МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ О.О.БОГОМОЛЬЦЯ

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

ГРУДНИЦЬКА ОЛЕНА ОЛЕГІВНА

УДК 615.276:615.454.1].03.099:616.3-002-085

ДИСЕРТАЦІЯ
РОЗРОБКА ТА ОБҐРУНТУВАННЯ ЗАСТОСУВАННЯ НОВОГО ОРОМУКОЗАЛЬНОГО ГЕЛЮ ДЛЯ ЛІКУВАННЯ ЗАПАЛЬНИХ ЗАХВОРЮВАНЬ ПОРОЖНИНИ РОТА

Галузь знань 22 «Охорона здоров'я»
Спеціальність 221 «Стоматологія»

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії

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

Грудницька Олена Олегівна
Автор цифрового підпису Грудницька Олена Олегівна
Дата: 2025.04.24 10:14:50 +02'00'

О.О. Грудницька

Наукові керівники:

Маланчук Владислав Олександрович
чл.-кор. НАМН України, д.мед.н., професор

Зайченко Ганна Володимирівна
д.мед.н., професор

КИЇВ – 2025

АНОТАЦІЯ

Грудницька О.О. Розробка та обґрунтування використання нового оромукозального гелю для лікування запальних захворювань порожнини рота. - Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії з галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 221 «Стоматологія». – Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, Київ, 2025.

У дисертаційній роботі теоретично та експериментально обґрунтовано вирішення актуального наукового завдання сучасної стоматології – підвищення ефективності лікування запальних захворювань порожнини рота шляхом розробки нового оромукозального гелю комбінованого складу.

Протягом останніх десятиліть панує стійка світова тенденція зростання кількості стоматологічних захворювань, серед яких домінують патології слизової оболонки ротової порожнини та тканин пародонту. Згідно з інформацією Всесвітньої організації охорони здоров'я, у майже 90 % дорослого населення і у близько 80 % дітей виявляють симптоми зазначених патологій, що зумовлено впливом зовнішніх факторів, культури харчування, соціального становища, професійної діяльності, шкідливих звичок та генетики.

Не дивлячись на вдосконалення консервативних методів лікування та профілактики карієсу, серед операцій у щелепно-лицевій ділянці провідне місце посідає операція видалення зубу. Разом зі збільшенням кількості проведених операцій амбулаторного видалення зубів, зберігається тенденція до збільшення запальних ускладнень після екстракції зубів, зокрема, альвеоліту (Kiencało A, Jamka-Kasprzyk M, Panaś M, Wyszyńska-Pawelec G. Analysis of complications after the removal of 339 third molars. Dent Med Probl. 2021 Jan-Mar;58(1):75-80), спричиненого загальними та місцевими факторами (Lee CT, Zhang S, Leung YY, Li SK, Tsang CC, Chu CH. Patients' satisfaction and

prevalence of complications on surgical extraction of third molar. Patient Prefer Adherence. 2015;9:257-63). Водночас, залишається актуальною проблема лікування таких уражень слизової оболонки порожнини рота, як локальні гінгівіти, локальні стоматити в ділянці оро-антрального сполучення, післяопераційні ускладнення лоскутних операцій при пародонтиті та інші. Неефективне лікування запальних захворювань призводить до розповсюдження запалення, а разом з тим і збільшується тяжкість патології – розвиваються флегмони, абсцеси, остеомієліти, що тягне за собою стаціонарне лікування хворих, залучення економічних, людських ресурсів тощо. Отже, розробка нових ефективних методів та засобів для профілактики та лікування запальних патологій слизової оболонки порожнини рота залишається актуальним науковим завданням сучасної стоматології.

Для лікування запальних патологій ротової порожнини найчастіше застосовують лікарські засоби місцевої дії. Основна вимога, що висувається до стоматологічних лікарських препаратів для лікування та профілактики вищенаведених патологічних станів, є мультимодальна дія – здатність впливати на мікробний, запальний, больовий компонент патології, тобто на всі ланки патогенезу запального процесу.

