

Kavushevska N. S., Bereznyarova A. I., Tyupka T. I. ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ОБГРУНТУВАННЯ СКЛАДУ ТА ВИВЧЕННЯ ТОКСИКОЛОГІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ НОВОГО СТОМАТОЛОГІЧНОГО ГЕЛЮ НА ОСНОВІ ЛІЗОЦИМУ ГІДРОХЛОРИДУ = EXPERIMENTAL SUBSTANTIATION COMPOSITION AND INVESTIGATION TOXICOLOGICAL ENDEPOINT NEW DENTAL GEL BASED ON LYSOZYME HYDROCHLORIDE = ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ СОСТАВА И ИЗУЧЕНИЕ ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ НОВОГО СТОМАТОЛОГИЧЕСКОГО ГЕЛЯ НА ОСНОВЕ ЛИЗОЦИМА ГИДРОХЛОРИДА Journal of Education, Health and Sport. 2016;6(10):415-422. e-ISSN 2391-8306. DOI <http://dx.doi.org/10.5281/zenodo.163976>
<http://ojs.ukw.edu.pl/index.php/johs/article/view/3967>
<https://pbn.nauka.gov.pl/sedno-webapp/works/755229>

The journal has had 7 points in Ministry of Science and Higher Education parametric evaluation. Part B item 755 (23.12.2015).

755 Journal of Education, Health and Sport eISSN 2391-8306 7

© The Author (s) 2016;

This article is published with open access at Licensee Open Journal Systems of Kazimierz Wielki University in Bydgoszcz, Poland

Open Access. This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution Noncommercial License which permits any noncommercial use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original author(s) and source are credited. This is an open access article licensed under the terms of the Creative Commons Attribution Non Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits unrestricted, non commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly cited.

This is an open access article licensed under the terms of the Creative Commons Attribution Non Commercial License (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/>) which permits unrestricted, non commercial use, distribution and reproduction in any medium, provided the work is properly cited.

The authors declare that there is no conflict of interests regarding the publication of this paper.

Received: 02.10.2016. Revised 02.10.2016. Accepted: 30.10.2016.

УДК 616. 31-002:616. 311. 2-002:616. 314. 17-008. 1:616-08

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ОБГРУНТУВАННЯ СКЛАДУ ТА ВИВЧЕННЯ ТОКСИКОЛОГІЧНИХ ПОКАЗНИКІВ НОВОГО СТОМАТОЛОГІЧНОГО ГЕЛЮ НА ОСНОВІ ЛІЗОЦИМУ ГІДРОХЛОРИДУ

Н. С. Кавушевська, А. І. Березнякова, Т. І. Тюпка

Національний фармацевтичний університет, м. Харків

Резюме

Шляхом експериментальних досліджень анти ексудативної активності 9 зразків гелю на основі лізоциму гідрохлориду на моделях карагенінового набряку було визначено оптимальний склад нового стоматологічного гелю для лікування запальних захворювань м'яких тканин пародонту – гель №2 (0,3% лізоциму гідрохлорид, 2,0% гідроксіетилцелюлоза), дана композиція отримала умовну назву «Лізостом». Згідно з класифікацією к. К. Сидорова гель «Лізостом» відноситься до VI класу токсичності.

Ключові слова: лізоциму гідрохлорид, стоматологічний гель, антиексудативна активність.

EXPERIMENTAL SUBSTANTIATION COMPOSITION AND INVESTIGATION TOXICOLOGICAL ENDEPOINT NEW DENTAL GEL BASED ON LYSOZYME HYDROCHLORIDE

N. S. Kavushevska, A. I. Bereznyarova, T. I. Tyupka

National University of Pharmacy, Kharkiv

Summary

Through experimental research of antiexudation activity of 9 samples of a gel based on the lysozyme hydrochloride on the carragenin edema models was determined the optimal composition of the new dental gel for the treatment of inflammatory diseases of the soft periodontal tissues – gel № 2 (0.3% lysozyme hydrochloride, 2.0% hydroxyethylcellulose) and named “Lizostom”. According to the k. k. Sidorov’s classification the selected gel “Lizostom” sample belongs to the 4th class of toxicity.

Key words: lysozyme hydrochloride, dental gel, antiexudation activity.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ОБОСНОВАНИЕ СОСТАВА И ИЗУЧЕНИЕ ТОКСИКОЛОГИЧЕСКИХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ НОВОГО СТОМАТОЛОГИЧЕСКОГО ГЕЛЯ НА ОСНОВЕ ЛИЗОЦИМА ГИДРОХЛОРИДА

Н. С. Кавушевская, А. И. Березнякова, Т. И. Тюпка

Национальный фармацевтический университет, г. Харьков

Резюме

Путем экспериментальных исследований антиэкссудативной активности 9 образцов геля на основе лизоцима гидрохлорида на модели каррагенинового отека был определен оптимальный состав нового стоматологического геля для лечения воспалительных заболеваний мягких тканей пародонта – гель №2 (0,3% лизоцима гидрохлорид, 2,0% гидроксиэтилцеллюлоза), композиция получил условное название «Лизостом». Согласно классификации К. К. Сидорова гель «Лизостом» относится к VI классу токсичности.

