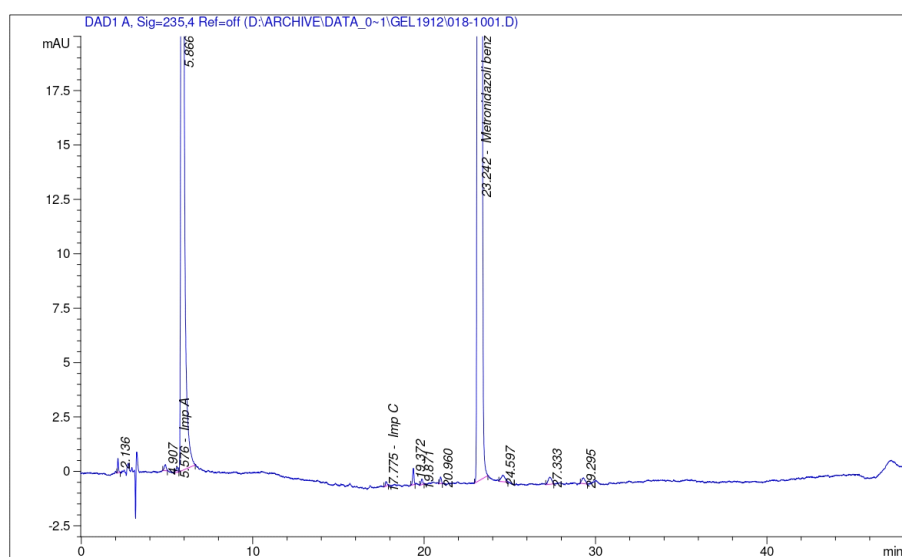


Рис. 4.11 Хроматограма випробовуваного розчину для визначення супровідних домішок метронідазол бензоату

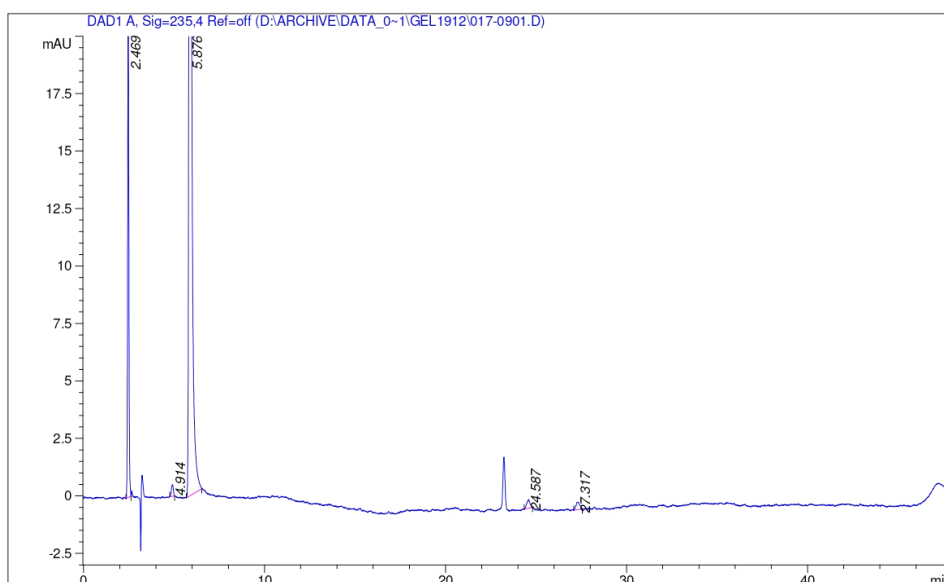


Рис. 4.12 Хроматограма розчину плацебо для визначення супровідних домішок метронідазол бензоату

На хроматограмах випробовуваного розчину середні площі піків домішок А та В не мають перевищувати п'ятиразової середньої площі піку метронідазол бензоату, розрахованої з хроматограм розчину порівняння (не більше 1,0 %).

На хроматограмах випробовуваного розчину середня площа піку домішки С не має перевищувати 2,5 середні площі піку метронідазол бензоату, розрахованої з хроматограм розчину порівняння (не більше 0,5 %).

На хроматограмах випробовуваного розчину середня площа будь-якої неідентифікованої домішки не має перевищувати середньої площі піку метронідазол бензоату, розрахованої з хроматограм розчину порівняння (не більше 0,2 %).

Не враховують піки, присутні на хроматограмі розчину плацебо, та піки з площею, меншою ніж 1/2 середньої площі піку метронідазол бензоату на хроматограмі розчину порівняння (0,1 %) [18].

4.5 Стандартизація та дослідження стабільності стоматологічного гелю «Гіальдент»

У процесі фармацевтичної розробки стоматологічного гелю нами було обґрунтовано склад та визначено концентрації діючих та допоміжних речовин, технологічні параметри виробництва. Під час стандартизації розробленого гелю як лікарської форми ми користувались двома загальними монографіями ДФУ: «Оромукозні лікарські засоби» та «М'які лікарські засоби для на шкірного застосування». ДФУ має пряме посилення, що м'які оромукозні лікарські засоби повинні витримувати вимоги, наведені в статті «М'які лікарські засоби для на шкірного застосування». Серед загальних вимог щодо якості м'яких лікарських засобів, контрольованих у процесі виробництва, є обов'язкові та необов'язкові випробування. [26, 65, 101].

До показників якості, внесених у специфікацію стоматологічного гелю, окрім опису, ідентифікації, кількісного визначення діючих речовин (метронідазол бензоату, мірамістину, натрій гіалуронату) та їх домішок, належать як обов'язкові й такі показники, як мікробіологічна чистота та герметичність контейнера. Ідентифікацію і кількісне визначення діючих речовин проводили методом високоефективної рідинної хроматографії, який одночасно дозволяє визначити їх якісний і кількісний вміст у складі лікарського засобу [72, 77].

За допомогою сучасних інструментальних методів, які відповідають вимогам ДФУ 2-го вид., нами визначено показники якості, що увійшли до проєкту МКЯ ЛЗ гель «Гіальдент».

Також до розробленого проєкту МКЯ внесено вимоги до пакування лікарського засобу: гель «Гіальдент» фасують по 15 г у туби ламінатні з нагвинчуваним бушоном за ТУ У 28.7-25463020-002-2003.

Нижче наведено специфікацію (табл. 4.17) на розроблений гель з проєкту МКЯ.

Таблиця 4.17

Специфікація комбінованого стоматологічного гелю «Гіальдент»

№	Найменування показників	Вимоги МКЯ	Методи контролю
1	2	3	4
1	Опис	М'який напівпрозорий гель білого або майже білого кольору	За п. 1 ДФУ 1.3, с. 126 Візуально
2.	Ідентифікація мірамістин	На хроматограмах досліджуваного розчину, отриманого за методикою розділу «Кількісне визначення мірамістину», час утримування піку мірамістину має збігатися з часом утримування відповідного піку на хроматограмі розчину порівняння.	За п. 2 За п. 2.1 ДФУ, 2.2.29, 2.2.46 Метод рідинної хроматографії
	метронідазолу бензоат	На хроматограмах досліджуваного розчину, отриманого за методикою розділу «Кількісне визначення метронідазол бензоату», час утримування піку метронідазол бензоату має збігатися з часом утримування відповідного піку на хроматограмі розчину порівняння.	За п. 2 За п. 2.2 ДФУ, 2.2.29, 2.2.46 Метод рідинної хроматографії
	натрій гіалуронат	На хроматограмах досліджуваного розчину, отриманого за методикою розділу «Кількісне визначення натрій гіалуронату», час утримування піку натрій гіалуронату має збігатися з часом утримування відповідного піку на хроматограмі розчину порівняння	За п. 2 За п. 2.3 ДФУ, 2.2.29, 2.2.46 Метод рідинної хроматографії
3	pH	5,0-7,0	За п. 3 ДФУ, 2.2.3 потенціометрично
4	Маса вмісту одиниці пакування	Не менше 15,0 г	За п. 4
5	Герметичність пакування	Пакування має бути герметичним	За п. 5 ДФУ 1.3, с. 130, Додаток 1
6	Супутні домішки:		
	домішки метронідазолу: домішка В (2-метил-5-нітроімідазол)	не більше 1,0 %	По п. 6 По п. 6.1 ДФУ, 2.2.29, 2.2.46 Метод рідинної хроматографії
	домішка А (метронідазол)	не більше 1,0 %	

Продовження табл. 4.17

1	2	3	4
	домішка С (бензойна кислота)	не більше 0,5 %	По п. 6.2 ГФУ, 2.2.25 Метод абсорбційної спектрофотометрії у видній області
	неідентиф.домішки	не більше 0,2 %	
	нітрити на момент випуску у процесі зберігання	не більше 50 ppm не більше 50 ppm	
7	Мікробіологічна чистота	Загальна кількість аеробних мікроорганізмів (ТАМС) – критерії прийнятності: 10^2 КУО/г Загальне число дріжджових і цвілевих грибів (ТУМС) – критерії прийнятності: 10^1 КУО/г <i>Staphylococcus aureus</i> — відсутність у 1 г <i>Pseudomonas aeruginosa</i> — відсутність у 1 г	За п. 7 ДФУ 1.4, 2.6.12, 2.6.13
8	Кількісне визначення: метронідазол бензоату: на момент випуску у процесі зберігання мірамістин: на момент випуску у процесі зберігання натрій гіалуронат: на момент випуску у процесі зберігання	Вміст в 1 г препарату Від 15,2 до 16,8 мг Від 15,2 до 16,8 мг Від 4,75 до 5,25 мг Від 4,75 до 5,25 мг Від 1,90 до 2,10 мг Від 1,90 до 2,10 мг	За п. 8 За п. 8.1 ДФУ, 2.2.29, 2.2.46 Метод рідинної хроматографії За п. 8.2 ДФУ, 2.2.29, 2.2.46 Метод рідинної хроматографії За п. 8.3 ДФУ, 2.2.29, 2.2.46 Метод рідинної хроматографії

Нами експериментально визначено термін придатності зразків гелю «Гіальдент» у процесі зберігання у тубах ламінатних з нагвинчуванням бушоном за ТУ У 28.7-25463020-002-2003 шляхом перевірки показників якості за розробленою специфікацією.

Кожну серію гелю «Гіальдент» досліджували відразу після приготування та що три місяці протягом першого року зберігання та кожні пів року протягом наступних років зберігання за характеристиками, наведеними

в проєкті МКЯ на гель. Стабільність зразків гелю вивчали на трьох серіях за його зберігання за температури $(25 \pm 2) ^\circ\text{C}$ [66]. Результати досліджень подано в табл. 4.18 та 4.19.

Для вивчення структурно-механічних, зокрема і тиксотропних, властивостей зразка було побудовано графіки залежності структурної в'язкості від швидкості зсуву (рис. 4.13) та повні реограми залежності напруги зсуву від швидкості зсуву за температури $25 ^\circ\text{C}$ (рис. 4.14). Вивчення реологічних характеристик проводили на віскозиметрі Брукфільда DV-II + Pro з використанням дискових шпінделів.

Як свідчить наведена реограма, отримана залежність є нелінійна. Це доводить, що дослідний зразок становить собою неньютонівську рідину з пластичним типом течії. Плинність зразка починається після прикладання невеликої напруги, що пов'язано з необхідністю розриву елементів структури.

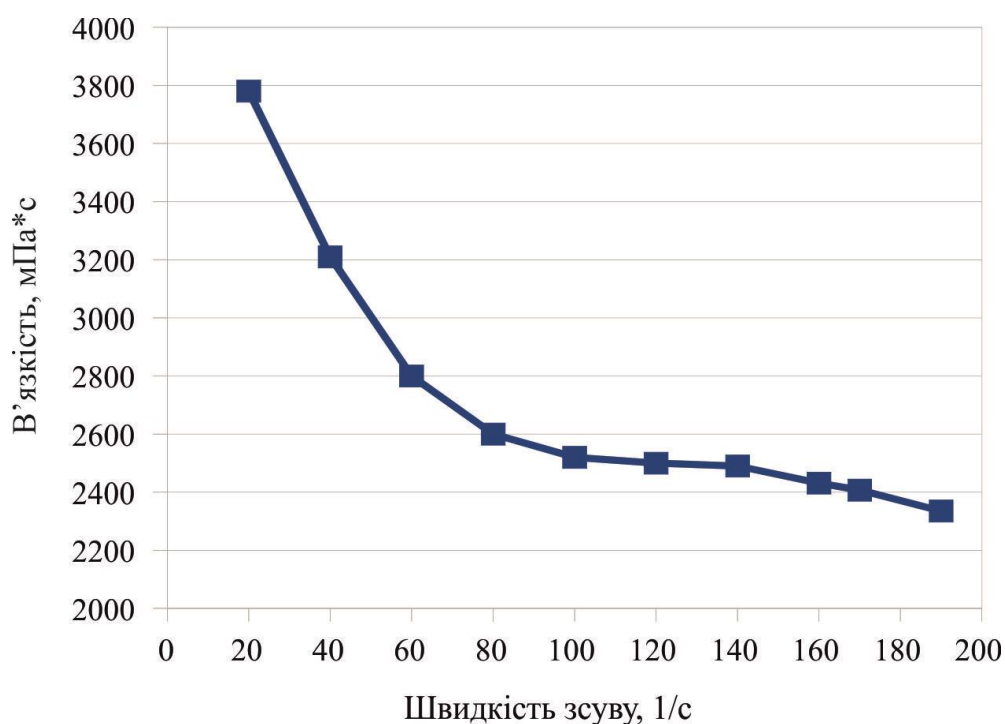


Рис. 4.13 Залежність структурної в'язкості від швидкості зсуву гелю після зберігання протягом 6 місяців

Таблиця 4.18

**Результати вивчення стабільності гелю «Гіальдент» за довгострокового зберігання препарату
за температури $(25 \pm 2) ^\circ\text{C}$ та відносної вологості повітря $(60 \pm 5) \%$**

Серія	Дата аналізу	Термін зберігання, міс.	Опис	pH	Супровідні домішки					Мікробіологічна чистота, КУО/г		Кількісне визначення, в 1 г (у процесі зберігання)			Відповідність критеріям НД
					Домішки метронідазолу: домішка В (2-метил-5-нітро-імідазол)	Домішка А (метронідазол)	Домішка С (бензойна кислота)	Неідентиф. домішки	Нітрити	Аеробні мікро-організми (ТАМС)	Гриби дріжджові та плісеньові (ТУМС)	Метронідазол бензоат	Мірамістин	Натрій гіалуронат	
Критерії НД		24	М'який напівпрозорий гель білого або майже білого кольору	Від 5,0 до 7,0	Не більше 1,0 %	Не більше 1,0 %	Не більше 0,5 %	Не більше 0,2 %	Не більше 50 ppm	Не більше 1000	Не більше 100	Від 15,2 до 16,8 мг	Від 4,75 До 5,25 мг	Від 1,90 до 2,10 мг	Термін придатності 2 роки
0010618	05.06.18	0	М'який напівпрозорий гель білого кольору	6,04	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	< 100	< 10	15,90	5,00	2,02	Відповідає
	04.09.18	3	М'який напівпрозорий гель білого кольору	6,03	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	-	-	15,88	4,99	2,02	Відповідає
	05.12.18	6	М'який напівпрозорий гель білого кольору	6,03	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	-	-	15,85	5,00	2,00	Відповідає
	06.03.19	9	М'який напівпрозорий гель білого кольору	6,02	Не виявлено	0,10	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	-	-	15,84	5,01	2,00	Відповідає
	04.06.19	12	М'який напівпрозорий гель білого кольору	6,02	0,13	0,25	0,15	Не виявлено	Не виявлено	-	-	15,82	5,00	1,99	Відповідає
	05.12.19	18	М'який напівпрозорий гель білого кольору	6,02	0,19	0,31	0,18	Не виявлено	Не виявлено	-	-	15,81	4,99	1,99	Відповідає
	04.06.20	24	М'який напівпрозорий гель білого кольору	6,01	0,33	0,44	0,21	Не виявлено	Не виявлено	< 100	< 10	15,78	4,99	1,99	Відповідає