Однією з найдієвіших лікарських форм (ЛФ) для оромукозального застосування, яка забезпечує тривалий і комплексний вплив на слизову оболонку порожнини рота та тканини пародонту, є стоматологічний гель. Найбільш ефективною оромукозальною лікарською формою (ЛФ), що дозволяє реалізувати полівалентну і пролонговану дію на тканини пародонту та слизової оболонки, є гелева форма препарату. Проте на сучасному фармацевтичному ринку України недостатньо лікарських засобів, які б цілком відповідали вищезазначеним критеріям. Наявні лікарські форми або не мають тривалої адгезії до слизової оболонки та швидко змиваються слиною, або мають обмежену кількість фармакологічних ефектів і не пригнічують усі ланки патогенезу запалення, одночасно впливаючи на мікробний компонент тощо. Тому нами разом з кафедрою заводської технології ліків Національного

фармацевтичного університету (завідувачка кафедри – д.фарм.н., професор Рубан О.А.) було розроблено новий оромукозальний гель комбінованого складу під умовною назвою «Холідент». Перевага зазначеної ЛФ полягає в забезпеченні локального терапевтичного ефекту за рахунок місцевого нанесення і утримання лікарського засобу на поверхні слизової оболонки, фіксації завдяки покращеним біоадгезивним властивостям, мінімізації вимивання слиною та більш тривалого контакту компонентів препарату з тканинами, створення відносно високої концентрації активних фармацевтичних інгредієнтів (АФІ) і їх швидкого проникнення крізь слизові оболонки у капіляри, що значно підвищує біодоступність діючих речовин. До складу нової фармацевтичної композиції у формі гелю включено комбінацію АФІ природнього та синтетичного походження, а саме: настойку «Фітодент» (виробник — ПАТ «ХФЗ “Червона зірка”», Україна), 80 % холіну саліцилат (виробник — Basf Pharma, Швейцарія) та лідокаїну гідрохлорид (виробник — Societa Italiana Medicinali Scandicci, Італія). Саме такі складові нового гелю забезпечують мультимодальну дію при ураженнях слизової оболонки ротової порожнини. З метою підвищення біодоступності гелю, що розробляється, забезпечення його покращених біофармацевтичних характеристик і, відповідно, пролонгованої дії, у якості мукоадгезивних полімерів, дозволених для орального застосування, було запропоноване поєднання карбомеру Polacril 40P (виробник — Amedeo Brasca & C. Srl, Італія) з гелевим компонентом OraRez® W-100L16 (BOAI, Китай), обране на підставі попередніх мікробіологічних, реологічних, адгезивних та осмотичних досліджень.

Підсумовуючи вищезазначене, розробка та фармакологічне дослідження нових оромукозальних лікарських засобів для лікування запальних захворювань слизової оболонки порожнини рота є надзвичайно актуальною і дуже гостро стоїть питання недосконалості існуючих топічних форм для терапії та профілактики.

Мета дослідження полягає в розробці та обґрунтуванні застосування нового оромукозального гелю для лікування запальних захворювань порожнини рота.

Завдання дослідження:

1. Проаналізувати стан проблеми лікування запальних патологій слизової оболонки порожнини рота в Україні та обґрунтувати доцільність розробки нових топічних лікарських засобів.

2. Провести скринінгове дослідження оромукозального гелю для визначення в складі лікарської форми оптимального вмісту лідокаїну гідрохлориду.

3. Провести вивчення анальгетичної, антиексудативної та репаративної активності досліджуваного гелю на моделі карагенінового, каолінового запалення та на моделі термічного опіку у тварин.

4. Дослідити окремі показники безпеки оромукозального гелю в дослідженнях на клітинних культурах in vitro.

5. Узагальнити фармакологічні властивості нового оромукозального гелю комбінованого складу і обґрунтувати його застосування при запальних захворюваннях порожнини рота.

Об'єкт дослідження – запальні захворювання порожнини рота в експерименті.

Предмет дослідження – фармакологічні властивості нового оромукозального гелю комбінованого складу.

Методи дослідження:

1. Фармакологічні (визначення ефективної дози, карагенінова модель гострого ексудативного запалення, каолінова модель гострого запалення, модель термічного опіку в експерименті на лабораторних тваринах).

2. Токсикологічні (дослідження цитотоксичної дії на клітинних культурах in vitro).

3. Мікроскопічні гістологічні (морфологічна оцінка ефективності гелю).

