

УДК 615.454.1:615.242

<https://doi.org/10.24959/ubphj.18.166>В. Ю. Анісімов¹, В. О. Гельмбольдт¹, Н. П. Половко², О. П. Стрилець²¹ Одеський національний медичний університет² Національний фармацевтичний університет

УДОСКОНАЛЕННЯ СКЛАДУ КАРІЄСПРОФІЛАКТИЧНОГО ГЕЛЮ

Актуальність. Профілактика карієсу передбачає комплекс заходів, спрямованих на попередження хвороби століття та зміцнення захисних сил організму. Ефективний метод захисту зубів – мінералізація і фторування емалі. Фармакологічні дослідження показали більш високу карієспрофілактичну ефективність «онієвих» гексафторосилікатів у порівнянні з NaF.

Мета роботи. Вивчення антимікробної дії дослідних зразків для удосконалення складу гелю карієспрофілактичної дії з октенідингексафторосилікатом (О-ГФС).

Матеріали та методи. В якості об'єкту дослідження використовували гелі з О-ГФС. Антимікробну активність гелів вивчали *in vitro* методом дифузії в агар (метод «колодязів»). Для візуального вивчення однорідності гелів використовували біоломінесцентний мікроскоп «Люмам-Р1» (РФ).

Результати та їх обговорення. Мікробіологічними дослідженнями встановлена наявність широкого спектра антимікробної дії дослідних зразків, інтенсивність якої підвищується при додаванні ефірних олій. Введення ефірних олій обумовлює додавання співрозчинників або солюбілізаторів. Мікроскопічними дослідженнями показана необхідність застосування ПЕГ-400 ГРО, який в концентрації 0,5 та 0,75 % або полісорбату-80 в концентрації 1 % забезпечують розчинення ефірних олій та прозорість гелю.

Висновки. Гелі з октенідингексафторосилікатом володіють широким спектром антимікробної дії, яка зростає при введенні ефірних олій. Використання солюбілізаторів сприяє розчиненню ефірних олій та отриманню прозорих гелів.

Ключові слова: карієспрофілактичний гель; октенідингексафторосилікат; мікробіологічні дослідження

V. Anisimov, V. Gelmboldt, N. Polovko, O. Strilets

Improvement of careesprophylactic gel composition

Topicality. Prevention of caries involves a complex of actions aimed to prevent the disease of the century and strengthen the body's protective forces. An effective method of protecting teeth – mineralization and fluoridation of enamel. Pharmacological studies have shown high effectiveness of oniyus hexafluorosilicates for caries prophylaxis.

Aim. To study antimicrobial activity of experimental samples for improvement of the composition of gel that have caries prophylactic action with octenidine-hexafluorosilicate (O-GFS).

Materials and methods. O-GFS gels were used as the object of the study. The antimicrobial activity of the gels was studied *in vitro* by the method of diffusion into agar (the method of "wells"). To visualize the homogeneity of gels, a bioluminescent microscope "Lumam-P1" was used.

Results and discussion. Microbiological studies have established the presence of a wide range of antimicrobial action of experimental samples, the intensity of which increases with the addition of essential oils. Insertion of essential oils causes a necessity of addition of co-solvents or solubilizers. Microscopic studies have shown the necessity of using PEG-400 GRO, which provides dissolution of essential oils at concentrations of 0.5 and 0.75 %, or polysorbate-80 at a concentration of 1 %.

Conclusions. Octahedin-hexafluorosilicate gels have a wide spectrum of antimicrobial action, which increases with the insertion of essential oils. The use of solubilizers helps to dissolve essential oils and obtain homogeneous gels.

Key words: caries preventive gel; octenidine-hexafluorosilicate; microbiological research

В. Ю. Анісімов, В. А. Гельмбольдт, Н. П. Половко, О. П. Стрилец

Совершенствование состава кариеспрофилактического геля

Актуальность. Профилактика кариеса предусматривает комплекс мероприятий, направленных на предупреждение болезни столетия и укрепление защитных сил организма. Эффективный метод защиты зубов – минерализация и фторирование эмали. Фармакологические исследования показали высокую кариеспрофилактическую эффективность «ониевых» гексафторосиликатов.