Таблиця 4.19

**Результати дослідження гелю «Гіальдент» після відкривання туби за температури (25 ± 2) С
та відносної вологості повітря (60 ± 5) %**

Серія	Дата аналізу	Термін зберігання, дні	Опис	рН	Супровідні домішки					Мікробіологічна чистота, КУО/г		Кількісне визначення, в 1 г (у процесі зберігання)			Відповідність критеріям НД
					Домішки метронідазолу: домішка В (2-метил-5-нітро-імідазол)	Домішка А (метронідазол)	Домішка С (бензойна кислота)	Неідентиф. домішки	Нітрити	Аеробні мікро-організми (ТАМС)	Гриби дріжджові та плісеньові (ТУМС)	Метронідазол бензоат	Мірамістин	Натрій гіалу-ронат	
Критерії НД		61	М'який напівпрозорий гель білого або майже білого кольору	Від 5,0 до 7,0	Не більше 1,0 %	Не більше 1,0 %	Не більше 0,5 %	Не більше 0,2 %	Не більше 50 ppm	Не більше 1000	Не більше 100	Від 15,2 до 16,8 мг	Від 4,75 до 5,25 мг	Від 1,90 до 2,10 мг	Термін придатності 2 роки
0010616	05.06.18	0	М'який напівпрозорий гель білого кольору	6,04	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	< 100	< 10	15,90	5,00	2,02	Відповідає
	13.06.18	7	М'який напівпрозорий гель білого кольору	6,01	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	Не виявлено	-	-	15,82	5,02	2,00	Відповідає
	20.06.18	14	М'який напівпрозорий гель майже білого кольору	6,03	0,05	0,1	Не виявлено	Не виявлено	Менше 50 ppm	-	-	15,79	5,00	2,01	Відповідає
	27.06.18	21	М'який напівпрозорий гель майже білого кольору	6,04	0,12	0,16	0,13	Не виявлено	Менше 50 ppm	-	-	15,73	5,01	2,00	Відповідає
	04.07.18	28	М'який напівпрозорий гель майже білого кольору	6,01	0,15	0,21	0,16	Не виявлено	Менше 50 ppm	-	-	15,71	5,00	1,99	Відповідає
	18.07.18	42	М'який напівпрозорий гель майже білого кольору	6,00	0,22	0,34	0,23	Не виявлено	Менше 50 ppm	-	-	15,67	4,99	1,98	Відповідає
	01.08.18	56	М'який напівпрозорий гель майже білого кольору	5,59	0,28	0,52	0,41	Не виявлено	Менше 50 ppm	< 100	< 10	15,61	5,00	1,99	Відповідає

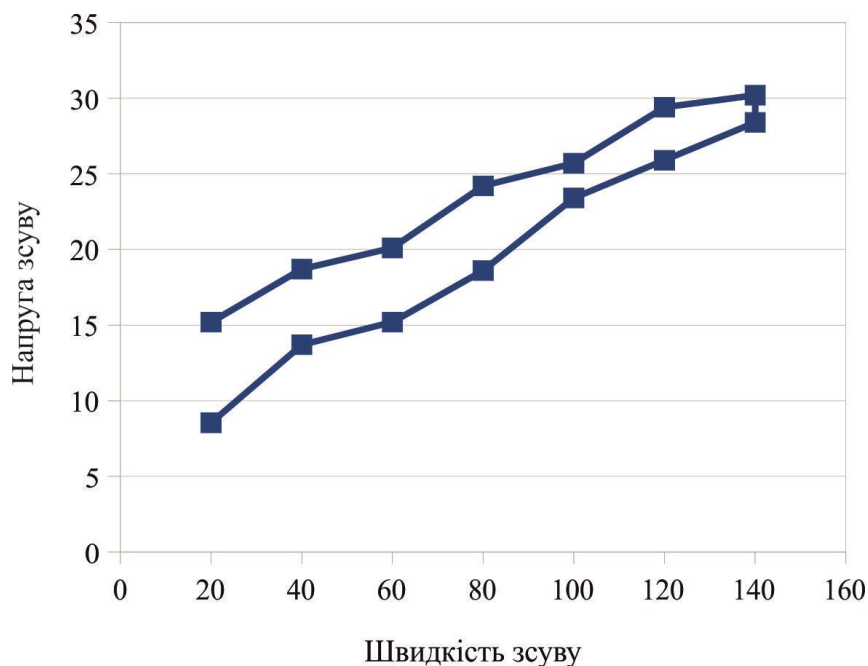


Рис. 4.14 Залежність напруги зсуву від швидкості зсуву гелю після зберігання протягом 6 місяців

Досліджений зразок характеризується достатньою тиксотропністю, про що свідчить наявність петель гістерезису на реограмах течії. Вплив високих напруг зсуву призводить до руйнування структури; у період падіння напруги зсуву настає її відтворення – з'являється низхідна крива плинності. Цей факт свідчить про наявність пластично-в'язких та тиксотропних властивостей дослідних зразків. Тиксотропність зумовлює добру намазуваність і забезпечує задовільні сенсорні характеристики, а також здатність видавлюватись із туб, крім того, у разі механічного впливу під час інтенсивного перемішування сприяє рівномірному розподілу діючих речовин в основі та легкості фасування [23, 39, 135]. Отримані дані дослідження дозволяють прогнозувати подальшу фізико-хімічну стабільність розробленого гелю, а також оптимальні структурно-механічні характеристики обраного складу розробленого гелю.

Висновки до розділу 4

1. Запропоновано для проведення якісного і кількісного аналізу гелю «Гіальдент» метод високоефективної рідинної хроматографії, який дозволяє одночасно провести ідентифікацію та кількісне визначення метронідазол бензоату, мірамістину, натрій гіалуронату та супутніх домішок метронідазол бензоату у складі розробленого гелю.

2. Проведено валідацію розроблених методик кількісного визначення активних фармацевтичних інгредієнтів гелю «Гіальдент». Визначено основні валідаційні характеристики: специфічність, лінійність, прецизійність і правильність, які відповідають критеріям, наведеним у Державній фармакопеї України.

3. Обґрунтовано вибір показників якості, які було внесено в специфікацію розробленого стоматологічного гелю: опис, ідентифікація, кількісний вміст діючих речовин (метронідазол бензоату, мірамістину, натрій гіалуронату) та домішок, розмір частинок дисперсної фази, однорідність, мікробіологічна чистота, герметичність контейнера, маса вмісту пакування. Розроблено проєкт МКЯ на комбінований стоматологічний гель «Гіальдент» та проведено його апробацію в умовах лабораторії відділу контролю якості ТОВ «Фармацевтична компанія “Здоров’я”».

4. Експериментально доведеної стабільності гелю «Гіальдент» під час зберігання протягом 27 місяців в ламінатних тубах за температури (25 ± 2) °С. Рекомендований термін придатності становить 2 роки за температури не вище 25 °С. Виявлено, що після відкривання туби гель «Гіальдент» зберігає свої фізико-хімічні властивості протягом 45 діб (термін спостереження).

5. Досліджено структурно-механічні показники стоматологічного гелю «Гіальдент» після 2 років його зберігання та визначено, що він є структурованою системою зі стабільними реологічними показниками.

Результати експериментальних досліджень цього розділу наведено в таких публікаціях:

1. Orlenko D., Yakovenko V., Plastun V., Vyshnevskaya L. Development and validation of methods for quantitative determination of sodium hyaluronate in the composition of combined dental gel. EUREKA: Health Sciences. 2020. Vol. 5 (29). P. 72–81. *(Особистий внесок: планування і проведення дослідження, аналіз та узагальнення отриманих результатів, підготування статті).*

2. Орленко Д. С., Яковенко В. К. Кількісне визначення гіалуронової кислоти в складі комбінованого стоматологічного гелю : інформ лист. Київ : Укрмедпатентінформ МОЗ України, 2020. № 79-2020. 4 с.

3. Орленко Д. С., Яковенко В. К., Андрюкова Л. М. Стандартизація стоматологічного гелю з метронідазолом бензоатом та гіалуроновою кислотою. Сучасні досягнення фармацевтичної технології і біотехнології : збірник наукових праць. Випуск 6. Х. : Вид-во НФаУ. 2019. С. 373.

4. Орленко Д. С., Яковенко В. К. Обґрунтування показників специфікації комбінованого стоматологічного гелю. Сучасні аспекти створення екстемпоральних алопатичних, гомеопатичних та косметичних лікарських засобів: матеріали IV Міжнародної науково-практичної дистанційної конференції, Харків, 20 березня 2020 р., Харків : НФаУ. С. 101.

5. Орленко Д. С., Яковенко В. К. Обґрунтування методу кількісного визначення метронідазол бензоату у складі оромукозного гелю. Управління якістю в фармації: матеріали XIV науково-практичної конференції з міжнародною участю, Харків, 22 травня 2020 р., Харків : НФаУ. С. 110.

6. Орленко Д. С., Яковенко В. К., Пластун В. Ю. Кількісне визначення гіалуронової кислоти в складі комбінованого стоматологічного гелю. Сучасні напрямки удосконалення фармацевтичного забезпечення населення: від розробки до використання лікарських засобів природного і синтетичного походження: матеріали науково-практичної дистанційної конференції з міжнародною участю, 19-20 травня 2020 року, ІФНМУ, м. Івано-Франківськ. С. 136–137.

РОЗДІЛ 5

ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ БІОЛОГІЧНИХ ДОСЛІДЖЕНЬ КОМБІНОВАНОГО ОРОМУКОЗНОГО ГЕЛЮ

5.1 Вивчення антимікробної активності стоматологічного гелю

Під час створення лікарського засобу необхідно довести, що антимікробна активність ЛЗ, або за необхідності лікарського засобу з додаванням консерванта, забезпечує належний захист від небажаної дії мікробного забруднення внаслідок розмноження та зростання мікроорганізмів у процесі зберігання та використання. З огляду на те, що активні фармацевтичні інгредієнти розробленого гелю володіють потужними антимікробними властивостями, за основу критерію оцінки його ефективності використали метод, викладений у ДФУ, стаття 5.1.3. Досліджували зниження числа життєздатних клітин мікроорганізмів у препараті за визначений термін після його інокуляції. Критерії оцінювання залежать від необхідного ступеня захисту готових лікарських засобів [24, 63].

Під час проведення випробувань використовували живильні середовища, які готували з сухих живильних середовищ промислового виробництва згідно з рекомендаціями виробника та ДФУ [26].

Під час проведення випробувань використовували тест-мікроорганізми, зберігання яких було здійснено відповідно до «Порядку одержання, обліку, зберігання та утримання тест-штамів мікроорганізмів для проведення контролю якості лікарських засобів за мікробіологічними показниками». Перелік та призначення тест-мікроорганізмів наведено в табл. 5.1.

Для проведення випробувань готували робочі культури тест-мікроорганізмів відповідно до вимог ДФУ, п. 2.6.12.

Суспензії монокультур готували методом послідовних декількаразових розведень у буферному розчині з натрій хлоридом і пептоном рН 7,0 до концентрації не більше 100 КУО/мл.

**Тест-мікроорганізми, використані для перевірки
придатності методики**

Тест-мікроорганізм	Штам	Призначення
Staphylococcus aureus	ATCC 6538	Перевірка придатності методики випробування на загальне число аеробних мікроорганізмів. Приготування інокуляту
Pseudomonas aeruginosa	ATCC 9027	
Candida albicans	ATCC 10231	Перевірка придатності методики випробування на загальне число грибів. Приготування інокуляту
Aspergillus brasiliensis	ATCC 16404	

Кількісне визначення КУО тест-мікроорганізмів у суспензіях проводили методом висівання по 1 мл кожної окремо суспензії, яка містила не більше 100 КУО/мл, у чашки Петрі з соєво-казеїновим агаром (визначення КУО мікроорганізмів) та з Сабуро-декстрозним агаром (визначення КУО грибів).

Інкубували посіви згідно з вимогами ДФУ п. 2.6.12, підраховували число колоній у кожній чашці Петрі, визначали середнє арифметичне значення числа колоній. Для кожного з проведених випробувань отримане значення числа КУО тест-мікроорганізмів у суспензії є результатом контрольного дослідження.

За результатами перевірки придатності методики визначення загального числа життєздатних аеробних мікроорганізмів і дріжджових та плісневих грибів, дані, одержані після підрахунку кожного з тест-мікроорганізмів з випробовуваними зразками та без них, відрізняються не більше, ніж у 1,5 рази, спостерігається зростання добре розвинутих колоній тест-мікроорганізмів, що свідчить про придатність методики випробування на загальне число життєздатних аеробних мікроорганізмів і дріжджових та плісневих грибів у вибраних умовах випробування.

Методику визначення ефективності антимікробних консервантів наведено в розділі 2.

Випробування проводили для розроблених модельних зразків стоматологічного гелю для лікування інфекційно-запальних захворювань порожнини рота, склади яких наведено в табл. 3.1 розділу 3. Результати досліджень подано в табл. 5.2 та 5.3.

Таблиця 5.2

**Результати досліджень ефективності антимікробної дії складових
у розробленому гелі складу № 3**

Тест-мікроорганізм	Експозиція	Вимога ДФУ		Результат випробування	
		Число мікроорганізмів КУО/мл; (lg)	lg зменшення	Число мікроорганізмів КУО/мл; (lg)	lg зменшення
S. aureus ATCC 6538	Вихідне навантаження	10^5 - 10^6 (5-6)		$3,6 \times 10^5$; (5,55)	
	14 діб		3	Не виявлено	5,55
P. aeruginosa ATCC 9027	28 діб		НЗ*	Не виявлено	5,55
	Вихідне навантаження	10^5 - 10^6 (5-6)		$2,5 \times 10^5$; (5,39)	
C. albicans ATCC 10231	14 діб		3	Не виявлено	5,39
	28 діб		НЗ*	Не виявлено	5,39
A. brasiliensis ATCC 16404	Вихідне навантаження	10^5 - 10^6 (5-6)		$2,2 \times 10^5$; (5,34)	
	14 діб		1	Не виявлено	5,34
	28 діб		НЗ*	Не виявлено	5,34
	Вихідне навантаження	10^5 - 10^6 (5-6)		$1,7 \times 10^5$; (5,23)	
	14 діб		1	Не виявлено	5,23
	28 діб		НЗ*	Не виявлено	5,23

Примітка: *НЗ – не спостерігається збільшення числа мікроорганізмів проти кількості життєздатних мікроорганізмів у попередній контрольній точці.

**Результати досліджень ефективності антимікробної дії складових
у розробленому гелі складу № 4**

Тест- мікроорганізм	Експо- зиція	Вимога ДФУ		Результат випробування	
		Число мікро- організмів КУО/мл; (lg)	lg змен- шення	Число мікро- організмів КУО/мл; (lg)	lg змен- шення
S. aureus ATCC 6538	Вихідне наванта- ження	10^5 - 10^6 (5-6)		$2,8 \times 10^5$; (5,44)	
	14 діб		3	Не виявлено	5,44
P. aeruginosa ATCC 9027	28 діб Вихідне наванта- ження	10^5 - 10^6 (5-6)	НЗ*	Не виявлено $3,2 \times 10^5$; (5,50)	5,44
	14 діб		3	Не виявлено	5,50
C. albicans ATCC 10231	28 діб Вихідне наванта- ження	10^5 - 10^6 (5-6)	НЗ*	Не виявлено $1,9 \times 10^5$; (5,27)	5,50
	14 діб		1	Не виявлено	5,27
	28 діб		НЗ*	Не виявлено	5,27
A. brasiliensis ATCC 16404	Вихідне наванта- ження	10^5 - 10^6 (5-6)		$1,2 \times 10^5$; (5,07)	
	14 діб		1	Не виявлено	5,07
	28 діб		НЗ*	Не виявлено	5,07

Примітка: *НЗ – не спостерігається збільшення числа мікроорганізмів проти кількості життєздатних мікроорганізмів у попередній контрольній точці.