Ключевые слова: лизоцима гидрохлорид, стоматологический гель, антиэкссудативная активность.

Вступ. Запальні захворювання пародонту являють собою одну з найбільш складних проблем сучасної стоматології. Значна розповсюдженість, великий відсоток втрати зубів у пацієнтів, шкідливий вплив осередків пародонтальної інфекції на організм – все це визначає як медичну, так і соціальну значимість цієї проблеми [1].

На фармацевтичному ринку представлена достатня кількість стоматологічних препаратів як природного так і синтетичного походження для лікування запальних захворювань м'яких тканин порожнини роту (стоматитів, гінгівітів, пародонтитів), але їх застосування не завжди дає бажаний результат лікування, тому розробка нових високоефективних засобів та ретельне їх вивчення на предмет безпеки є актуальною задачею, яка на пряму пов'язана з ефективністю лікування [4].

Разом зі співробітниками кафедри заводської технології ліків (завідувач кафедри – д.ф.н., професор Рубан О. А.) був розроблений склад стоматологічного гелю, діючою речовиною якого є лізоциму гідрохлорид. Лізоцим є природнім компонентом багатьох біологічних рідин організму людини (молока, сурфактанту, слізної рідини, слини) і є антибактеріальним бар'єром, який пригнічує ріст грампозитивних бактерій.

В якості лікарської форми перевагу було віддано гелю, оскільки він добре розподіляється та всмоктується слизовою, що зумовлює високу біодоступність діючої речовини. Реологічні властивості гелевої основи сприяє зменшенню дифузії діючої речовини та уповільнює розмивання слиною, що робить можливим зберегти оптимальну концентрацію на ушкодженій ділянці ясен [2].

Враховуючи технологічні, структурно-механічні та фізико-хімічні властивостей була розроблена гелева основа, яка за реологічними показниками та значенням рН відповідає вимогам сучасних основ для використання в стоматології [2].

Мета дослідження – експериментальне огрунтування складу та вивчення показників безпеки нового стоматологічного гелю на основі лізоциму гідрохлориду.

Об'єкт і методи дослідження. Об'єктом дослідження стали зразки гелю різного якісного та кількісного складу, діючою речовиною яких був лізоциму гідрохлорид в різних концентраціях (0,2%, 0,3%, 0,4%). В якості основ використовували гідроксіетилцелюлозу (ГЕЦ) 2,0%, карбопол 1,0%, гідроксіпропілметилцелюлоза (ГПМЦ) 2,0%. Протизапальну активність вивчали на моделі карагенінового набряку стопи задньої кінцівки щурів та оцінювали за здатністю зменшувати екссудативний

набряк [3]. Експеримент проведений на білих нелінійних щурах різної статі масою 160 - 200 г, розділених на 11 експериментальних груп. В якості препарату порівняння було обрано «Метрогіл Дента®» («Юник Фармасьютикал Лабораториз», Індія).

За 60 хвилин до субплантарного введення 0,1 мл 1% водного розчину карагеніну піддослідним тваринам груп № 1 – 9 наносили зразки гелю у різних концентраціях відповідно до номеру групи в дозі 20 мг/см². Тваринам групи №10 наносили препарат порівняння «Метрогіл Дента», № 11 (контрольна патологія) лікування не проводили. Антиексудативну активність оцінювали за здатністю зменшувати набряк задньої стопи дослідних тварин на момент максимального його прояву (через 4 години після субплантарного введення карагеніну) шляхом вимірювання на онкометрі (табл. 2.) [3].

Таблиця 1

Антиексудативна активність зразків стоматологічних гелів на основі лізоциму гідрохлориду на моделі карагенінового набряку у щурів (M±m, n=10)

№ зразка	Склад	Приріст об'єму лапи через 4 год, ум.од.	Антиексудативна активність, %
1	Лізоцим 0,2%, ГЕЦ 2,0%	22,6±2,06*	40,3
2	Лізоцим 0,3%, ГЕЦ 2,0%	19,4±2,07*	43,5
3	Лізоцим 0,4%, ГЕЦ 2,0%	21,9±1,09*	42,2
4	Лізоцим 0,2%, (ГПМЦ) 2,0%	29,3±1,84*	22,7
5	Лізоцим 0,3%, ГПМЦ 2,0%	30,3±1,25*	20,1
6	Лізоцим 0,4%, ГПМЦ 2,0%	29,2±1,46*	23,0
7	Лізоцим 0,2%, карбопол 1,0%	30,3±1,07*	29,2
8	Лізоцим 0,3%, карбопол 1,0%	26,8±1,60*	29,3
9	Лізоцим 0,4%, карбопол 1,0%	24,7±2,12*	34,8
10	Метрогіл Дента	23,3±1,88*	38,5
11	Контрольна патологія (без лікування)	37,9±1,02	-

Примітка. * - $p < 0,05$ відносно показників контрольної групи.