Цель работы. Изучение антимикробного действия опытных образцов для совершенствования состава геля кариеспрофилактического действия с октенидингексафторосиликатом (О-ГФС).

Материалы и методы. В качестве объекта исследования использовали гели с О-ГФС. Противомикробную активность гелей изучали *in vitro* методом диффузии в агар. Для визуального изучения однородности гелей использовали биоломинисцентный микроскоп «Люмам-Р1» (РФ).

Результаты и их обсуждение. Микробиологическими исследованиями установлено наличие широкого спектра антимикробного действия образцов, интенсивность которого повышается при добавлении эфирных масел. Введение эфирных масел обуславливает необходимость введения соразвителей или солюбилизаторов. Микроскопическими исследованиями показана необходимость применения ПЭГ-400 ГКМ, которые в концентрации 0,5 и 0,75 % или полисорбата-80 в концентрации 1 % обеспечивают растворение эфирных масел.

Выводы. Гели с октенидингексафторосиликатом обладают широким спектром антимикробного действия, которое возрастает при введении эфирных масел. Использование солюбилизаторов способствует растворению эфирных масел и получению однородных гелей.

Ключевые слова: кариеспрофилактический гель; октенидингексафторосиликат; микробиологические исследования

ВСТУП

Місцева профілактика карієсу передбачає використання засобів ремінералізуючої дії, які містять кальцій та фосфор. Однак переважна більшість як професійних лікарських карієспрофілактичних засобів, так і косметичних засобів для домашнього використання містить фтор.

Необхідність ефективної профілактики карієсу та превалювання препаратів закордонного виробництва зумовлюють потребу у створенні ефективних і доступних карієспрофілактичних засобів.

В якості карієспрофілактичної речовини обрано октенідингексафторосилікат (О-ГФС), синтезований на базі Одеського національного медичного університету, який виявляє експериментально підтверджену карієспрофілактичну і мінералізуючу дію [1-3].

Експериментально обґрунтована можливість використання напівсинтетичних гелеутворювачів метилцелюлози та гідроксіетилцелюлози, які при введенні електроліту зберігають стабільність при незначному зниженні реологічних параметрів. Стоматологічні гелі окрім карієспрофілактичної і мінералізуючої дії повинні виявляти антимікробні властивості.

Метою роботи було вивчення антимікробної дії дослідних зразків для удосконалення складу гелю карієспрофілактичної дії з октенідингексафторосилікатом (О-ГФС).

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

В якості об'єкту дослідження використовували гелі гідроксіетилцелюлози з О-ГФС, до складу яких вводили ефірні олії. Склад дослідних зразків наведено в табл. 1.

Антимікробну активність гелів вивчали *in vitro* методом дифузії в агар (метод «колодязів»), який ґрунтується на здатності активніючих речовин дифун-

дувати в агарове середовище, яке попередньо інокульовано культурами мікроорганізмів [4, 5].

Результати досліджень характеризують як антимікробну активність препарату, так і вивільнення антимікробних речовин з основи, оскільки зони затримки росту мікроорганізмів утворюються внаслідок дифузії цих речовин у щільне поживне середовище. Усі дослідження виконували в асептичних умовах з використанням ламинарного боксу (кабінет біологічної безпеки АС2-4Е1 «Esco», Індонезія).

Для візуального вивчення однорідності гелів використовували біоломінесцентний мікроскоп «Люмам-Р1» (РФ) при збільшенні у 96 разів. Отримання та обробку фотографій проводили за допомогою програмного забезпечення Scope Photo (version 3.0.12.498).

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

При проведенні мікробіологічних досліджень в якості тест-культур використовували чисті культури: грампозитивні мікроорганізми *Staphylococcus aureus* ATCC 25293, спорову культуру *Bacillus subtilis* ATCC 6633, грамнегативну культуру *Escherichia coli* ATCC 25922. Антифунгальну дію визначали відносно дріжджоподібного гриба роду *Candida* – *Candida albicans* ATCC 885-653. При проведенні дослідів використовували однодобові суспензії бактеріальних мікроорганізмів у фізіологічному розчині та дводобову культуру дріжджоподібного гриба. Мікробна загрузка складала 10^7 колонієутворюючих одиниць мікроорганізмів в 1 мл живого середовища (КУО/мл).