З даних, наведених у табл. 5.2 та 5.3, видно, що у висіваннях з випробовуваних модельних зразків гелю № 3 (метронідазол бензоату – 1,60 г; мірамістину – 0,50 г) та № 4 (метронідазол бензоату – 1,60 г; мірамістину – 0,50 г, натрій гіалуронат – 0,2 г) через зазначені інтервали часу життєздатних аеробних мікроорганізмів *S. aureus*, *P. aeruginosa* і дріжджових та

плісневих грибів *C. albicans*, *A. brasiliensis* не виявлено. Логарифм зменшення їх числа склав більше 5.

У модельному зразку гелю № 1 (метронідазол бензоату – 1,00 г; мірамістину – 0,50 г) на 14 та 28 добу після висівання на відповідні живильні середовища, а у зразку гелю № 2 (метронідазол бензоату – 1,20 г; мірамістину – 0,20 г) на 14 добу, спостерігалось значне збільшення колоній усіх мікроорганізмів проти їх кількості у попередній контрольній точці. Логарифм зменшення числа життєздатних аеробних мікроорганізмів і дріжджових та плісневих грибів був відсутній [75].

У результаті проведених досліджень виявлено, що тільки модельні склади гелю № 3 та № 4 витримали випробування ефективності антимікробної дії відповідно до вимог ДФУ, розділ 5.1.3, висунутих до оромукозних лікарських засобів, і не потребують додаткового введення консервантів для забезпечення мікробіологічної стабільності розробленого гелю.

5.2 Дослідження з вивчення специфічної активності розробленого стоматологічного гелю

5.2.1 Вивчення ефективності комбінованого гелю «Гіальдент» на моделі експериментального гінгівіту

Метою цього етапу дослідження стало вивчення ефективності гелю для ясен на моделі експериментального гінгівіту у щурів, в основі якого лежать порушення мікрофлори ротової порожнини та запалення слизової оболонки [83]. Досліди проведено на 18 щурах-самцях масою 220-280 г, віком 4-4,5 місяці, які було об'єднано в 3 групи по 6 тварин у кожній: 1 група – тварини інтактного контролю (ІК); 2 група – позитивний контроль (ПК), тварини, у яких моделювали експериментальний гінгівіт; 3 група – тварини, яким на тлі модельної патології проводили лікування гелем для ясен.

Модельну патологію відтворювали у 2 етапи. Спочатку моделювали дисбіоз ротової порожнини щурів, потім викликали локальне ураження

слизової оболонки присінку нижньої щелепи та ясен. Методику дослідження наведено в розділі 2.

Відповідно до отриманих даних, комбіноване застосування антибіотика та бджолиної отрути на 9 добу експерименту викликало запалення ротової порожнини щурів, виразність якого дорівнювала 3,3-3,7 балів (табл. 5.4). Спостерігали почервоніння слизової оболонки присінку та щік, набряк та збільшення в об'ємі ясенної борозенки. У деяких тварин виникала кровоточивість ясен. Запальний процес супроводжувався невиразним, але статистично значущим підвищенням кількості лейкоцитів у крові проти ІК (табл. 5.4). Виразність запального процесу в порожнині рота щурів з групи контрольної патології дещо знижувалася, але зберігалася до кінця експерименту на достатньо високому рівні.

Таблиця 5.4

Напівкількісна оцінка запального процесу слизової оболонки присінку нижньої щелепи та ясен у щурів, у балах *M* (*Min*; *Max*)

Доба спостереження	Інтактний контроль	Позитивний контроль (гінгівіт)	Гель «Гіальдент» + гінгівіт
9	0,00±0,00	3,3 (3÷4) p ₁ =0,0022	3,7 (3÷4) p ₁ =0,0022
14	0,00±0,00	2,17 (2÷3) p ₁ =0,0022	0,33 (0÷1) p ₂ =0,0022

Примітка: p₁ – відмінності, статистично значущі щодо групи ІК, за p < 0,05;

p₂ – відмінності, статистично значущі щодо групи ПК, за p < 0,05.

У разі застосування гелю «Гіальдент» виразність запального процесу в порожнині рота щурів суттєво знижувалася, про що свідчило зменшення клінічних ознак запалення, у деяких тварин зберігалася легка гіперемія слизової оболонки, кількість лейкоцитів зменшувалася до рівня інтактних тварин (табл. 5.5).

Таблиця 5.5

Вплив гелю для ясен на клінічні показники крові у щурів ($M \pm m$)

Показники	Доба лікування	Інтактний контроль	Позитивний контроль (гінгівіт)	Гель «Гіальдент» + гінгівіт
Лейкоцити, $10^9/\text{л}$	9	$7,17 \pm 0,38$	$8,71 \pm 0,28$ $p_1 = 0,0068$	$9,05 \pm 0,37$ $p_1 = 0,0044$
	14	$7,33 \pm 0,32$	$8,47 \pm 0,30$ $p_1 = 0,0063$	$7,97 \pm 0,36$ $p_2 = 0,0042$

Примітка: p_1 – відмінності, статистично значущі щодо групи ІК, за $p < 0,05$;
 p_2 – відмінності, статистично значущі щодо групи ПК, за $p < 0,05$.

Для інтегральної оцінки стану організму щурів на тлі патології та комплексної оцінки ефективності досліджуваного засобу доцільно було дослідити баланс проокисно/антиокисних процесів. Як основні показники, що характеризують стан системи «ПОЛ/АОЗ», було обрано вміст вторинних продуктів ПОЛ – продуктів, що реагують з тіобарбітуровою кислотою, та активність каталази – одного з основних ферментів антиоксидантного захисту.

Відповідно до отриманих даних, на тлі патології спостерігали значне порушення балансу системи ПОЛ/АОЗ: у сироватці крові щурів з модельованим гінгівітом статистично значуще підвищувався вміст ТБК-Р та знижувалась активність каталази (табл. 5.6).

Таблиця 5.6

Вплив гелю для ясен на біохімічні показники крові у щурів ($M \pm m$)

Показники	Інтактний контроль	Позитивний контроль (гінгівіт)	Гель для ясен + гінгівіт
ТБК-Р, мкмоль/л	$0,23 \pm 0,04$	$0,36 \pm 0,03$ $p_1 = 0,0497$	$0,24 \pm 0,03$ $p_2 = 0,0311$
Каталаза, ммоль/хв*г	$12,99 \pm 0,50$	$9,91 \pm 0,41$ $p_1 = 0,0003$	$11,34 \pm 0,18$ $p_1 = 0,0087$ $p_2 = 0,0197$

Примітка: p_1 – відмінності, статистично значущі щодо групи ІК, за $p < 0,05$;
 p_2 – відмінності, статистично значущі щодо групи ПК, за $p < 0,05$.

Як видно з результатів табл. 5.6, аплікації гелю для ясен не тільки усували зовнішні ознаки запалення, а й сприяли нормалізації про/анти-окисних процесів. Вміст ТБК-Р і активність каталази відновлювалися до рівня тварин інтактного контролю. Усі наведені зміни досліджуваних показників мали статистично значущий характер.

Отже, застосування антибіотику лінкоміцину в комбінації з розчином бджолої отрути призводило до значного ураження ротової порожнини, зокрема ясен та слизової оболонки присінку та щік, клінічні ознаки якого свідчили про розвиток експериментального гінгівіту, що супроводжувалось статистично значущим підвищенням вмісту лейкоцитів у крові та порушенням балансу в системі ПОЛ/АОЗ.

Лікування стоматологічним гелем «Гіальдент» покращувало стан ротової порожнини тварин, знижувало вміст лейкоцитів у крові та нормалізувало баланс у системі ПОЛ/АОЗ, що свідчить про виразну ефективність розробленого лікарського препарату для лікування захворювань ротової порожнини запального генезу.

5.2.2 Вивчення протизапальної дії гелю «Гіальдент»

Вивчення протизапальної дії комбінованого стоматологічного гелю «Гіальдент» проводили шляхом вивчення його антиексудативної активності на щурах і мишах на 2 моделях асептичного запалення. Методики наведено в розділі 2.

Перший етап дослідження протизапальних властивостей гелю «Гіальдент» було проведено на моделі гострого запалення, спричиненого введенням карагеніну [86]. Препаратом порівняння було обрано зареєстрований в Україні лікарський засіб гель «Метрогіл дента» (виробник «Юнік Фармасьютикал Лабораторіз», Індія)

Другу модель для оцінювання протизапальної активності відтворювали шляхом занурення задньої правої лапи мишей у гарячу воду [29].

Досліджувані зразки та препарат порівняння наносили на пошкоджену кінцівку за двома методиками:

- 1) з лікувальною метою після виникнення запалення;
- 2) з лікувально-профілактичною метою заздалегідь до створення запалення і після виникнення запалення.

Піддослідні тварин в обох експериментах було погруповано так: 1 група – контрольна патологія; 2 – тварини, яким наносили досліджуваний гель з лікувальною метою; 3 – тварини, яким наносили препарат порівняння – гель «Метрогіл дента» з лікувальною метою; 4 – тварини, яким наносили досліджуваний гель з лікувально-профілактичною метою; 5 – тварини, яким наносили гель «Метрогіл дента» з лікувально-профілактичною метою.

Характерною ознакою місцевого гострого запалення є набряк, який виникає внаслідок підвищення проникності судинної стінки капілярних судин та венул, що відбувається під впливом різних медіаторів запалення; також ацидоз зумовлює набрякання елементів сполучної тканини [70].

Результати досліджень протизапальної активності розробленого гелю та препарату порівняння на моделі карагенінового набряку у щурів наведено в табл. 5.7.

За результатами експерименту з'ясовано (табл. 5.7), що запальний процес у стопі задньої кінцівки щурів супроводжувався характерним збільшенням її об'єму, що зберігався у контрольній групі тварин протягом усього терміну експерименту. Аналіз отриманих даних свідчить про те, що гель «Гіальдент» має виражену антиексудативну дію, зменшує виразність гострого запального набряку стопи задньої кінцівки щурів на 19,6 % за лікувального та на 30,9 % за лікувально-профілактичного нанесення. За антиексудативною активністю досліджуваний гель дещо перевершує препарат порівняння – гель «Метрогіл дента» в обох схемах лікування. Результати дослідження протизапальної активності розробленого оромукозного гелю та препарату порівняння на моделі термічного запалення у мишей наведено в табл. 5.8.

Таблиця 5.7

**Протизапальна активність розробленого гелю та препарату
порівняння на моделі карагенінового набряку у щурів
(V, ум. од, $M \pm m$, n = 7)**

Група тварин	V, ум. од.	Активність %
Контрольна патологія	$33,70 \pm 0,78$	—
Тварини, яким наносили досліджуваний гель з лікувальною метою	$27,10 \pm 0,84^*$	19,6
Тварини, яким наносили гель «Метрогіл дента» з лікувальною метою	$28,30 \pm 0,81^*$	16,0
Тварини, яким наносили досліджуваний гель з лікувально-профілактичною метою	$23,50 \pm 0,94^*$	30,9
Тварини, яким наносили гель «Метрогіл дента» з лікувально-профілактичною метою	$26,30 \pm 0,47^*$	22,0

Примітка: * – статистично значущі відхилення щодо групи контрольної патології, $p < 0,05$ за U-критерієм Манна-Вітні; n – кількість тварин у групі.

Таблиця 5.8

**Протизапальна активність розробленого гелю та препарату
порівняння на моделі термічного запалення у мишей
(V, мг, $M \pm m$, n = 7)**

Група тварин	V, мг	Протизапальна активність %
Контрольна патологія	$68,60 \pm 4,00$	—
Тварини, яким наносили досліджуваний гель з лікувальною метою	$53,60 \pm 1,80^*$	21,9
Тварини, яким наносили гель «Метрогіл дента» з лікувальною метою	$56,42 \pm 2,10^*$	17,8
Тварини, яким наносили досліджуваний гель з лікувально-профілактичною метою	$48,60 \pm 4,00^*$	29,2
Тварини, яким наносили гель «Метрогіл дента» з лікувально-профілактичною метою	$50,00 \pm 3,10^*$	27,1

Примітка: * – статистично значущі відхилення щодо групи контрольної патології, $p < 0,05$ за U-критерієм Манна-Вітні; n – кількість тварин у групі.

Як видно із даних табл. 5.8, у процесі моделювання патології у тварин розвивалося гостре запалення, яке проявлялося гіперемією та набряком лапи. У мишей контрольної групи різниця в масі дослідної та контрольної лап становила 68,6 мг. Місцеве лікування лап з набряком розробленим гелем «Гіальдент» сприяло пригніченню запального процесу, що виражалося зменшенням набряку проти контролю. За нанесення гелю в лікувально-профілактичному режимі набряк лап був менший в 1,4 раза. Аналіз результатів середньої протизапальної активності за різних режимів лікування засвідчив, що за виразністю протизапальної дії розроблений оромукозний гель дещо перевищує препарат порівняння – гель «Метрогіл дента».

5.2.3 Вивчення ранозагоювальної дії стоматологічного гелю на моделі трафаретних ран у щурів

Сучасна терапія запальних захворювань пародонту спрямована на усунення патологічних процесів у зубоясенних кишнях та регенерацію втрачених тканин пародонту з відновленням їхніх функцій [69].

На базі ННТЦ МБД НФаУ проведено дослідження ранозагоювальної дії розробленого стоматологічного гелю «Гіальдент». Об'єктами досліджень були: гель комбінованого складу з натрій гіалуронатом «Гіальдент» та гель комбінованого ідентичного складу, але без натрій гіалуронату. Матеріали та методи досліджень наведено в розділі 2.

Ранозагоювальну активність нових об'єктів вивчали на моделі повношарової трафаретної рани. Після відтворення модельної рани тварин було рандомізовано в групи по 6 тварин у кожній: група № 1 – негативний контроль (НК); група № 2 – де використовували тест-зразок гелю з метронідазол бензоатом та мірамістином (ТЗ); група № 3 – де використовували тест-зразок гелю з метронідазол бензоатом, мірамістином та гіалуронатом (ТЗ + ГК); група № 4 – де використовували референтний зразок (РЗ).

Препарат порівняння (референтний зразок) зареєстровано в Україні як лікарський засіб з доведеною репаративною дією – мазь метилурацил з мірамістином (ФФ «Дарниця») [17].

Через 1 добу після відтворення трафаретних ран тварин рандомізували в групи за площею ранового дефекту в межах 119,33-123,50 мм². У всіх тварин дослідних груп спостерігали гіперемію та набряк.

У контрольній групі на 3 добу спостерігали виникнення інфекції (4 тварини з 6), але починаючи з 8 доби макроскопічні ознаки запалення поступово зменшувалися. У подальшому рани вкривалися товстими кірками коричневого кольору.

У тварин, яких лікували дослідними зразками, виразність клінічних ознак була меншою, ніж у контрольній групі, про що свідчило відділення ексудату з рани (1 з 6 тварин) на 2-3 добу. На 5 добу клінічні ознаки були менш виражені: зменшувалася гіперемія та набряк, ексудат вже не відділявся. Тварини були активними, мали кращий апетит. Уже на 9 день у тварин, яких лікували стоматологічним гелем «Гіальдент», спостерігали відходження корок, під якими була помітна грануляційна тканина. У групі тварин, яких лікували гелем «Гіальдент», 100 % епітелізація ран відбулася на 14 добу експерименту, у групі тварин, яких лікували гелем без ГК – на 19 добу, препаратом порівняння – на 17 добу, у групі НК – на 21 добу.

За аналізом планіметричних показників, результати яких наведено в табл. 5.9, з'ясовано, що на 7 добу лікування площа ран зменшилась у групі тварин, яким наносили стоматологічний гель без гіалуронату на 21 %, у групі, яку лікували гелем «Гіальдент» – на 44 %, у групі препарату порівняння – на 25 %, у групі НК – на 11 %. У тварин паралельно зі зменшенням площі ран швидкість їх загоєння зросла у 2-4 рази щодо тварин контрольної групи.

Варто зазначити, що активні репаративні процеси, що відбувалися під впливом досліджуваних препаратів, сприяли більш швидкому рубцюванню трафаретних ран, починаючи з 11-го дня лікування, проти тварин контрольної групи, де рубцювання почалося на 17-й день. У контрольній групі, тварин якої не лікували, повне рубцювання ран відбулося на 21-й день.