Наступним етапом було дослідження токсикологічних показників. Метою вивчення даних характеристик препарату є одержання інформації щодо небезпечності для здоров'я в умовах короткотривалої дії [5]. Експеримент з гострої токсичності при

епікутанному нанесенні проведено на 30 білих нелінійних щурах масою 260 - 280г. Експериментальні тварини були розділена на 5 груп (по 6 щурів в кожній). На повністю депільовану поверхню шкіри, крім голови, наносили гель, (з концентрацією лізоциму гідрохлориду 0,3%, основою ГЕЦ 2,0%) який отримав умовну назву «Лізостом», у дозах, які відповідали різним класам токсичності сполук, згідно з прийнятою класифікацією (табл. 2) [5].

Таблиця 2

Вивчення гострої токсичності гелю «Лізостом» при нанесенні на шкіру у щурів, (n=6)

№ групи	Доза мг/кг	Кількість загиблих тварин
1	50	0/6
2	150	0/6
3	500	0/6
4	3000	0/6
5 (контроль)	-	0/6

Протягом усього експерименту летальності тварин не відмічено. Впродовж періоду спостережень стан щурів усіх 4 експериментальних груп не відрізнявся від стану тварин контрольної групи, зберігались рефлекторна збудливість та нормальний апетит. Змін кольору сечі та калу, діареї також не відмічено. Поведінка тварин всіх експериментальних груп залишалась незмінною.

Паралельно вели спостереження за показниками функціонального стану шкіри: місцева температура, товщина шкірної складки, електричний опір та рН шкіри. Заміри зазначених показників проводили через 30 хвилин, 24, 48, 72 години після нанесення досліджуваного гелю «Лізостом» (табл. 3.).

Дослідження проведено з дотриманням основних біоетичних положень Конвенції Ради Європи про права людини та біомедицину (від 04.04. 1997 р.), Гельсінської декларації Всесвітньої медичної асоціації про етичні принципи проведення наукових медичних досліджень за участю людини (1964–2008 рр.), а також наказу МОЗ України № 690 від 23.09.2009 р.

Результати досліджень обробляли статистично з використанням t-критерію Стьюдента.

Показники функціонального стану шкіри щурів при вивченні гострої дермальної токсичності гелю «Лізостом», (M±m; n=5)

Умови досліджу	Температура шкіри, °С	Товщина шкірної складки	Електричний опір шкіри, кОм	pH шкіри
Гель «Лізостом»				
Вихідні дані	37,5±0,3	1,9±0,11	4760±440	6,0±0,2
Через 30 хв.	36,2±0,4*	1,8±0,13*	4630±420*	5,8±0,3*
Через 24 год.	36,3±0,5*	1,9±0,10*	4580±510*	5,6±0,1*
Через 48 год.	36,7±0,4*	1,9±0,09*	4610±460*	5,8±0,2*
Через 72 год.	37,2±0,4*	1,9±0,11*	4690±420*	5,8±0,3*
Контроль				
Вихідні дані	37,5±0,4	1,8±0,15	4650±500	5,8±0,5
Через 30 хв.	36,2±0,5	1,7±0,17	4480±460	6,0±0,4
Через 24 год.	36,3±0,6	1,7±0,13	4500±440	5,8±0,3
Через 48 год.	36,6±0,1	1,8±0,14	4530±520	5,8±0,4
Через 72 год.	37,2±0,5	1,8±0,19	4650±470	6,0±0,4

Примітка:* - $p > 0,05$ по відношенню до контролю

Результати досліджень та їх обговорення. В ході скринінгових досліджень при моделюванні карагенінового набряку для дослідження протизапальної активності зразків гелю були отримані результати, які представлені в табл. 1.

В ході експерименту було з'ясовано, всі представлені зразки № 1-9 проявляють антиексудативну дію, зменшуючи виразність гострого запального набряку стопи задньої кінцівки щурів в межах 20,1-43,5%. Найбільш виражену протизапальну дію проявив зразок гелю №2 (43,5%), до складу якого входять 0,3% лізоциму гідрохлориду та 2,0% ГЕЦ. Деяко гірший показник – 42,2%, – у зразка №3 (0,4% лізоциму гідрохлориду, 2,0% ГЕЦ). За антиексудативною дією зразки №2 та №3 перевершують препарат порівняння «Метрогіл Дента» у 1,12 та 1,09 рази відповідно. Відібраний зразок гелю отримав умовну назву «Лізостом».