Антимікробну активність визначали відразу після приготування зразків. До чашок Петрі вносили по 10 мл розтопленого «голодного» агару. Після застигання даного нижнього шару агару на його поверхні на рівній відстані один від одного та від краю чашки розміщали 4 стерильних сталевих тонкостінних циліндрів (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 $45-48$ °С агару, змішаного з посівною дозою тест-мікроорганізму. При роботі з бактеріальними культурами для другого шару використовували м'ясо-пептонний агар (МПА), при роботі з дріжджоподібним грибом – агар Сабуро). Після охолодження верхнього шару циліндри виймали стерильним пінцетом і в отримані лунки вносили досліджувані зразки до їх повного заповнення. Чашки Петрі витримували впродовж 30-40 хвилин при кімнатній температурі та поміщали в термостат: бактеріальні культури при температурі $32,5 \pm 2,5$ °С на 18-24 години, культуру дріжджоподібного гриба при $22,5 \pm 2,5$ °С – на 48 годин.

Облік результатів проводили шляхом вимірювання зони пригнічення росту мікроорганізмів, включаючи діаметр лунок. Вимірювання проводили з точністю до 1 мм, при цьому орієнтувались на повну відсутність видимого росту. Діаметр зони затримки

Таблиця 1

СКЛАД ДОСЛІДНИХ ЗРАЗКІВ

Зразок, №	Склад зразка, мас. %
Зразок 1	Основа + 0,3 О-ГФС
Зразок 2	Основа + 0,3 О-ГФС + 0,5 натрію бензоат
Зразок 3	Основа + 0,3 О-ГФС + 0,5 натрію бензоат + 0,5 ефірна олія м'яти
Зразок 4	Основа + 0,3 О-ГФС + 0,5 натрію бензоат + 0,5 ефірна олія евкалипту
Зразок 5	Основа + 0,3 О-ГФС + 0,5 натрію бензоат + 0,5 ефірна олія лаванди
Зразок 6	Основа + 0,3 О-ГФС + 0,5 натрію бензоат + 0,25 ефірна олія м'яти + 0,25 ефірна олія евкалипту
Зразок 7	Основа + 0,3 О-ГФС + 0,5 натрію бензоат + 0,25 ефірна олія м'яти + 0,25 ефірна олія лаванди
Зразок 8	Основа + 0,3 О-ГФС + 0,5 натрію бензоат + 0,25 ефірна олія м'яти + 0,25 ефірна олія евкалипту + 0,25 ефірна олія лаванди

Таблиця 2

РЕЗУЛЬТАТИ АНТИМІКРОБНОЇ АКТИВНОСТІ ЗРАЗКІВ (n = 5)

Зразок	Культури мікроорганізмів			
	<i>S. aureus</i> ATCC 25293	<i>B. subtilis</i> ATCC 633	<i>E. coli</i> ATCC 25922	<i>C. albicans</i> ATCC 885-653
	Діаметри зони затримки росту мікроорганізмів, мм			
1	18,2 ± 0,4	17,8 ± 0,4	16,8 ± 0,4	18,0 ± 0,7
2	19,2 ± 0,4	18,2 ± 0,4	17,0 ± 0,7	18,4 ± 0,5
3	22,4 ± 0,5	19,2 ± 0,4	17,2 ± 0,4	21,2 ± 0,4
4	22,6 ± 0,5	19,0 ± 0,7	17,4 ± 0,5	19,8 ± 0,4
5	22,4 ± 0,5	17,8 ± 0,4	16,8 ± 0,4	20,2 ± 0,4
6	24,0 ± 0,7	21,6 ± 0,5	17,4 ± 0,5	24,6 ± 0,5
7	23,2 ± 0,4	19,8 ± 0,4	17,4 ± 0,5	22,2 ± 0,4
8	22,6 ± 0,5	20,6 ± 0,5	17,2 ± 0,4	22,4 ± 0,5

росту мікроорганізмів характеризував антимікробну активність експериментальних зразків.

У результаті проведених досліджень з вивчення антимікробних властивостей карієспрофілактичних гелів по відношенню до різних культур мікроорганізмів були отримані результати, наведені у табл. 2.