Таблиця 5.9

**Динаміка планіметричних показників у щурів з трафаретними ранами під час лікування тест-зразками
стоматологічних гелів і препаратом порівняння, n = 6, (M ± m)**

Доба експерименту	Показники	Контроль	Гель без ГК	Гель «Гіальдент»	Мазь з метилурацилом і мірамістином
1	2	3	4	5	6
Вживання, %	-	100	100	100	100
Вихідні дані	S _{вихід} , мм ²	123,5 ± 5,25	122,50 ± 4,38	119,33 ± 3,00	120,50 ± 6,83
4 доба	S _{заг} , мм ²	115,17 ± 4,9	110,33 ± 4,04 T***	98,67 ± 3,63 *	101,50 ± 6,65
	V _{заг} , мм ² /добу	0,07	0,10	0,17	0,16
7 доба	S _{заг} , мм ²	109,33 ± 5,17	97,33 ± 4,91***	66,67 ± 7,99 */**	90,67 ± 6,11 *
	V _{заг} , мм ² /добу	0,11	0,21	0,44	0,25
10 доба	S _{заг} , мм ²	97,33 ± 3,30	85,67 ± 7,64***	33,83 ± 5,38 */**	67,33 ± 8,02 *
	V _{заг} , мм ² /добу	0,21	0,30	0,72	0,44
11 доба	S _{заг} , мм ²	91,83 ± 3,27	72,17 ± 8,67 T*/***	15,83 ± 6,01 */**	50,17 ± 11,11 *
	V	0,26	0,41	0,87	0,58
	% тварин з рубцями	-	-	33,4 % (2 тварини)	-
12 доба	S _{заг} , мм ²	85,67 ± 3,09	55,83 ± 10,80*/***	8,83 ± 6,21 */T**	36,86 ± 11,67 *
	V	0,31	0,54	0,93	0,69
	% тварин з рубцями	-	-	66,7 % (4 тварини)	-
13 доба	S _{заг} , мм ²	81,67 ± 2,97	41,00 ± 11,54*/***	1,00 ± 1,00 */T**	21,33 ± 10,24 *
	V	0,34	0,67	0,99	0,82
	% тварин з рубцями	-	-	83,3 % (5 тварин)	33,4 % (2 тварини)
14 доба	S _{заг} , мм ²	76,83 ± 2,90	28,17 ± 9,61*/***	0,00 ± 0,00 *	11,83 ± 7,68 *
	V	0,38	0,77	1,0	0,90
	% тварин з рубцями	-	16,7 % (1 тварина)	100 % (6 тварин)	50 % (3 тварини)
15 доба	S _{заг} , мм ²	69,33 ± 2,63	17,50 ± 7,49 *	-	7,33 ± 5,31 *
	V	0,44	0,86	-	0,94
	% тварин з рубцями	-	33,4 % (2 тварини)	-	66,7 % (4 тварини)

Продовження табл. 5.9

1	2	3	4	5	6
16 доба	$S_{\text{заг}}, \text{мм}^2$	$53,00 \pm 6,78$	$9,00 \pm 4,72 *$	-	$2,67 \pm 2,67 *$
	V	0,57	0,93	-	0,98
	% тварин з рубцями	-	50 % (3 тварини)	-	83,3 % (5 тварин)
17 доба	$S_{\text{заг}}, \text{мм}^2$	$40,33 \pm 8,33$	$4,00 \pm 3,11 *$	-	$0,00 \pm 0,00 *$
	V	0,67	0,97	-	1,0
	% тварин з рубцями	16,7 % (1 тварина)	66,7 % (4 тварини)	-	100 % (6 тварин)
18 доба	$S_{\text{заг}}, \text{мм}^2$	$29,67 \pm 6,32$	$1,33 \pm 1,33 *$	-	-
	V	0,76	0,99	-	-
	% тварин з рубцями	16,7 % (1 тварина)	83,3 % (5 тварин)	-	-
19 доба	$S_{\text{заг}}, \text{мм}^2$	$14,00 \pm 4,59$	$0,00 \pm 0,00 *$	-	-
	V	0,89	1,0	-	-
	% тварин з рубцями	33,4 % (2 тварини)	100 % (6 тварин)	-	-
20 доба	$S_{\text{заг}}, \text{мм}^2$	$3,83 \pm 2,43$	-	-	-
	V	0,97	-	-	-
	% тварин з рубцями	50 % (3 тварини)	-	-	-
21 доба	$S_{\text{заг}}, \text{мм}^2$	$0,00 \pm 0,00$	-	-	-
	V	1,0	-	-	-
	% тварин з рубцями	100 % (6 тварини)	-	-	-

Примітки:

1. * – значення достовірне щодо групи контролю (критерій Манна-Вітні),
2. ** – значення достовірне щодо препарату порівняння метилурацилу з міраместином (критерій Манна-Вітні),
3. *** – значення достовірне щодо групи препарату з ГК(критерій Манна-Вітні),
4. S (мм^2) – площа трафаретних ран;
5. V – швидкість загоєння трафаретних ран, (ум. од.);
6. n – кількість тварин у кожній групі

Порівнюючи динаміку планіметричних показників між дослідними групами, зазначимо, що з 4 та 7 доби лікування скорочення площі ран під впливом гелю з гіалуронатом відбувалося краще, ніж у групах, які отримували гель без гіалуронату та препарат порівняння відповідно.

Отже, результати планіметричного дослідження засвідчили, що гель «Гіальдент» сприяв скороченню термінів загоєння трафаретних ран на 10 діб, гель, який містив лише антибактеріальні компоненти – на 2 доби, а препарат порівняння – на 4 доби проти термінів рубцювання в групі негативного контролю.

Отримані за результатами дослідження дані позитивної динаміки планіметричних показників на моделі трафаретних ран у щурів довели виражену ранозагоювальну дію обох тест-зразків гелю, що зумовлено зменшенням ризику інфікування та пригніченням поширення інфекції. За репаративною дією стоматологічний гель «Гіальдент» не поступається препарату порівняння – мазі з метилурацилом та мірамістином, а також переважає за ефективністю гель без гіалуронату.

Висновки до розділу 5

1. У результаті проведених досліджень було визначено, що склади гелю, які містять метронідазол бензоат і мірамістин у концентрації 16 мг/г та 5 мг/г відповідно, не потребують додаткового введення консервантів для забезпечення мікробіологічної стабільності розробленого гелю.

2. Під час вивчення специфічної активності розробленого гелю «Гіальдент» на моделі експериментального гінгівіту виявлено, що лікування покращувало стан ротової порожнини тварин, знижувало вміст лейкоцитів у крові та нормалізувало баланс у системі ПОЛ/АОЗ, що свідчить про виразну ефективність гелю у лікуванні захворювань ротової порожнини запального генезу. Аплікації гелю для ясен не тільки усували зовнішні ознаки запалення, а й сприяли нормалізації про/антиокисних процесів: як вміст

ТБК-Р, так і активність каталази відновлювалися до рівня тварин інтактного контролю.

3. Дослідження протизапальної дії гелю «Гіальдент» на моделі карагенінового набряку дозволили з'ясувати, що розроблений препарат виявляє виражену антиексудативну дію, зменшує виразність гострого запального набряку стопи задньої кінцівки щурів на 19,6 % за лікувального та на 30,9 % за лікувально-профілактичного нанесення, дещо перевершуючи за антиексудативною активністю препарат порівняння – гель «Метрогіл дента» в обох схемах лікування. На моделі термічного запалення експериментально доведено, що за виразністю протизапальної дії розроблений стоматологічний гель дещо переважає гель «Метрогіл дента».

4. Отримані дані позитивної динаміки планіметричних показників на моделі трафаретних ран у щурів продемонстрували виражену ранозагоювальну дію зразків розробленого гелю, що зумовлено зменшенням ризику інфікування та пригніченням поширення інфекції. За репаративною дією стоматологічний гель «Гіальдент» не поступається препарату порівняння – мазі з метилурацилом та мірамістином.

Результати експериментальних досліджень цього розділу наведено в таких публікаціях:

1. Орленко Д. С., Яковенко В. К., Гранкіна О. Ю. Дослідження антимікробної активності комбінованого гелю для лікування інфекційно-запальних захворювань порожнини рота. *Український біофармацевтичний журнал*. 2019. № 4 (61). С. 76–80. (Особистий внесок: виготовлення експериментальних зразків, оброблення одержаних даних, підготування статті).

2. Орленко Д. С., Литкін Д. В., Загайко А. Л., Яковенко В. К. Фармакологічне обґрунтування використання гіалуронової кислоти у складі комбінованих м'яких лікарських засобів у стоматології. *Клінічна фармація*. 2020. Том 24, № 2. С. 56–61. (Особистий внесок: планування експерименту, виготовлення експериментальних зразків, оброблення одержаних даних, підготування статті).

3. Орленко Д. С., Стрельников Л. С., Малоштан Л. Н., Яковенко В. К. Изучение антимикробной и противовоспалительной активности оромукозного геля комбинированного состава. *Вестник фармации*. 2020. № 3 (89). С. 70–76. (*Особистий внесок: планування експерименту, виготовлення експериментальних зразків, оброблення одержаних даних, підготування статті*).

4. Орленко Д. С., Литкін Д. В., Юдкевич Т. К., Яковенко В. К. Вивчення ранозагоювальної дії стоматологічних гелів комбінованого складу з гіалуроновою кислотою *Фармакоекономіка в Україні: стан та перспективи розвитку* : матеріали XII наук.-практ. INTERNET-конф., м. Харків, 22 травня 2020. С. 248.

ЗАГАЛЬНІ ВИСНОВКИ

1. Уперше на підставі комплексу фізико-хімічних, фармакотехнологічних, мікробіологічних та фармакологічних досліджень розроблено, науково обґрунтовано та експериментально доведено склад, технологію та методи контролю якості нового комбінованого лікарського засобу у вигляді гелю під умовною назвою «Гіальдент» для лікування інфекційно-запальних захворювань порожнини рота.

2. Досліджено та узагальнено дані літератури щодо етіології, патогенезу та фармакотерапії інфекційно-запальних захворювань порожнини рота. Визначено, що сучасна терапія запальних захворювань пародонту має бути спрямована на усунення патологічних процесів у зубоясенних кишках та регенерацію ушкоджених тканин пародонту з відновленням їхніх функцій. Доведено перспективність створення нових стоматологічних м'яких лікарських засобів комбінованого складу, які містять протимікробні діючі речовини та інші природні й синтетичні активні фармацевтичні інгредієнти з протизапальною та репаративною дією.

3. Теоретично обґрунтовано склад й експериментально за результатами мікробіологічних досліджень визначено оптимальну комбінацію та ефективні концентрації діючих речовин у складі стоматологічного гелю: метронідазол бензоату – 16 мг/г, мірамістину – 5 мг/г, натрій гіалуронату – 2 мг/г.

4. Досліджено фізико-хімічні властивості обраних активних фармацевтичних інгредієнтів з метою обґрунтування способу їх введення до складу лікарського засобу. Визначено структурно-механічні характеристики гелів комбінованого складу на основі карбомерів та високомолекулярних сполук напівсинтетичного та природного походження. Доведено, що за фізико-хімічними, технологічними та споживчими властивостями перевагу мають гелі на основі карбомерів.

5. Комплексними фізико-хімічними і фармакотехнологічними дослідженнями обґрунтовано склад та кількісний вміст допоміжних речовин.

Доведено, що гель на основі карбомеру марки Carbopol®Ultrez 10 є пластичною системою з помірними тиксотропними властивостями та задовільними споживчими характеристиками і раціональна концентрація гелеутворювача становить 1,1 %. Використання як нейтралізатора розчину натрій гідроксиду в концентрації 0,32 % забезпечує стабільне значення рН розробленого стоматологічного гелю. Хімічну стабільність діючих речовин забезпечує введення антиоксиданту динатрій едетату в концентрації 0,5 %. Додавання сахарину натрію як коригенту смаку в концентрації 0,1% покращує смакові характеристики розробленого гелю.

6. Розроблено та обґрунтовано технологію виробництва комбінованого стоматологічного гелю «Гіальдент». Визначено раціональний спосіб введення метронідазол бензоату в гелеву основу у вигляді суспензії в пропіленгліколі. Доведено необхідність та оптимальні параметри гомогенізації отриманої суспензії зі швидкістю 3000 об/хв протягом 10 хв, що забезпечує отримання мікронізованої дисперсної фази.

7. Здійснено аналіз та оцінювання ризиків для якості нового лікарського засобу, визначено критичні стадії та параметри технологічного процесу, а також критерії їх прийнятності. Проведено масштабування технології виробництва стоматологічного гелю «Гіальдент» та валідацію технологічного процесу. Розроблено проєкт технологічного регламенту виробництва лікарського засобу гель «Гіальдент», який було апробовано в умовах промислового виробництва на базі ТОВ «Фармацевтична компанія «Здоров'я»», м. Харків.

8. Визначено органолептичні, фізико-хімічні, фармакотехнологічні та мікробіологічні показники якості розробленого гелю, розроблено методики ідентифікації та кількісного визначення діючих речовин методом вискоефективної рідинної хроматографії. Розроблено та апробовано проєкт методик контролю якості на лікарський засіб гель «Гіальдент».

9. Доведено стабільність розробленого гелю в процесі зберігання протягом 27 місяців у ламінатній тубі за температури не вище 25 °С, а та-

кож стабільність гелю «Гіальдент» після відкриття туби впродовж 45 діб та зберігання за тих самих умов.

10. Досліджено специфічну активність розробленого гелю на моделі експериментального гінгівіту та визначено його ефективність у лікуванні захворювань ротової порожнини запального генезу. За результатами фармакологічних досліджень стоматологічний гель «Гіальдент» виявляє виражену антиексудативну, протизапальну й ранозагоювальну дію.

11. Фрагменти роботи впроваджено в навчальний процес низки закладів вищої освіти України медичного (фармацевтичного) профілю.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Аванесов А. М., Калантаров Г. К. Сравнительная оценка иммунологической эффективности препаратов мирамистин и хлоргексидин у пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом легкой степени тяжести. *Современные проблемы науки и образования*. 2013. № 4. URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=9516>. (дата обращения: 14.05.2018).
2. Алмакаева Л. Г., Науменок Л. Г., Бегунова Н. В. Оценка и управление рисками для качества препарата «Хондроитин сульфат натрия, раствор для инъекций 100 мг/мл» с помощью метода ХАССП. *Вестник фармации*. 2017. № 4 (78). С. 44–50.
3. Антонів Р. Р. Місцева терапія з використанням розчину мірамістину в комплексному лікуванні хворих на хронічний уретрит та уретропростатит. *Галицький лікарський вісник*. 2015. № 22. С. 135–137.
4. Артюшкевич А. С. Заболевания периодонта. Москва : Медицинская литература, 2006. 306 с.
5. Багаева В. В., Попова В. М., Пашкова Г. С. Изучение эффективности и безопасности применения антимикробных средств. *Исследования и практика в медицине*. 2015. № 2 (3). С. 35–42. URL: <https://doi.org/10.17709/2409-2231-2015-2-3-35-42> (дата обращения: 23.06.2018).
6. Баранова І. І. Теоретичне та експериментальне обґрунтування застосування сучасних гелеутворювачів природного та синтетичного походження у технології м'яких лікувально-косметичних засобів : дис. ... д-ра фармац. наук : 15.00.01. Харків, 2011. 304 с.
7. Белоклицкая Г. Ф., Колесова Н. А., Центило Т. Д. Оценка эффективности применения препарата «Генгигель» в комплексном лечении больных генерализованными заболеваниями тканей пародонта. *Современная стоматология*. 2011. № 5. С. 16–23.
8. Білоклицька Г. Ф., Центіло Т. Д., Колесова Н. А., Афанасенко К. Ю. Застосування препарату гіалуронової кислоти в комплексному лікуванні

хворих хронічним катаральним гінгівітом. *Современная стоматология*. 2013. № 5. С. 28–32.