В ході дослідження гострої дермальної токсичності через 30 хвилин жодних видимих ознак подразнення шкіри у вигляді гіперемії та набряку не спостерігалось. Судячи з даних (табл. 3), температура шкірних покривів через 30 хв. після нанесення гелю знизилась на 1,0-1,4 °С. При замірах через 24 години температурні показники повернулись до вихідних даних і залишалась практично незмінними до кінця експерименту. Змін в товщині шкірної складки щурів не спостерігалось в порівнянні з контролем. Вищевказані дані свідчать про відсутність запальних процесів під впливом досліджуваного гелю «Лізостом».

Зниження показників електричного опору шкіри щурів обох груп свідчить про її зволоження. Показники рН суттєво не змінювались протягом експерименту.

Таким чином, експериментальним шляхом встановлено, щогель «Лізостом» не виявляє токсичної дії. Летальності експериментальних щурів при епікутанному введенні в дозі 3000 мг/кг не спостерігалось. Згідно з загальноприйнятою класифікацією К.К. Сидорова,гель «Лізостом» можна віднести до VI класу токсичності (відносно нешкідливі речовини) [6].

Висновки

1. Експериментально обґрунтовано оптимальний склад нового стоматологічного гелю на основі лізоциму гідрохлориду для лікування запальних захворювань м'яких тканин пародонту, який відповідає зразку гелю №2 (0,3% лізоциму гідрохлориду, гідроксіетилцелюлоза 2,0%), який отримав умовну назву «Лізостом».

2. Гель «Лізостом» за класифікацією К. К. Сидорова відноситься до VI класу токсичності (відносно нешкідливим речовинам).

Перспективи подальших досліджень. Новий стоматологічнийгель наступного складу – 0,3% лізоциму гідрохлориду, з умовною назвою «Лізостом» є перспективним для подальшого та більш поглибленого фармакологічного вивчення з метою створення нового лікарського засобу для місцевого лікування запальних захворювань м'яких тканин пародонту.

Література

1. Гудянов А. И. Заболевания пародонта / А. И. Гудянов. – Медицинское информационное агенство, 2009. – 336 с.

2. Давтян Л. Л. Науково-практичне обґрунтування технології м'яких лікарських форм для стоматології : автореф. дис. на здобуття наук. ступеня доктора фарм. наук :

спец. 15.00.01 «Фармакологія» / Л. Л. Давтян. – К., Київ. мед. акад. післядиплом. освіти ім. П. Л. Шупика, 2006. – 42 с.

3. Доклінічні дослідження лікарських засобів. Методичні рекомендації. За ред. Чл. -кор. АМН України О. В. Стефанова. –Київ, 2001. – С. 528.

4. Машковский М. Д. Лекарственные средства. Издательство шестнадцатое / М. Д. Машковский. – Новая волна, 2010. –1216 с.

5. Пастушенко Т. В. Экспресс-метод определения среднесмертельных доз химических веществ / Т. В. Пастушенко, Л. Б. Маруший, А. А. Жуков, Ю. А. Пилипенко // Гигиена и санитария. – 1985 – №6. – С. 46-48.

6. Сидоров К.К. О классификации токсичности ядов при парентеральных способах введения / К. К. Сидоров. – В кн. : Токсикология новых промышленных химических веществ. – М., 1973. – Вып. 13. – С. 47-57.

References

1. Gudyarov AI Periodontal disease / AI Grudyarov. - Medical Information Agency, 2009. - 336 p.

2. LL Davtian Naukovopraktychne study technology of soft dosage forms for dentistry: Author. Dis. on competition sciences. the degree of Doctor farm. Sciences specials. 15.00.01 "Pharmacology" / LL Davtian. - Kyiv, Kyiv. honey. Acad. pislyadyplom. Education. PLShupyk, 2006. - 42 p.

3. Preclinical studies of medicines. Guidelines. Ed. Tsp. cor. AMS Ukraine AV Stefanova. -Kiev, 2001. - P. 528.

4. Mashkovskii MD Drugs. Publisher sixteenth / MD Mashkovskii. - New Wave, 2010. -1216 p.

5. Pastushenko T. Ekspressmetod determination of the mean doses of chemicals / TV Pastushenko, LB Marush, AA Zhukov, Yu Pilipenko // Hygiene and sanitation. - 1985 - №6. - P. 4648.

6. Sidorov, KK On the classification of poisons toxicity with parenteral methods of administration / KK Sidorov. - In the book. : Toxicology of new industrial chemicals. - М., 1973. - Vol. 13. - P. 4757.