Дані, отримані експериментально та представлені в табл. 2, свідчать про те, що усі досліджувані зразки лікарської форми володіють широким спектром антимікробної дії по відношенню до використаних тест-штамів, а саме до бактерійної грампозитивної (*Staphylococcus aureus* ATCC 25293 і спорової культури *Bacillus subtilis* ATCC 6633) і грамнегативної (*Escherichia coli* ATCC 25922) культур. А також фунгіцидною дією по відношенню до дріжджоподібного гриба роду *Candida* – *Candida albicans* ATCC 885-653. Досліджувані зразки м'якої лікарської форми проявляють помірну активність по відношенню до усіх використаних культур мікроорганізмів – діаметр зон затримки росту тест-культур складає 16-25 мм.

Слід зазначити, що всі обрані тест-культури мікроорганізмів проявили найменшу чутливість до розробленої лікарської форми – оромукозного гелю, а саме до зразків № 1 і № 2 (основа гелю + 0,3 % О-ГФС; основа гелю + 0,3 % О-ГФС + 0,5 % натрію бензоат).

Додавання до складу лікарської форми різних ефірних олій (м'ятної, евкалиптової і лавандової у кількості 0,25 %) дещо посилює антимікробну активність гелю у порівнянні зі зразками № 1 і № 2, але актив-

ність гелів з ефірними оліями практично не відрізняється. Більшу активність мають зразки № 3 та № 4 по відношенню до бактеріальних культур *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli* та до культури дріжджоподібного гриба *Candida albicans*. Отримані експериментальні дані, наведені у табл. 2, показали, що комбінації ефірних олій у складі гелю: зразок № 6 (ефірна олія м'яти і евкалипту), № 7 (ефірна олія м'яти і лаванди) та № 8 (ефірна олія м'яти, евкалипту та лаванди) також суттєво не впливають на антимікробну активність лікарських форм. Антимікробна активність практично однакова, але у зразка № 6, що має ефірні олії м'яти і евкалипту, вона дещо вище у порівнянні зі зразками № 7 і 8 (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Candida albicans*). Додавання ефірних олій до м'якої лікарської форми значно не посилює антимікробну активність, але розширює спектр механізмів дії на мікробну клітину і зменшує можливості появи резистентності у різних культур мікроорганізмів, що надає додаткові позитивні властивості розробленому гелю.

Таким чином, отримані результати дослідів показали, що досліджувані зразки гелів карієспрофілактичної дії володіють широким спектром антимікробної дії, інтенсивність якої підвищується при додаванні ефірних олій.

Проте введення ефірних олій у гідрофільну основу обумовлює необхідність додавання співрозчинників або солюбілізаторів [6]. Властивості солюбілізаторів (поверхнево активних речовин (ПАР)) засновані на їх здатності розчиняти нерозчинні у воді речовини завдяки дифільним властивостям та міцелотворенню. Солюбілізація розглядається як розподіл важкорозчинних гідрофобних речовин між істинним гідрофільним розчином полімерних неньютонівських рідин і міцелами ПАР. Для дослідження були відібрані наступні неіоногенні ПАР, які мають широкий профіль безпеки і досвід застосування у фармації: ПЕГ-40 гідрогенізована рицинова олія в концентрації 0,25; 0,5 та 0,75 % та полісорбат-80 0,5 та 1,0 %.

Для досліджень обирали зразок № 6, який містить по 0,25 % ефірних олій м'яти та евкалипту. Ефірні олії вводили шляхом попереднього змішування з розрахованою кількістю солюбілізатора при нагріванні при температурі близько 40 °С.