9. Білоус С. Б., Калинюк Т. Г., Гудзь Н. І. Актуальні питання фармацевтичної розробки м'яких лікарських засобів для зовнішнього застосування. *Фармацевтический журнал*. 2010. № 2. С. 16–27.

10. Блатун Л. А. Местное медикаментозное лечение ран. *Хирургия*. 2011. № 4. С. 51–59.

11. Боровский Е. В., Данилевский Н. Ф. Атлас заболеваний слизистой оболочки полости рта. Москва : Медицина, 1981. 288с.

12. Валідація аналітичних методик і випробувань. *Державна Фармакопея України* / ДП «Науково-експертний фармакопейний центр». 1-е вид., 1 допов. Харків : РІРЕГ, 2004. С. 2–4.

13. Васильева Л. И., Желтухина Н. Ю., Новгородский С. В. Этиология, патогенез и современные методы лечения воспалительных заболеваний пародонта *Валеология*. 2012. № 3. С. 12–18.

14. Виноградова О. М. Використання сучасних антимікробних і протизапальних препаратів місцевої дії в лікуванні запальних захворювань пародонту. *Здобутки клінічної і експериментальної медицини*. 2013. № 2. С. 47–49.

15. Воловик Н. В. Розробка і стандартизація протизапальних препаратів у формі гелів : автореф. дис.... канд. фармацевт. наук : 15.00.03/ДП «ДНЦЛЗ». Харків, 2008. 20 с.

16. Волянський Ю. Л., Гриценко І. С., Широбоков В. П. Вивчення специфічної активності протимікробних лікарських засобів : метод. рек. Київ, 2004. 38 с.

17. Гладышев В. В., Кучина Г. К., Бурлака Б. С., Бирюк И. А. Исследование реологических свойств мягкой назальной лекарственной формы дилтиазема. *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики*. 2013. № 1 (11). С. 69–72.

18. Гризодуб А. И. Стандартизованные процедуры валидации методик контроля качества лекарственных средств. Харьков : ГП «Украинский

научный фармакопейный центр качества лекарственных средств», 2016. 396 с.

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

20. Грудянов А. И. Планирование лечебных мероприятий при заболеваниях пародонта. Москва :МИА, 2010. 56 с.

21. Грудянов А. И., Дмитриева Н. А., Овчинникова В. В. Зависимость антимикробной эффективности препарата «Метрогил Дента» от длительности локального введения при воспалительных поражениях пародонта. *Пародонтология*. 2001. № 1–2 (19–20). С. 32–36.

22. Давтян Л. Л. Науково–практичне обґрунтування технології м'яких лікарських форм для стоматології : дис. ... д-ра фармац. наук : 15.00.01. Київ, 2006. 304 с.

23. Давтян Л. Л., Ващук В. А., Полищук Ю. П. Реологічні дослідження як основа технологічного процесу у разі створення нового лікарського засобу. *Фармацевтичний журнал*. 2013. № 4. С. 52–58.

24. Державна фармакопея України / ДП «Науково–експертний фармакопейний центр». 1–е вид., доп. 1, 2. Харків : Рірег, 2001. 556 с., 2004. 520 с., 2008. 620 с.

25. Державна фармакопея України / ДП «Науково–експертний фармакопейний центр». 1–е вид., доп. 3, 4. Харків : Рірег, 2009, 2011. 280. 540 с.

26. Державна фармакопея України: в 3 т. / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2–е вид. Харків : Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2015. Т. 1. 1128 с.

27. Державна фармакопея України: в 3 т. / ДП «Науково–експертний фармакопейний центр». 2–е вид. Харків : Держ. п–во «Науково–експертний фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2014. Т. 2. 724 с.

28. Державний реєстр лікарських засобів України / МОЗ України. Київ, 2015. URL: <http://www.drlz.kiev.ua>. (дата обращения: 15.09.2019).
29. Доклінічні дослідження лікарських засобів : метод. рек. / за ред. чл.–кор. АМН України О. В. Стефанова. Київ : Авіцена, 2001. 528 с.
30. Допоміжні речовини в технології ліків : вплив на технологічні, споживчі, економічні характеристики і терапевтичну ефективність / І. М. Перцев та ін. ; за ред. І. М. Перцева. Харків : Золоті сторінки, 2010. 600 с.
31. Дунай О. В., Жемерова К. Г., Ляпунов М. О. Розробка підходу до випробування ефективності антимікробних консервантів у м'яких лікарських засобах. *Фармаком.* 2008. № 1. С. 38–43.
32. Заболотний Т. Д., Борисенко А. В., Пупін Т. І. Запальні захворювання пародонта. Львів : ГалДент, 2013. 206 с.
33. Зайченко Г. В., Горчакова Н. О., Стрига О. А. Аспекти фармакодинаміки та клінічної фармакології гіалуронової кислоти. *Вісник проблем біології і медицини.* 2017. Вип. 1 (135). С. 33–42.
34. Захворювання слизової оболонки порожнини рота: від теорії до практики / під ред. А. В. Борисенка // Довідник лікаря «Стоматолог». Київ : ТОВ «Бібліотека «Здоров'я України», 2013. 548 с.
35. Зорян Е. В. Современные направления фармакотерапии заболеваний слизистой оболочки полости рта. *Клиническая стоматология.* 2009. № 3. С. 22–25.
36. Камышников В. С. Справочник по клинико–биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике. 3–е изд. Москва : «МЕДпресс–информ», 2009. С. 312–322, 546, 549–550.
37. Кириченко И. М. Антисептический препарат «Мирамистин®» для профилактики и лечения инфекционно–воспалительных заболеваний. *Медицинский алфавит.* 2012. № 4 (24). С. 60–62.
38. Кожем'якін Ю. М., Хромов О. С., Філоненко М. А., Сайфетдинова Г. А. Науково практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними. Київ : Авіцена, 2002. 156 с.

39. Коритнюк Р. С., Загорій Г. В., Тарасенко В. О., Чинамере У. Технологічна та фізико-хімічна характеристика гелів. *Фармацевтичний журнал*. 2012. № 3. С. 38–42.

40. Криворутченко Ю., Постнікова О. Визначення чутливості мікроорганізмів до мірамістину сьогодні. *Інфекційні хвороби*. 2013. № 2. URL: <https://doi.org/10.11603/1681-2727.2011.2.584> (дата обращения: 09.06.2018).

41. Кузнецов А. В., Кузнецов А. А. Корригенты вкуса в производстве лекарственных препаратов. *Фармация*. 2011. № 2. С. 53–57.

42. Кузнецова Э. Э., Горохова В. Г., Андреева Т. В. Высокоэффективная жидкостная хроматография пролонгированного метронидазола метропола. *Химико-фармацевтический журнал*. 2000. № 8. С. 46–49.

43. Куля А. Ф., Сабо Ю., Коваль Г. М., Бойко Н. В. Порівняльний аналіз методів визначення антибіотикочутливості умовно-патогенних бактерій – збудників опортуністичних інфекцій людини. *Мікробіологічний журнал*. 2011. Т. 73, № 5. С. 47–53.

44. Кутц Г. Косметические кремы и эмульсии. Состав, методы получения и испытаний / пер. с нем. А. С. Филиппова. Москва : Косметика и медицина, 2004. 272 с.

45. Лапач С. Н., Чубенко А. В., Бабич П. Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel. Киев : Морион, 2000. 320 с.

46. Лікарські засоби. Належна лабораторна практика. Київ : Міністерство охорони здоров'я України, 2009. 27 с.

47. Лікарські засоби. Управління ризиками для якості (ICH Q9). Настанова СТ–Н МОЗУ 42–4.2:2011. Київ : МОЗ України, 2011. 28 с.

48. Лікарські засоби. Фармацевтична розробка (ICH Q8): СТ–Н МОЗУ 42–4.3:2011. Київ : МОЗ України, 2011. 30 с.

49. Лікарські засоби. Фармацевтична система якості (ICH Q10). Настанова СТ–Н МОЗУ 42–4.3:2011. Київ : МОЗ України, 2011. 30 с.

50. Лук'янчук В. Д., Гордійчук Д. О. Сучасний стан питання патогенезу пародонтиту та його фармакокорекції (огляд літератури). *Медицина сьогодні і завтра*. 2015. № 2 (67). С. 14–22.

51. Ляпунов Н. А. Безуглая Е. П. Современная методология фармацевтической разработки лекарственных препаратов. *Фармацевтическая отрасль*. 2013. № 1 (36). С. 79–86.

52. Ляпунов Н. А., Безуглая Е. П., Зинченко И. А. Мягкие лекарственные средства: фармацевтическая разработка и трансфер технологии. *Фармацевтическая отрасль*. 2014. № 5 (46). С. 22–31.

53. Ляпунов Н. А., Безуглая Е. П., Терно И. С., Котов А. Г. Фармакопейные методы вискозиметрии при фармацевтической разработке, производстве и контроле качества жидких и мягких лекарственных средств. *Фармаком*. 2002. № 3. С. 11–22.

54. Муса Вужар, Зирко Алла, Дёмин Михаил Полимеры Carborol™ в качестве функциональных гелеобразователей. *Фармацевтические технологии и упаковка*. 2017. № 2. С. 30–33.

55. Мазур И. П., Леоненко П. В., Ступницкая Е. Н. «Гивалекс» в профилактике и лечении стоматологических заболеваний. *Современная стоматология*. 2012. № 1. С. 42–48.

56. Мазур І. П., Передрій В. А., Дулько С. В. Фармакологічні засоби для місцевого лікування тканин пародонту. *Современная стоматология*. 2010. № 5. С. 47–52.

57. Малкин А. Я., Исаев А. И. Реология: концепции, методы, приложения. Санкт-Петербург : Профессия, 2007. 557 с.

58. Манащук Н. В. Вплив комбінованого лікування захворювань пародонта на показники гігієнічних та пародонтальних індексів у пацієнтів із хронічними колітами. *Буковинський медичний вісник*. 2012. Т. 16, № 1 (61). С. 49–51.

59. Мельничук Г. М., Рожко М. М. Гінгівіт, пародонтит, пародонтоз: особливості лікування. Івано–Франківськ, 2004. 124 с.

60. Меньшиков В. В., Делекторская Л. Н., Золотницкая Р. П. Лабораторные методы исследования в клинике: Справочник, М. Медицина. 1987. С. 122-124.

61. Митронин А., Вавилова Т. Применение препарата «Гиалудент» в лечении воспалительных заболеваний пародонта. *Пародонтология*. 2011. № 2. С. 34–36.

62. Михаэль Клар, Алешин Н. Гиалуроновая кислота – биологическая сила в стоматологии. *Стоматолог Инфо*. 2012. № 2. С. 20–24.

63. Наказ МОЗ України № 167 від 05.04 2007 «Про затвердження методичних вказівок щодо визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів». Київ, МОЗ України. 2007. 63 с.

64. Настанова 42–01–2016. Лікарські засоби. Належна виробнича практика. Київ : МОЗ України. 2016. 255 с.

65. Настанова 42–3.2:2004. Настанови з якості: Лікарські засоби. Специфікації: контрольні випробування та критерії прийнятності / Міністерство охорони здоров'я України. Офіц. вид. Київ : вид–во ТОВ «Моріон». 2004. 42 с.

66. Настанова 42–3.3:2004. Настанови з якості. Лікарські засоби: Випробування стабільності / Міністерство охорони здоров'я України. Офіц. вид. Київ : вид–во ТОВ «Моріон». 2004. 60 с.

67. Настанова 42–3.5–2016. Лікарські засоби. Валідація процесів. Київ : МОЗ України. 2016. 36 с.

68. Настанова СТ–Н МОЗУ 42–4.2:2011. Лікарські засоби. Управління ризиками для якості (ІСН Q9) / М. Ляпунов та ін. Київ : МОЗ України, 2011. 30 с.

69. Орленко Д. С., Литкін Д. В., Загайко А. Л., Яковенко В. К. Фармакологічне обґрунтування використання гіалуронової кислоти у складі комбінованих м'яких лікарських засобів у стоматології. *Клінічна фармація*. 2020. Т. 24, № 2. С. 56–61.

70. Орленко Д. С., Стрельников Л. С., Малоштан Л. Н., Яковенко В. К. Изучение антимикробной и противовоспалительной активности оромукоз-

ного геля комбінованого складу. *Вестник фармации*. 2020. № 3 (89). С. 70–76.

71. Орленко Д. С., Яковенко В. К. Валідація технологічного процесу виробництва комбінованого стоматологічного гелю. *Сучасні аспекти створення екстемпоральних алопатичних, гомеопатичних і косметичних лікарських засобів* : матеріали наук.–практ. інтернет–конф., м. Харків, 1 берез. 2019 р. Харків : НФаУ, 2019. С. 160.

72. Орленко Д. С., Яковенко В. К. Встановлення критичних показників якості при фармацевтичній розробці стоматологічного гелю *Управління якістю в фармації* : матеріали XIII наук.–практ. конф., м. Харків, 17 трав. 2019 р. Харків : НФаУ, 2019. С. 114.

73. Орленко Д. С., Яковенко В. К. Определение способа введения в основу активных фармацевтических ингредиентов стоматологического геля. *Актуальные проблемы современной медицины и фармации* : сб. тез. докл. LXXIII Междунар. науч.–практ. конф. студентов и молодых ученых. Минск : БГМУ, 2019. С. 1545.

74. Орленко Д. С., Яковенко В. К., Андрюкова Л. М., Доровський О. В. Дослідження з вибору допоміжних речовин у складі комбінованого стоматологічного гелю. *Сучасні досягнення фармацевтичної технології і біотехнології* : зб. наук. пр. Вип. 5. Харків : Вид–во НФаУ, 2018. С. 272–275.

75. Орленко Д. С., Яковенко В. К., Гранкіна О. Ю. Дослідження антимікробної активності комбінованого гелю для лікування інфекційно–запальних захворювань порожнини рота. *Український біофармацевтичний журнал*. 2019. № 4 (61). С. 76–80.

76. Орленко Д. С., Яковенко В. К. Обґрунтування методу кількісного визначення метронідазолу бензоату у складі оромукозного гелю. *Управління якістю в фармації* : матеріали XIV наук.–практ. конф. з міжнар. участю, Харків, 22 трав. 2020 р. Харків : НФаУ, 2020. С. 110.

77. Орленко Д. С., Яковенко В. К. Обґрунтування показників специфікації комбінованого стоматологічного гелю. *Сучасні аспекти створення*

екстемпоральних алопатичних, гомеопатичних та косметичних лікарських засобів : матеріали IV Міжнар. наук.–практ. дистанційної конф., Харків, 20 берез. 2020 р. Харків : НФаУ, 2020. С. 101.

78. Основные методы статистической обработки результатов фармакологических экспериментов // Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ. Москва : Ремедиум, 2005. С. 763–827.

79. Павлова Н. В. Мікробіологічне обґрунтування поєднаного застосування мірамістину й антибіотиків при стафілококовій рановій інфекції : автореф. дис. ... на здобуття наук. ступ. канд. мед. наук 03.00.07 – Мікробіологія. Харків, 2000. 22 с.

80. Пустынников А. В., Ушаков Р. В., Ушаков Т. В. Современные возможности препаратов гиалуроновой кислоты в пародонтологической имплантологии (Обзор литературы). *Стоматология*. 2011. № (3). С. 53–58.

81. Рабинович О. Ф., Рабинович И. М. Рецидивирующий афтозный стоматит: классификация, клинические формы и лечение. *Стоматология*. 2010. Т. 78, № 3. С. 76–79.

82. Реброва О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета программ Statistica. Москва : МедиаСфера, 2006. 312 с.

83. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч. I / под ред. А. Н. Миронова. Москва : Гриф и К. 2012. 944 с.

84. Савоськин О. В., Семенова Е. Ф., Рашевская Е. Ю. Характеристика различных методов получения гиалуроновой кислоты. *Научное обозрение. Биол. науки*. 2017. № 2. С. 125–135.

85. Семкина О. А. Мази, гели, линименты и кремы, содержащие фитопрепараты (обзор). *Химико–фармацевтический журнал*. 2005. Т. 39, № 7. С. 30–36.

86. Сернов Л. Н., Гацура В. В. Элементы экспериментальной фармакологии. Москва, 2000. 133 с.

87. Симоненко Р. В. Клініко–експериментальне обґрунтування використання антисептиків у лікуванні періодонтитів : дис. ... канд. мед. наук: спец. 14.01. 22 «Стоматологія». Київ, 2003. 178 с.

88. Соколовський В. В. Гистохимическое исследование в токсикологии. Изд-во Медицина, 1971. 176 с.

89. Стальная И. Д., Гаришвили Т. Г. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты. Современные методы в биохимии. 1977. С. 66–68.

90. Стефанів І. В., Яковлева Л. В., Гращенко С. А., Лар'яновська Ю. Б. Вплив стоматологічної настойки «Касдент» на стан слизової оболонки у щурів на моделі гінгівіту. *Клінічна фармація, фармакотерапія та медична стандартизація*. 2015. № 3–4. С. 40–45.

91. Тарасенко С. В., Кулага О. И. Препараты на основе гиалуроновой кислоты для лечения пациентов с хроническим генерализованным пародонтитом. *Российский стоматологический журнал*. 2016. № 20 (6). Р. 340–343.

92. Терапевтическая стоматология: национальное руководство / А. В. Алимский и др. ; под ред. Л. А. Дмитриевой, Ю. М. Максимовского. Москва : ГЭОТАР–Медиа, 2009. 908 с.

93. Технология и стандартизация лекарств : в 2–х т. / под ред. В. П. Георгиевского, Ф. А. Конева. Харьков : Рирег. 1996. Т. 1. 778 с.

94. Фармацевтические и биологические аспекты мазей : моногр. / И. М. Перцев, А. М. Котенко, О. В. Чуешов, Е. Л. Халеева ; под ред. И. М. Перцева. Харьков : Изд–во НФаУ : Золотые страницы, 2003. 288 с.

95. Фаттахов И. Я. Спектрофотометрическое определение метронидазола в лечебных стоматологических штифтах (ЛСШ). *Башкирский химический журнал*. 2012. Т. 19, № 1. С. 57–61.

96. Хлистун Н. Л., Соколова И. И., Хромагина Л. Н., Левицкий А. П. Лечебно–профилактическое действие аппликаций геля с гиалуроновой кислотой на состояние десны крыс с экспериментальным гингивитом. *Вісник стоматології*. 2012. № 3. С. 8–10.

97. Царев В. Н., Чувилкин В. И., Мегрелишвили Н. А., Рамиль С. Особенности влияния хлоргексидинсодержащих препаратов на состояние микробиоценоза полости рта у больных пародонти том. *Пародонтология*. 2003. № 2 (27). С. 49–54.

98. Цепов Л. М., Николаев А. И., Михеева Е. А. Диагностика, лечение и профилактика заболеваний пародонта. 3–е изд., испр. и доп. Москва : МЕДпресс–информ, 2008. 272 с.

99. Цепов Л. М., Голева Я. А. Роль микрофлоры в возникновении воспалительных заболеваний пародонта. *Пародонтология*. 2009. № 1. С. 7–12.

100. Чадаев В. Е. Этические принципы при работе с лабораторными животными. *Вісник проблем біології і медицині*. 2012. Вип. 2, т. 1 (92). С. 113–115.

101. Шаколо Т. В., Хишова О. М. Некоторые аспекты фармацевтической разработки дерматологических гелей. *Вестник фармации*. 2018. № 4 (82). С. 99–104.

102. Шкляев С. А. Обґрунтування та встановлення критерію прийнятності при валідації технологічних процесів на фармацевтичному підприємстві *Фармацевтичний журнал*. 2012. № 4. С. 43–46.

103. Шманько В. В., Котик М. І., Микитів М. В. Сучасні підходи до лікування хвороб пародонта і слизової оболонки порожнини рота. *Вісник наукових досліджень*. 2015. № 4. С. 71–74.

104. Яковлева Л. В., Ткачова О. В., Бутко Я. О., Лар'яновська Ю. Б. Експериментальне вивчення нових препаратів для місцевого лікування ран : метод. рек. Харків : Вид–во НФаУ, 2013. 52 с.

105. Ялкаев А. Г., Катаев В. А., Кильдияров Ф. Х. Лекарственные формы метронидазола с модифицируемым высвобождением. *Медицинский вестник Башкортостана*. 2014. Т. 9, № 6. С. 112–115.

106. Abdelbary Ghada Ahmed, Aburahma Mona Hassan. Oro-dental mucoadhesive proniosomal gel formulation loaded with lornoxicam for management of dental pain. *Journal of Liposome Research*. 2015. Vol. 25, № 2. P. 107–121.

107. Al-Mubarak S. A., Karring T., Ho A. Clinical evaluation of subgingival application of metronidazole 25%, and adjunctive therapy. *J. Int. Acad. Periodontol.* 2000. Vol. 2, № 3. P. 64–70.

108. Araujo Nobre M., Cintra N., Malo P. Peri-implant maintenance of immediate function implants: A pilot study comparing hyaluronic acid and chlorhexidine. *International Journal of Dental Hygiene.* 2007. № 5. P. 87–94.

109. Ardrey R. D. Liquid Chromatography – Mass Spectrometry: An Introduction. New York ; London : John Wiley & Sons, 2003. 276 p.

110. Ballini A., Cantore S., Capodiferro S. Esterified hyaluronic acid and autologous bone in the surgical correction of the infra-bone defects. *International Journal of Medical Science.* 2009. № 6. P. 65–71.

111. Bansal M., Khatri M., Taneja V. Potential role of periodontal infection in respiratory diseases-a review. *Journal of Medicine and Life.* 2013. Vol. 6, № 3. P. 244.

112. Bertl K. I., Bruckmann C., Isberg P. E., Klinge B., Gotfredsen K., Stavropoulos A. Hyaluronan in non-surgical and surgical periodontal therapy: a systematic review. *J. Clin. Periodontol.* 2015. Vol. 42, № 3. P. 236–246.

113. Bevilacqua L., Eriani J., Serroni I. Effectiveness of adjunctive subgingival administration of amino acids and sodium hyaluronate gel on clinical and immunological parameters in the treatment of chronic periodontitis. *Annali di Stomatologia.* 2012. № 3. Vol. 75–81.

114. Bliesner D. Validating Chromatographic Methods: A Practical Guide. New York ; London : John Wiley & Sons, 2006. 304 p.

115. Briguglio F., Briguglio E., Briguglio R. Treatment of infrabony periodontal defects using a resorbable biopolymer of hyaluronic acid: A randomized clinical trial. *Quintessence International.* 2013. № 44. P. 231–240.

116. Carbopol® Ultrez 10 Polymer, Technical Data Sheet (TDS-225), Lubrizol : Cleveland. 2002.

117. Casale M., Moffa A., Vella P. Hyaluronic acid: Perspectives in dentistry. A systematic review. *Int. J. Immunopathol. Pharmacol.* 2016. Vol. 29,

№ 4. P. 572–582. DOI: <https://doi.org/10.1177/0394632016652906> (Date of access: 21.10.2018).

118. Chaturvedi A. A., Lomme R. M., Hendriks T., van Goor H. Prevention of postsurgical adhesions using an ultrapure alginate-based gel. *Br. J. Surg.* 2013. Vol. 100, № 7. P. 904–910.

119. Chauhan A. S., Bains V. K., Gupta V., Singh G. P., Patil S. S. Comparative analysis of hyaluronan gel and xanthan-based chlorhexidine gel, as adjunct to scaling and root planing with scaling and root planning alone in the treatment of chronic periodontitis: A preliminary study. *Contemp. Clin. Dent.* 2013. Vol. 4, № 1. P. 54–61.

120. Cherry W. R. Antibiotic use for treating dental infections in children: A survey of dentists' prescribing practices. *The Journal of the American Dental Association.* 2012. Vol. 143, № 1. P. 31–38.

121. Ciurba A., Lazăr L., Antonoaea P., Georgescu A. M. In vitro/in vivo performance study of new metronidazole periodontal gel formulations. *Farmacia.* 2015. Vol. 63, № 1. P. 11–19.

122. Cope A. L. Antibiotic prescribing in UK general dental practice: a cross sectional study. *Community Dentistry and Oral Epidemiology.* 2016. Vol. 44, № 2. P. 145–153.

123. Corradini D., Philips T. N. Chromatographic science series. Handbook of HPLC. 2nd ed. London : Taylor and Francis Group, 2011. Vol. 101. 696 p.

124. Dahiya P., Kamal R. Hyaluronic acid: a boon in periodontal therapy. *N. Am. J. Med. Sci.* 2013. Vol. 5, № 5. P. 309–315.

125. Devi S. Antimicrobial studies of extended release amoxicillin trihydrate dental gels. *Der Pharmacia Letter.* 2012. № 4. P. 275.

126. Dinte E., Tomuta I., Mut E. M., Iovanov R. I., Leucuta S. E. Chemometric methods for simultaneous assay of chloramphenicol, chlorhexidine and metronidazole during *in vitro* dissolution of drugs from mucoadhesive buccal gels. *Farmacia.* 2010. Vol. 58, № 5. P. 572–582.

127. Directive (EU) 2010/63 / EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 On the Protection of Animals Used for Scientific Purposes. *Official Journal of the European Union*. 2010. № 276. P. 33–790.

128. European Pharmacopoeia / European Directorate for Quality of Medicines & Health Care. 9th ed. Strasbourg, 2016. 4016 p.

129. Fini A., Bergamante V., Ceschel G. C. Mucoadhesive Gels Designed for the Controlled Release of Chlorhexidine in the Oral Cavity. *Pharmaceutics*. 2011. Vol. 3, № 4. P. 665–679.

130. Flichy-Fernández A.-J. Probiotic treatment in the oral cavity: An update. *Med. Oral. Patol. Oral. Cir. Bucal*. 2010. Vol. 15, № 5. P. e677–e680.

131. Galli F., Zuffetti F., Capelli M. Hyaluronic acid to improve healing of surgical incisions in the oral cavity: A pilot multicentre placebo-controlled randomised clinical trial. *European Journal of Oral Implantology*. 2008. № 1. P. 199–206.

132. Godfreyx R., Edwards R. A chromatographic and spectroscopic study of photodegraded metronidazole in aqueous solution. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 1991. Vol. 80, № 3. P. 212–218.

133. Gontiya G., Galgali S. R. Effect of hyaluronan on periodontitis: A clinical and histological study. *Journal of Indian Society of Periodontology*. 2012. № 16. P. 184–192.

134. Gowri Sivaramakrishnan. Antibiotic use in dentistry: A cross-sectional survey from a developing country. *Journal of Orofacial Sciences*. 2015. Vol. 7, № 2. P. 90.

135. Grubnik I., Gladukh I. Study of the rheological properties of natural gums. *British Journal of Educational and Scientific Studies*. 2015. № 2 (22). P. 689–695.

136. Hakkinen L., Uitto V. J., Larjava H. Cell biology of gingival wound healing. *Periodontology*. 2000. № 24. P. 127–152.

137. Halling F. Trends in antibiotic prescribing by dental practitioners in Germany. *Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery*. 2017. Vol. 45, № 11. P. 1854–1859.

138. Handbook of Pharmaceutical Excipients / ed. by R. C. Rowe et al. 7th ed. London : Pharmaceutical Press, 2012. 1064 p
139. Islam M. T., Rodríguez–Hornedo N., Ciotti S., Ackermann C. Rheological characterization of topical carbomer gels neutralized to different pH. *Pharmaceutical Research*. 2004. Vol. 21, № 7. P. 1192–1199.
140. Jin L. J. Global burden of oral diseases: emerging concepts, management and interplay with systemic health. *Oral Diseases*. 2016. Vol. 22, № 7. P. 609–619.
141. Kaci G. Anti-inflammatory properties of *Streptococcus salivarius*, a commensal bacterium of the oral cavity and digestive tract. *Appl. Environ. Microbiol.* 2014. Vol. 80, № 3. P. 928–934.
142. Kinane D. F. Local antimicrobial therapies in periodontal disease. *Ann. R. Australas. Coll. Dent. Surg.* 2000. № 15. P. 57–60.
143. Kingman A., Albandar J. M. Methodological aspects of epidemiological studies of periodontal diseases. *Periodontol.* 2002. Vol. 29. P. 11–30.
144. Koray M. Efficacy of hyaluronic acid spray on swelling, pain, and trismus after surgical extraction of impacted mandibular third molars. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*. 2004. № 43. P. 1399–1403.
145. Kumar R. Efficacy of hyaluronic acid (hyaluronan) in root coverage procedures as an adjunct to coronally advanced flap in Millers Class I recession: A clinical study. *Journal of Indian Society of Periodontology*. 2014. № 18. P. 746–750.
146. Kwak Y. H., Dixon C. K. Risk management framework for pharmaceutical research and development projects *International Journal of Managing Projects in Business*. 2008. № 1(4). P. 552–565.
147. The efficacy of topical 0.2% hyaluronic acid gel on recurrent oral ulcers: Comparison between recurrent aphthous ulcers and the oral ulcers of Behcet's disease / J. H. Lee et al. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*. 2008. № 22. P. 590–595.
148. Effect of hyaluronan and metronidazole gels in management of chronic periodontitis / A. A. Mahmood et al. *J. Int. Oral Health*. 2019. № 11. P. 158–163.

149. Stability of metronidazole benzoate in suspensions / M. Mathew et al. *J. Clin. Pharm. Ther.* 1994. Vol. 19, № 1. P. 31–34.
150. Mendes R. M. Sodium hyaluronate accelerates the healing process in tooth sockets of rats. *Archives of Oral Biology*. 2008. № 53. P. 1155–1162.
151. Mesa F. L. Antiproliferative effect of topic hyaluronic acid gel. Study in gingival biopsies of patients with periodontal disease. *Histology and Histopathology*. 2002. № 17. P. 747–753.
152. Nolan A. The efficacy of topical hyaluronic acid in the management of recurrent aphthous ulceration. *Journal of Oral Pathology & Medicine*. 2006. № 35. P. 461–465.
153. Orlenko D. S., Yakovenko V. K. Using the HACCP method in quality risk management in the production of oromucosal gel. *Аннали Мечніковського інституту*. 2020. № 2. С. 24–29.
154. Orlenko D., Yakovenko V., Plastun V., Vyshnevskaya L. Development and validation of methods for quantitative determination of sodium hyaluronate in the composition of combined dental gel. *EUREKA: Health Sciences*. 2020. Vol. 5, № 29. P. 72–81.
155. Orlenko D., Yakovenko V., Vyshnevskaya L. Research on the development of dental gel technology with metronidazole benzoate and hyaluronic acid. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2019. № 6 (22). P. 24–29.
156. Orlenko D., Yakovenko V., Vyshnevskaya L. Study of structural and mechanical properties of bases in the development of dental gel with combined composition. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2019. № 5 (21). P. 35–41.
157. Park J. K. Guided bone regeneration by poly (lactic-co-glycolic acid) grafted hyaluronic acid bi-layer films for periodontal barrier applications. *Acta Biomater*. 2009. № 5. P. 3394–4031.
158. Patil R., Gangadharappa H. V., Kiran H. C., Sandhya K. Planning of hazard analysis critical control point (HACCP) in pharmaceuticals *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*. 2016. 37(1). P. 149–154.