Результати мікроскопічного аналізу (рис. 1) показали, що введення 0,25 % ПЕГ-40 ГРО не забезпе-

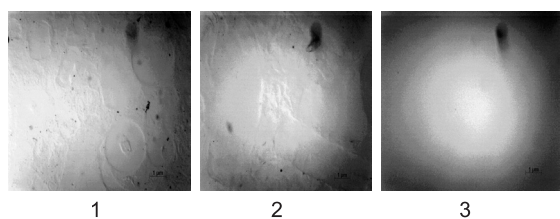


Рис. 1. Мікроскопія дослідних зразків гелів, де 1 містить 0,25 %; 2 – 0,5 %; 3 – 0,75 % ГЕГ-40 гідрогенізованої рицинової олії

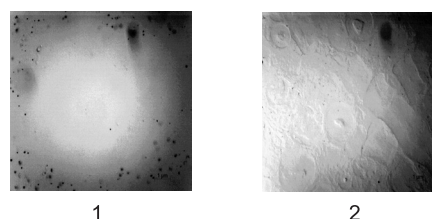


Рис. 2. Мікроскопія дослідних зразків гелів, де 1 містить 0,5 %; 2 – 1,0 %; полісорбат-80

чує повного розчинення суміші ефірних олій в обраній концентрації. При підвищенні вмісту даного солюбілізатора утворюються однорідні прозорі гелі, що вказує на можливість його введення в концентрації 0,5 % (рис. 2). Полісорбат-80 при введенні в концентрації 0,5 % не забезпечує повної солюбілізації олій (рис. 2).

Отже, мікроскопічними дослідженнями показано на необхідність застосування ПЕГ-400 ГРО в концентрації 0,5 та 0,75 % або полісорбату-80 в концентрації 1 %, які забезпечують розчинення ефірних олій та однорідність гелю.

ВИСНОВКИ

Мікробіологічними дослідженнями показано, що гелі з октенідингексафторосилікатом володіють широким спектром антимікробної дії, яка зростає при введенні ефірних олій. За спектром та інтенсивністю антимікробних властивостей обрано гель, що окрім 0,3 % О-ГФС містить по 0,25 % ефірних олій м'яти та евкалипту. Використання ПЕГ-400 ГРО в концентрації 0,5 та 0,75 % або полісорбату-80 в концентрації 1 % сприяє солюбілізації ефірних олій та отриманню прозорих гелів.

Конфлікт інтересів: відсутній.

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. Лікарський засіб у формі гелю для профілактики стоматологічних захворювань. Пат. на винахід № 112620 Україна МПК А 61 К 6/00, А 61 К 9/00, А 61 К 31/44, А 61 К 33/16 / Анісімов В. Ю., Гельмбольдт В. О., Половко Н. П., Левицький А. П. – № а 2015 12112; заявл.: 07.12.2015; опубл.: 26.09.2016. – Бюл. № 18.
2. Gelmboldt, V. O. Synthesis of octenidine hexafluorosilicate as new potential caries preventive and antibacterial agent / V. O. Gelmboldt, V. Yu. Anisimov, I. O. Shyshkin // *Pharmac. Rev.* – 2017. – Vol. 3. – P. 13–16.
3. Lepsky, V. V. Biochemical mechanisms of the caries prophylaxis action of hexafluorosilicates / V. V. Lepsky, V. Yu. Anisimov, V. V. Lepsky // *J. of Education, Health and Sport.* – 2015. – Vol. 5, Issue 11. – P. 289–299.
4. Вивчення специфічної активності антимікробних лікарських засобів : метод. рек. / Ю. Л. Волянський, І. С. Гриценко, В. П. Ширококов та ін. – К., 2004. – 38 с.
5. Державна фармакопея України : в 3 т. / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». – 2-е вид. – Х. : Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів, 2015. – Т. 1. – 1128 с.
6. Допоміжні речовини в технології ліків: вплив на технологічні, споживчі, економічні характеристики і терапевтичну ефективність : навч. посіб. для студ. вищ. фармац. навч. закл. / І. М. Перцев, Д. І. Дмитрієвський, В. Д. Рибачук та ін. ; за ред. І. М. Перцева. – Х. : Золоті сторінки, 2010. – 600 с.