159. Local drug delivery modalities in treatment of periodontitis: a review / J. I. Pattanshetti et al. *Journal of International Oral Health*. 2016. Vol. 8, № 2. P. 296.
160. Pilloni A. Evaluation of the efficacy of an hyaluronic acid-based biogel on periodontal clinical parameters. A randomized-controlled clinical pilot study. *Annali di Stomatologia*. 2011. № 2. P. 3–9.
161. Pistorius A. The clinical application of hyaluronic acid in gingivitis therapy. *Quintessence International*. 2005. № 36. P. 531–538.
162. Polepalle T. Local delivery of hyaluronan 0.8% as an adjunct to scaling and root planing in the treatment of chronic periodontitis: A clinical and microbiological study. *Journal of Indian Society of Periodontology*. 2015. № 19. P. 37–42.
163. Rajan P. Hyaluronic acid as an adjunct to scaling and root planing in chronic periodontitis. A randomized clinical trial. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*. 2014. № 8. P. 11–14.
164. Rescala B. Immunological and microbiological profiles of chronic and aggressive periodontitis subjects. *Journal of Periodontology*. 2010. Vol. 81. P. 1308–1316.
165. Romeo U. Oral soft tissue wound healing after laser surgery with or without a pool of amino acids and sodium hyaluronate: A randomized clinical study. *Photomedicine and Laser Surgery*. 2014. № 32. P. 10–16.
166. Sahayata V. N., Bhavsar N. V., Brahmabhatt N. A. An evaluation of 0.2% hyaluronic acid gel (Gengigel (R)) in the treatment of gingivitis: A clinical & microbiological study. *Oral Health and Dental Management*. 2014. № 13. P. 779–785.
167. Sallam A. S., Hamudi F. F., Khalil E. A., Effect of ethylcellulose and propylene glycol periodontal gel. *Pharm. Dev. Technol.* 2015. № 20 (2). P. 159–168.
168. Scannapieco F. A. The oral microbiome: its role in health and in oral and systemic infections. *Clinical Microbiology Newsletter*. 2013. Vol. 35, № 20. P. 163–169.

169. Schwach-Abdellaoui K., Vivien-Castioni N., Gurny R. Local delivery of antimicrobial agents for the treatment of periodontal diseases. *Eur. J. Pharm. Biopharm.* 2000. Vol. 50, № 1. P. 83–99. [https://doi.org/10.1016/S0939-6411\(00\)00086-2](https://doi.org/10.1016/S0939-6411(00)00086-2) (Date of access: 18.11.2017).

170. Shafiei F., Memarpour M. Antibacterial activity in adhesive dentistry: a literature review. *General Dentistry.* 2012. Vol. 60, № 6. P. e346–e356.

171. Sodium Hyaluronate. *European Pharmacopoeia* / European Directorate for Quality of Medicines & Health Care. 9th ed. Strasbourg, 2016. Vol. 2. P. 3583–3585.

172. Sreenivasan P. K., Gaffar A. Antibacterials as antiinflammatory agents: dual action agents for oral health. *Antonie van Leeuwenhoek.* 2008. Vol. 93, № 3. P. 227–239.

173. Tariq M. Treatment modalities and evaluation models for periodontitis. *Int. J. Pharm. Investig.* 2012. № 2 (3). P. 106–122.

174. United States Pharmacopeia and National Formulary 2017 [USP 40 – NF35]. Rockville : United States Pharmacopeial Convention, 2016. 7970 p.

175. Vanden B. L. Treatment of infrabony periodontal defects with esterified hyaluronic acid: clinical report of 19 consecutive lesions. *Int. J. Periodont. Restorat. Dent.* 2009. № 29. P. 315–323.

176. Xu Y. Clinical and microbiological effects of topical subgingival application of hyaluronic acid gel adjunctive to scaling and root planing in the treatment of chronic periodontitis. *Journal of Periodontology.* 2004. № 75. P. 1114–1118.

177. Yehia S. A., El-Gazayerly O. N., Basalious E. B. Design and *in vitro/in vivo* evaluation of novel mucoadhesive buccal discs of an antifungal drug: relationship between swelling, erosion and drug release. *AAPS PharmSciTech.* 2008. № 9 (4). P. 1207–1217.

178. Zhang J. F. Antibacterial dental composites with chlorhexidine and mesoporous silica. *Journal of Dental Research.* 2014. Vol. 93, № 12. P. 1283–1289.

ДОДАТКИ

Додаток А

СПИСОК ПРАЦЬ ЗДОБУВАЧА

1. Orlenko D., Yakovenko V., Vyshnevskaya L. Study of structural and mechanical properties of bases in the development of dental gel with combined composition. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2019. № 5 (21) P. 35–41. *(Особистий внесок: планування і проведення дослідження, аналіз та узагальнення отриманих результатів, підготовка статті)*.

2. Орленко Д. С., Яковенко В. К., Гранкіна О. Ю. Дослідження анти-мікробної активності комбінованого гелю для лікування інфекційно-запальних захворювань порожнини рота. *Український біофармацевтичний журнал*. 2019. № 4 (61). С. 76–80. *(Особистий внесок: виготовлення експериментальних зразків, оброблення одержаних даних, підготовка статті)*.

3. Orlenko D., Yakovenko V., Vyshnevskaya L. Research on the development of dental gel technology with metronidazole benzoate and hyaluronic acid. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2019. № 6 (22). P. 24–29. *(Особистий внесок: планування і проведення дослідження, аналіз та узагальнення отриманих результатів, підготовка статті)*.

4. Orlenko D. S., Yakovenko V. K. Using the HACCP method in quality risk management in the production of oromucosal gel. *Аннали Мечніковського інституту*. 2020. № 2. С. 24–29 *(Особистий внесок: планування і проведення дослідження, аналіз та узагальнення отриманих результатів, підготовка статті)*.

5. Орленко Д. С., Литкін Д. В., Загайко А. Л., Яковенко В. К. Фармакологічне обґрунтування використання гіалуронової кислоти у складі комбінованих м'яких лікарських засобів у стоматології. *Клінічна фармація*. 2020. Т. 24, № 2. С. 56–61. *(Особистий внесок: планування експерименту, виготовлення експериментальних зразків, оброблення одержаних даних, підготовка статті)*.

6. Орленко Д. С., Стрельников Л. С., Малоштан Л. Н., Яковенко В. К. Изучение антимикробной и противовоспалительной активности оромукозного геля комбинированного состава. *Вестник фармации*. 2020. № 3 (89). С. 70–76. *(Особистий внесок: планування експерименту, виготовлення експериментальних зразків, оброблення одержаних даних, підготовка статті)*.

7. Orlenko D., Yakovenko V., Plastun V., Vyshnevskaya L. Development and validation of methods for quantitative determination of sodium hyaluronate in the composition of combined dental gel. *EUREKA: HealthSciences*. 2020. Vol 5, № 29. P. 72–81. *(Особистий внесок: планування і проведення дослідження, аналіз та узагальнення отриманих результатів, підготовка статті)*.

8. Состав для лечения гингивита та пародонтита : пат. на полезную модель 139452 Украины / Доровський О. В., Хорунжий Г. Г., Когута О. М., Орленко Д.С. № и 2019 05619 ; заявл. 23.05.2019 ; опубл. 10.01.2020, Бюл. № 1. *(Особистий внесок: участь у патентному пошуку, планування та виконання експериментальних досліджень, узагальнення отриманих результатів, участь у підготовці опису до патенту)*.

9. Орленко Д. С., Яковенко В. К. Комбінований стоматологічний гель для лікування гінгівіту і парадонтиту : інформ лист. Київ : Укрмедпатентінформ МОЗ України, 2020. № 78-2020. 4 с. *(Особистий внесок: проведення експериментальних досліджень, оформлення інформаційного листа відповідно вимогам)*.

10. Орленко Д. С., Яковенко В. К. Кількісне визначення гіалуронової кислоти в складі комбінованого стоматологічного гелю : інформ лист. Київ : Укрмедпатентінформ МОЗ України, 2020. № 79-2020.4 с. *(Особистий внесок: проведення експериментальних досліджень, оформлення інформаційного листа відповідно вимогам)*.

11. Орленко Д. С., Яковенко В. К., Андрюкова Л. М., Доровський О. В. Дослідження з вибору допоміжних речовин у складі комбінованого стоматологічного гелю. *Сучасні досягнення фармацевтичної технології і біотехнології* : зб. наук. пр. Вип. 5. Харків : Вид-во НФаУ, 2018. С. 272–275. (Особистий внесок: проведення дослідження, оброблення одержаних даних, написання статті).

12. Orlenko D., Iakovenko V., Dorovsky O. Substantiation of the composition of combined gel for therapy of inflammatory processes of gums and mucous membrane of the oral cavity. *Science and Practice 2017* : Book of abstracts of the 8th International conference on pharmaceutical sciences and pharmacy practice, Kaunas, December 15, 2017. Kaunas, 2017. P. 98.

13. Orlenko D., Dorovskoy O., Yakovenko V. Design of dental composition with hyaluronic acid. *Science and Practice 2018* : Book of abstracts of the 9th International pharmaceutical conference, Kaunas, November 9, 2018. Kaunas, 2018. P. 71.

14. Orlenko D., Yakovenko V. Technological studies in the design a combined stomatological gel. *Приоритеты фармации и стоматологии: от теории к практике* : сб. мат. VII науч.-практ. конф. с междунар. участием. Алматы. 2018. С. 119

15. Орленко Д. С., Яковенко В. К. Валідація технологічного процесу виробництва комбінованого стоматологічного гелю. *Сучасні аспекти створення екстемпоральних алопатичних, гомеопатичних і косметичних лікарських засобів* : матеріали наук.-практ. інтернет-конф., Харків, 01 берез. 2019 р. Харків : НФаУ, 2019. С. 160.

16. Орленко Д. С., Яковенко В. К. Определениеспособавведения в основу активних фармацевтических ингредиентов стоматологического геля. *Актуальные проблемы современной медицины и фармации* : сб. тез. докладов LXXIII Междунар. науч.-практ. конф. студентов и молодых ученых. Минск : БГМУ. 2019. С. 1545.

17. Орленко Д. С., Яковенко В. К. Встановлення критичних показників якості при фармацевтичній розробці стоматологічного гелю *Управління якістю в фармації* : матеріали XIII наук.-практ. конф., м. Харків, 17 трав. 2019 р. Харків : НФаУ, 2019. С. 114.

18. Орленко Д. С., Яковенко В. К., Андрюкова Л. М. Стандартизація стоматологічного гелю з метронідазолом бензоатом та гіалуроновою кислотою. *Сучасні досягнення фармацевтичної технології і біотехнології* : зб. наук. пр. Вип. 6. Харків : Вид-во НФаУ, 2019. С. 373.

19. Орленко Д. С., Яковенко В. К. Обґрунтування показників специфікації комбінованого стоматологічного гелю. *Сучасні аспекти створення екстемпоральних алопатичних, гомеопатичних та косметичних лікарських засобів* : матеріали IV Міжнар. наук.-практ. дистанційної конф., м. Харків, 20 берез. 2020 р. Харків : НФаУ, 2020. С. 101.

20. Орленко Д. С., Яковенко В. К. Обґрунтування методу кількісного визначення метронідазолубензоату у складі оромукозного гелю. *Управління якістю в фармації* : матеріали XIV наук.-практ. конф. з міжнар. участю, м. Харків, 22 трав. 2020 р. Харків : НФаУ, 2020. С. 110.

21. Орленко Д. С., Яковенко В. К., Пластун В. Ю. Кількісне визначення гіалуронової кислоти в складі комбінованого стоматологічного гелю. *Сучасні напрямки удосконалення фармацевтичного забезпечення населення: від розробки до використання лікарських засобів природного і синтетичного походження* : матеріали наук.-практ. дистанційної конф. з міжнар. участю, 19-20 трав. 2020 р. Івано-Франківськ, 2020. С. 136–137.

22. Орленко Д. С., Литкін Д. В., Юдкевич Т. К., Яковенко В. К. Вивчення ранозагоювальної дії стоматологічних гелів комбінованого складу з гіалуроновою кислотою *Фармакоекономіка в Україні: стан та перспективи розвитку* : матеріали XII наук.-практ. INTERNET-конф., м. Харків, 22 трав. 2020 р. Харків, 2020. С. 248.

Апробація результатів дисертації

1. 8th International conference on pharmaceutical sciences and pharmacy practice (Каунас, Литва, 2017, форма участі – публікація тез);
2. Міжнародна науково-практична конференція «Сучасні досягнення фармацевтичної технології і біотехнології» (Харків, 2018, форма участі – публікація тез);
3. 9th International pharmaceutical conference «SCIENCE AND PRACTICE 2018» (Каунас, Литва, 2018, форма участі – публікація тез);
4. VII науково-практична конференція з міжнародною участю «Приоритеты фармации и стоматологии: от теории к практике» (Алмати, Узбекистан, 2018, форма участі – публікація тез);
5. Науково-практична інтернет-конференція «Сучасні аспекти створення екстемпоральних алопатичних, гомеопатичних і косметичних лікарських засобів» (Харків, 2019, форма участі – публікація тез);
6. LXXIII Международная научно-практическая конференция студентов и молодых ученых «Актуальные проблемы современной медицины и фармации» (Мінськ, Білорусь, 2019 форма участі – публікація тез);
7. XIII науково-практична конференція «Управління якістю в фармації» (Харків, 2019, форма участі – публікація тез);
8. Міжнародна науково-практична конференція «Сучасні досягнення фармацевтичної технології і біотехнології» (Харків, 2019, форма участі – публікація тез),
9. IV Міжнародна науково-практична дистанційна конференція «Сучасні аспекти створення екстемпоральних алопатичних, гомеопатичних та косметичних лікарських засобів» (Харків, 2020, форма участі – публікація тез),
10. XIV науково-практична конференція з міжнародною участю «Управління якістю в фармації» (Харків, 2020, форма участі – публікація тез),

11. Науково-практична дистанційна конференція з міжнародною участю «Сучасні напрямки удосконалення фармацевтичного забезпечення населення: від розробки до використання лікарських засобів природного і синтетичного походження» (Івано-Франківськ, 2020, форма участі – публікація тез),

12. XII науково-практична INTERNET-конференція «Фармакоекономіка в Україні: стан та перспективи розвитку» (Харків, 2020, форма участі – публікація тез).

Додаток Б



Додаток В

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
Український центр наукової медичної інформації
та патентно-ліцензійної роботи
(Укрмедпатентінформ)

ІНФОРМАЦІЙНИЙ ЛИСТ

ПРО НОВОВВЕДЕННЯ В СФЕРІ ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я

№ 78 - 2020

Випуск з проблеми

«Фармація»

Підстава: витяг ЕПК

«Фармація»

Протокол № 107 від 29.10.19 р.

НАПРЯМ ВПРОВАДЖЕННЯ:
ФАРМАЦІЯ

КОМБІНОВАНИЙ СТОМАТОЛОГІЧНИЙ ГЕЛЬ ДЛЯ ЛІКУВАННЯ
ГІНГІВІТУ І ПАРОДОНТИТУ

УСТАНОВИ-РОЗРОБНИКИ:

НАЦІОНАЛЬНИЙ
ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
МОЗ УКРАЇНИ

УКРМЕДПАТЕНТІНФОРМ
МОЗ УКРАЇНИ

А В Т О Р И:

асп. ОРЛЕНКО Д. С.,
проф. ЯКОВЕНКО В. К.

м. Київ

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
Український центр наукової медичної інформації
та патентно-ліцензійної роботи
(Укрмедпатентінформ)

ІНФОРМАЦІЙНИЙ ЛИСТ

ПРО НОВОВВЕДЕННЯ В СФЕРІ ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я

№ 79 - 2020

Випуск з проблеми
«Фармація»
Підстава: витяг ЕПК
«Фармація»
Протокол № 107 від 29.10.19 р.

НАПРЯМ ВПРОВАДЖЕННЯ:
ФАРМАЦІЯ

КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ ГІАЛУРОНОВОЇ КИСЛОТИ В СКЛАДІ
КОМБІНОВАНОГО СТОМАТОЛОГІЧНОГО ГЕЛЮ

УСТАНОВИ-РОЗРОБНИКИ:

НАЦІОНАЛЬНИЙ
ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
МОЗ УКРАЇНИ

А В Т О Р И:

асп. ОРЛЕНКО Д. С.,
проф. ЯКОВЕНКО В. К.

УКРМЕДПАТЕНТІНФОРМ
МОЗ УКРАЇНИ

м. Київ

Додаток Г

ТОВАРИСТВО З ОБМЕЖЕНОЮ ВІДПОВІДАЛЬНІСТЮ
«ФАРМАЦЕВТИЧНА КОМПАНІЯ «ЗДОРОВ'Я»
м. Харків

ЗАТВЕРДЖУЮ

Директор

ТОВ «Фармацевтична
компанія «Здоров'я»

В. В. Новіков

2020 р.

ТЕХНОЛОГІЧНИЙ РЕГЛАМЕНТ (ПРОЕКТ)
на виробництво лікарського засобу

ГЕЛЬ «ГІАЛЬДЕНТ»,

гель по 15 г та 30 г у тубах №1

ТР _____

Чинний разом з ДВД _____

Термін дії регламенту до «____» _____ 20__ р.

Додаток Д

ПРОЕКТ

ЗАТВЕРДЖУЮ
Наказ Міністерства охорони здоров'я
України
 № _____
Реєстраційне посвідчення
 № _____

Заявник:	Товариство з обмеженою відповідальністю «Фармацевтична компанія «Здоров'я», Україна
Виробник:	Товариство з обмеженою відповідальністю «Фармацевтична компанія «Здоров'я», Україна

МЕТОДИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ
ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ

Gel «Hyaldent»
Гель «Гіальдент»

гель по 15 г та 30 г у тубах № 1

С. 2

УПАКОВКА

По 15 г або 30 г у тубу ламінатну.

Тубу разом з інструкцією для медичного застосування поміщають у коробку з картону.

МАРКУВАННЯ

Текст маркування додається.

Текст маркування може змінюватися залежно від країни експорту.

ЗБЕРІГАННЯ

Зберігати в оригінальній упаковці при температурі не вище 25°C.

Зберігати в недоступному для дітей місці.

ТЕРМІН ПРИДАТНОСТІ

2 роки.

Директор з розвитку
ТОВ «Фармацевтична
компанія «Здоров'я»



В. Б. Демьохін

20 20 р.

Додаток Е

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Директор ТОВ «Фармацевтична
компанія «Здоров'я»

Новіков В.В.



20 20 р.

АКТ

АПРОБАЦІЇ ТЕХНОЛОГІЇ В УМОВАХ ПРОМИСЛОВОГО ВИРОБНИЦТВА

Даний акт складено в тому, що в умовах фітохімічного цеху (дільниця м'яких і рідких лікарських форм) ТОВ «Фармацевтична компанія «Здоров'я» була опрацьована технологія виробництва гелю під умовною назвою «Гіальдент» та проведено набрку дослідно-промислових серій препарату. Розроблена технологія стоматологічного комбінованого гелю «Гіальдент» повністю відтворюється в умовах промислового виробництва.

Директор з виробництва
ТОВ «Фармацевтична
компанія «Здоров'я»

О. О. Ловашніченко

Аспірант НФаУ

Д. С. Орленко

Two handwritten signatures in blue ink. The one on the left is a cursive signature, and the one on the right is a more stylized signature.

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Директор ТОВ «Фармацевтична
компанія «Здоров'я»

Новіков В.В.

20 20 р.



АКТ

АПРОБАЦІЇ МЕТОДІВ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ
НОВОГО ЛІКАРСЬКОГО ЗАСОБУ

Даний акт складено в тому, що за результатами проведеного аналізу дослідно-промислових серій лікарського препарату стоматологічний гель «Гіальдент» встановлено повну відтворюваність запропонованих методик аналізу та відповідність отриманого лікарського засобу за всіма показникам якості вимогам розробленого проекту специфікації та методів контролю якості.

Директор з якості та сертифікації
ТОВ «Фармацевтична
компанія «Здоров'я»

О. А. Броніна

Аспірант НФаУ

Д. С. Орленко



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з науково-педагогічної
роботи НФаУ, професор
Інна ВЛАДИМИРОВА

«28» вересня 2020 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Назва пропозиції для впровадження: експериментальне обґрунтування розробки стоматологічного комбінованого гелю, що містить діючі речовини синтетичного та природного походження.

2. Установа, її адреса, виконавці: Національний фармацевтичний університет, кафедра промислової фармації та економіки, 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53.; аспірант Д.С. Орленко, проф. В. К. Яковенко.

3. Джерела інформації:

1. Орленко Д. С., Яковенко В. К., Андрюкова Л. М., Доровський О. В. Дослідження з вибору допоміжних речовин у складі комбінованого стоматологічного гелю. Сучасні досягнення фармацевтичної технології і біотехнології : зб. наук. пр. Вип. 5. Х.: Вид-во НФаУ. 2018. С. 272–275.
2. Orlenko D., Yakovenko V., Vyshnevskaya L. Study of structural and mechanical properties of bases in the development of dental gel with combined composition. ScienceRise: Pharmaceutical Science. 2019. №5 (21) P. 35–41.
3. Orlenko D., Yakovenko V., Vyshnevskaya L. Research on the development of dental gel technology with metronidazole benzoate and hyaluronic acid. ScienceRise: Pharmaceutical Science. 2019. № 6 (22). P. 24-29.
4. Orlenko D. S., Yakovenko V. K. Using the HACCP method in quality risk management in the production of oromucosal gel. Анналі Мечніковського інституту. 2020. № 2. С. 24–29.

4. Де і коли впроваджено: в навчальний процес кафедри заводської технології ліків Національного фармацевтичного університету у лекційний курс при вивченні тем «М'які лікарські форми». Термін впровадження: 2020-2021 н.р.

5. Результат впровадження: запропоновані наукові підходи до проведення фармацевтичної розробки м'яких лікарських засобів та визначення показників якості комбінованих препаратів використовуються в навчальному процесі та при виконанні дипломних та магістерських кваліфікаційних робіт.

6. Зауваження та пропозиції: не вносилися.

Затверджено на засіданні кафедри заводської технології НФаУ, протокол № 2 від «07» вересня 2020 р.

Відповідальний за впровадження:

к. фарм. н., доцент кафедри заводської технології ліків НФаУ

Ю. С. Маслій

Завідувачка кафедри заводської технології НФаУ,
д. фарм. н., проф.

О. А. Рубан



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з науково-педагогічної роботи НФаУ, професор

Інна ВЛАДИМИРОВА

» 01 жовтня 2020 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Назва пропозиції для впровадження: рекомендації щодо застосування нового комбінованого лікарського засобу для місцевої терапії інфекційно-запальних захворювань порожнини рота.

2. Установа, її адреса, виконавці: Національний фармацевтичний університет, кафедра промислової фармації та економіки, 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53.; асп. Д.С. Орленко, д.фарм.н., проф. В. К. Яковенко.

3. Джерела інформації:

- Орленко Д. С., Яковенко В. К. Комбінований стоматологічний гель для лікування гінгівіту і парадонтиту : інформ лист. Київ : Укрмедпатентінформ МОЗ України, 2020. № 78-2020. 4 с.
- Орленко Д. С., Литкін Д. В., Загайко А. Л., Яковенко В. К. Фармакологічне обґрунтування використання гіалуронової кислоти у складі комбінованих м'яких лікарських засобів у стоматології. Клінічна фармація. 2020. Том 24, № 2. С. 56–61.

4. Де і коли впроваджено: в навчальний процес кафедри клінічної фармакології Інституту підвищення кваліфікації спеціалістів фармації в програмі циклу тематичного удосконалення «Сучасні клініко-фармакологічні та організаційно-економічні аспекти відпуску та застосування лікарських засобів». Термін впровадження: II півріччя 2020 р.

5. Результат впровадження: поглиблення знань фахівців фармацевтичних та медичних закладів щодо застосування нового комбінованого лікарського засобу для місцевої медикаментозної терапії інфекційно-запальних захворювань порожнини рота.

6. Зауваження та пропозиції: не вносилися.

Обговорено та затверджено на засіданні кафедри клінічної фармакології Інституту підвищення кваліфікації спеціалістів фармації НФаУ, протокол № 8 від «17» вересня 2020 р.

Відповідальний за впровадження:
завідуюча кафедрою
клінічної фармакології ІПКСФ НФаУ,
д. фарм. н., проф.

О. Я. Міщенко

ЗАТВЕРДЖУЮ

Перший проректор
з науково-педагогічної роботи
Львівського національного
медичного університету
ім. Данила Галицького
чл. кор. АМН України М. Р. Гжегоцький

«04» вересня 2020 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Назва пропозиції для впровадження: Фармацевтична розробка стоматологічного комбінованого гелю, що містить діючі речовини синтетичного та природного походження.

2. Установа, її адреса, виконавці: Національний фармацевтичний університет, кафедра промислової фармації та економіки, 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53.; асп. Д.С. Орленко, д.фарм.н., проф. В.К. Яковенко.

3. Джерела інформації:

1. Orlenko D., Yakovenko V., Vyshnevskaya L. Study of structural and mechanical properties of bases in the development of dental gel with combined composition. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2019. №5 (21) P. 35–41.
2. Orlenko D., Yakovenko V., Vyshnevskaya L. Research on the development of dental gel technology with metronidazole benzoate and hyaluronic acid. *ScienceRise: Pharmaceutical Science*. 2019. №6 (22). P. 24-29.
3. Дослідження з вибору допоміжних речовин у складі комбінованого стоматологічного гелю / Д.С. Орленко, В.К. Яковенко, Л.М. Андрюкова, О.В. Доровський. *Сучасні досягнення фармацевтичної технології і біотехнології* : зб. наук. пр. Вип. 5. Х. : Вид-во НФаУ, 2018. С. 272-275.

4. Впроваджено: в навчальний процес кафедри технології ліків і біофармації Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького у лекційний курс при вивченні теми «М'які лікарські форми».

5. Термін впровадження: 2020 р.

6. Ефективність впровадження:

Показники	За даними	
	розробників	установи, що впроваджує
Використання розробки показало, що ефективність впровадження відповідає критеріям, наведеним у джерелах інформації Результати наукових досліджень використовуються студентами на кафедрі технології ліків і біофармації		

Відповідальний за впровадження:

Доцент кафедри технології ліків і біофармації
ЛНМУ імені Данила Галицького



К. Ф. Ващенко

Завідувач кафедри технології ліків і біофармації
ЛНМУ імені Данила Галицького, д.фарм. н., доцент



С. Б. Білоус

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
 Перший проректор
 Івано-Франківського національного
 медичного університету
 д. біол. н., проф.
 Г.М. Ерстенюк



«25» 10 2020 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Назва пропозиції для впровадження: Експериментальне обґрунтування розробки стоматологічного комбінованого гелю, що містить діючі речовини синтетичного та природного походження.

2. Установа, її адреса, виконавці: Національний фармацевтичний університет, кафедра промислової фармації та економіки, 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53., асп. Д.С. Орленко, д.фарм.н., проф. В. К. Яковенко.

3. Джерела інформації:

1. Study of structural and mechanical properties of bases in the development of dental gel with combined composition / D. Orlenko, V. Yakovenko, L. Vyshnevskaya // ScienceRise: Pharmaceutical Science. – 2019. – №5 (21) – P. 35–41.
2. Research on the development of dental gel technology with metronidazole benzoate and hyaluronic acid / D. Orlenko, V. Yakovenko, L. Vyshnevskaya // ScienceRise: Pharmaceutical Science. – 2019. - №6 (22).- P. 24-29.
3. Дослідження з вибору допоміжних речовин у складі комбінованого стоматологічного гелю // Сучасні досягнення фармацевтичної технології і біотехнології : зб. наук. пр. Вип. 5. – Х. : Вид-во НФаУ, 2018. – С. 272-275.

4. Впроваджено: в навчальний процес кафедри організації та економіки фармації і технології ліків Івано-Франківського національного медичного університету у лекційний курс при вивченні тем «М'які лікарські форми».

5. Термін впровадження: вересень 2020 р.

Затверджено на засіданні кафедри, протокол № 2 від «02» 10 2020 р.

6. Ефективність впровадження:

Показники	За даними	
	Розробників	Установи, що впроваджує
Використання розробки показало, що ефективність впровадження відповідає критеріям, наведеним в джерелі інформації		
Результати наукових досліджень використовуються студентами на кафедрі організації та економіки фармації і технології ліків		

Відповідальний за впровадження:
 завідувач кафедри організації та
 економіки фармації і технології ліків,
 д. фарм. н., доц.



Федоровська М. І.

ЗАТВЕРДЖУЮ

Проректор з науково-педагогічної роботи
Запорізького державного медичного
університету, д. м. н., проф.
В. А. Візор
«11» жовтня 2020 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Назва пропозиції для впровадження: Фармацевтична розробка стоматологічного комбінованого гелю, що містить діючі речовини синтетичного та природного походження.

2. Установа, її адреса, виконавці: Національний фармацевтичний університет, кафедра промислової фармації та економіки, 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53.; асп. Орленко Д.С., д.фарм.н., проф. Яковенко В. К..

3. Джерела інформації:

1. Study of structural and mechanical properties of bases in the development of dental gel with combined composition / D. Orlenko, V. Yakovenko, L. Vyshnevskaya // ScienceRise: Pharmaceutical Science. – 2019. – №5 (21) – P. 35–41.
2. Research on the development of dental gel technology with metronidazole benzoate and hyaluronic acid / D. Orlenko, V. Yakovenko, L. Vyshnevskaya // ScienceRise: Pharmaceutical Science. – 2019. - №6 (22).- P. 24-29.
3. Використання методу ХАССП в управлінні ризиками для якості при виробництві комбінованого стоматологічного гелю / Д. С. Орленко, В. К. Яковенко // Анналі Мечніковського інституту. – 2020 р. – № 2. – С. 24-29

4. Впроваджено: в навчальний процес на кафедрі технології ліків Запорізького державного медичного університету у лекційній при вивченні теми «М'які лікарські форми».

5. Термін впровадження: _____ 2020 р.

6. Ефективність впровадження:

Показники	За даними	
	розробників	установи, що впроваджує
Використання розробки показало, що ефективність впровадження відповідає критеріям, наведеним в джерелі інформації		
Результати наукових досліджень використовуються студентами на кафедрі технології ліків і біофармації		

Відповідальний за впровадження:

Завідувач кафедри технології ліків
Запорізького державного
медичного університету



В. В. Гладішев



«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з науково-педагогічної
роботи НФаУ, професор
Інна ВЛАДИМИРОВА

«15» вересня 2020 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. Назва пропозиції для впровадження: експериментальне обґрунтування розробки стоматологічного комбінованого гелю, що містить діючі речовини синтетичного та природного походження.

2. Установа, її адреса, виконавці: Національний фармацевтичний університет, кафедра промислової фармації та економіки, 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53.; аспірант Д. С. Орленко, проф. В. К. Яковенко.

3. Джерела інформації:

1. Орленко Д. С., Яковенко В. К., Андрюкова Л. М., Доровський О. В. Дослідження з вибору допоміжних речовин у складі комбінованого стоматологічного гелю. Сучасні досягнення фармацевтичної технології і біотехнології : зб. наук. пр. Вип. 5. Х.: Вид-во НФаУ. 2018. С. 272–275.

2. Orlenko D., Yakovenko V., Vyshnevskaya L. Study of structural and mechanical properties of bases in the development of dental gel with combined composition. ScienceRise: Pharmaceutical Science. 2019. №5 (21) P. 35–41.

3. Orlenko D., Yakovenko V., Vyshnevskaya L. Research on the development of dental gel technology with metronidazole benzoate and hyaluronic acid. ScienceRise: Pharmaceutical Science. 2019. № 6 (22). P. 24-29.

4. Orlenko D. S., Yakovenko V. K. Using the HACCP method in quality risk management in the production of oromucosal gel. Анналі Мечніковського інституту. 2020. № 2. С. 24–29

4. Де і коли впроваджено: у навчальний процес кафедри технології фармацевтичних препаратів Національного фармацевтичного університету у лекційний курс при викладанні дисципліни «Фармацевтична розробка лікарських засобів». Термін впровадження: 2020-2021 навч. рр.

5. Результат впровадження: запропоновані наукові підходи до проведення фармацевтичної розробки м'яких лікарських засобів та визначення показників якості комбінованих препаратів використовуються в навчальному процесі та при виконанні дипломних проектів та магістерських кваліфікаційних робіт.

6. Зауваження та пропозиції: не вносилися.

Відповідальний за впровадження:
Завідувач кафедри технології
фармацевтичних препаратів НФаУ,
д. фарм. н., доц.

О. С. Кухтенко