REFERENCES

1. Anisimov, V. Yu., Gelmboldt, V. O., Polovko, N. P., Levytskyi, A. P. (2016). Likarskyi zasib u formi helu dlia profilaktyky stomatolohichnykh zakhvoriuvan. *Ukraine Patent № 112620 MPKA 61 K 6/00, A 61 K 9/00, A 61 K 31/44, A 61 K 33/16.* № а 2015 12112; declared 07.12.2015; published. 26.09.2016, № 18.
2. Gelmboldt, V. O., Anisimov, V. Yu., Shyshkin, I. O. (2017). Synthesis of octenidine hexafluorosilicate as new potential caries preventive and antibacterial agent. *Pharmaceutical review*, 3, 13–16.
3. Lepsky, V. V., Anisimov, V. Yu., Lepsky, V. V. (2015). Biochemical mechanisms of the caries prophylaxis action of hexafluorosilicates. *Journal of Education, Health and Sport*, 5 (11), 289–299.
4. Volianskyi, Yu. L., Hrytsenko, I. S., Shyrobokov, V. P. et al. (2004). *Vyvchennia spetsyfychnoi actyvnosti protymicrobnykh likarskykh zasobiv.* Kyiv, 38.
5. *Derzhavna Farmakopeia Ukrainy (2nd ed.)*. (2015). Kharkiv: Ukrainskyi naukovyi farmacopeinyi tsentr yakosti likarskykh zasobiv, 1128.
6. Pertsev, I. M., Dmytrievskyi, D. I., Rybachuk, V. D. et al. (2010). *Dopomizhni rečovyny v tekhnolohii likiv: vplyv na tekhnologichni, spozhyvchi, ekonomichni kharakterystyky i terapeutychnu efektyvnist.* Kharkiv: Zoloti storinky, 600.

Відомості про авторів:

Анісімов В. Ю., канд. біол. наук, декан фармацевтичного факультету, доцент кафедри фармацевтичної хімії, Одеський національний медичний університет. E-mail: vladimiranisimov@ukr.net. ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-4760-818X>

Гельмбольдт В. О., д-р. хім. наук, професор, завідувач кафедри фармацевтичної хімії, Одеський національний медичний університет. E-mail: vgelmboldt@te.net.ua. ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-8492-964X>

Половко Н. П., д-р фарм. наук, професор, завідувачка кафедри аптечної технології ліків, Національний фармацевтичний університет. E-mail: polovko.np@gmail.com. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-1224-1739>

Стрілець О. П., д-р фарм. наук, професор кафедри біотехнології, Національний фармацевтичний університет. E-mail: oksanastr1970@gmail.com. ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-0846-8663>

Information about authors:

Anisimov V., candidate of Biological Sciences, associate professor of the Department of Pharmaceutical Chemistry, dean of Pharmaceutical faculty, Odessa National Medical University. E-mail: vladimiranisimov@ukr.net. ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-4760-818X>

Gelmboldt V., Doctor of Chemistry, professor of the Department of Pharmaceutical Chemistry, Odessa National Medical University. E-mail: vgelmboldt@te.net.ua. ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-8492-964X>

Polovko N., Doctor of Pharmaceutical Science, professor, head of the Pharmaceutical Technology of Drugs Department, National University of Pharmacy. E-mail: polovko.np@gmail.com. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-1224-1739>

Strilets O., Doctor of Pharmaceutical Science, professor of Biotechnology Department, National University of Pharmacy. E-mail: oksanastr1970@gmail.com. ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-0846-8663>

Сведения об авторах:

Анисимов В. Ю., канд. биол. наук, доцент кафедры фармацевтической химии, декан фармацевтического факультета, Одесский национальный медицинский университет. E-mail: vladimiranisimov@ukr.net. ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-4760-818X>

Гельмбольдт В. О., д-р хим. наук, профессор, заведующий кафедрой фармацевтической химии, Одесский национальный медицинский университет. E-mail: vgelmboldt@te.net.ua. ORCID: <http://orcid.org/0000-0001-8492-964X>

Половко Н. П., д-р фарм. наук, профессор, заведующая кафедрой аптечной технологии лекарств, Национальный фармацевтический университет. E-mail: polovko.np@gmail.com. ORCID: <http://orcid.org/0000-0002-1224-1739>

Стрилец О. П., д-р фарм. наук, профессор кафедры биотехнологии, Национальный фармацевтический университет. E-mail: oksanastr1970@gmail.com. ORCID: <http://orcid.org/0000-0003-0846-8663>

Рекомендована д. фарм. н., професором Т. Г. Ярних

Надійшла до редакції 06.04.2018 р.