4. Статистичні (методи статистичного аналізу результатів).

Дизайн досліджень був затверджений 31.01.2022р. на засіданні Комісії з питань біоетичної експертизи та етики наукових досліджень, що діє при Національному університеті імені О.О. Богомольця (протокол №155).

З метою оцінки антиексудативної (протизапальної) дії розробленого гелевого засобу використовували модель запалення, індукованого каоліном. У дослідженні брали участь лабораторні тварини — білі щури, розподілені на дві групи по шість особин. Ефективність досліджуваного гелю співставляли з препаратом порівняння — гелем «Камістад®», виробництва STADA Arzneimittel AG, Німеччина. На моделі карагенінового набряку стопи у щурів досліджуваний оромукозальний гель «Холідент» достовірно зменшував місцеву запальну реакцію, виявляв помірну антиексудативну дію, що реалізувалася через 1,5–2 год після введення флогогенного агенту, та мав більш тривалу дію у порівнянні з референтним препаратом «Камістад®» (STADA Arzneimittel AG, Німеччина).

Для дослідження анальгезуючої активності нового гелю було використано модель карагенінового запалення і вимірювання порогу больової чутливості методом аналгезіметрії. Лабораторних тварин (щурі лінії Вістар) поділили на дві групи по 5 особин у кожній. Після моделювання гострого запалення першій групі було нанесено досліджуваний гель, другій – референтний препарат «Камістад®». Вимірювався поріг больової чутливості: вихідний, на піку больової реакції, після нанесення гелей, а також розраховувався процент зміни порогу больової чутливості до вихідного рівня.

Попри нижчий вміст лідокаїну (1,5 %) у порівнянні з референтним препаратом (2,0 %), запропонований стоматологічний гель демонструє більш виражену анальгетичну дію вже з моменту аплікації та сприяє швидшому відновленню больового порогу, забезпечуючи статистично достовірний знеболювальний ефект.

Репаративна активність була вивчена на моделі термічного опіку шкіри щурів. Тварини були розподілені на групи, які отримували лікування, і на групи контрольної патології. У результаті проведення даного дослідження,

виконаного на експериментальній моделі термічного опіку, було доведено, що стоматологічний гель «Холідент» чинить виражену репаративну дію, сприяючи активації проліферативної активності клітин епідермісу та стимуляції ангіогенезу в зоні опіку, що супроводжувалося зменшенням локального запального процесу.

Дослідження токсичності заявленого гелю були проведені на культурах клітин епідермоїдної карциноми ротової порожнини рота людини та на культурі диплоїдних фібробластів людини в експериментальних моделях *in vitro*. Визначався рівень продукції активних форм кисню, мітохондріальної активності, показників загибелі та життєздатності клітин, в якості референтного препарату було обрано хлоргексидин. Дослідження впливу 24-годинної експозиції діючих речовин стоматологічного гелю на життєздатність клітин культури КВ та фібробластів показало, що препарат фітодент чинив найменшу, а холіну саліцилат – найбільшу цитотоксичну дію. Стоматологічний гель проявляв меншу цитотоксичну дію порівняно із референтним препаратом – хлоргексидином. За результатами оцінки рівня продукції АФК в пухлинних клітинах після експозиції їх з препаратами було показано подібність дії тест-зразку із препаратом порівняння ХГ тільки в більшій з досліджених доз – 3 %: рівень продукції АФК був оцінений в 100 балів після дії ХГ та 90-95 після дії тест-зразку (стоматологічного гелю), тоді як в концентрації препарату 0,5 % тест-зразок викликав в 2,8 разів менше підвищення рівня продукції АФК клітинами в порівнянні з ХГ. Під час оцінки показників загибелі клітин внаслідок дії тест-зразку було виявлено статистично значуще підвищення відсотка клітин на стадіях раннього та пізнього апоптозу відносно контролю тільки у більшій концентрації препарату (3 %).

Отримані результати доводять необхідність подальших доклінічних та клінічних досліджень нового стоматологічного гелю та впровадження його в практику лікування запальних захворювань порожнини рота. На основі проведених досліджень буде розширено асортимент топічних лікарських засобів, що застосовуються при лікуванні запальних захворювань порожнини

рота. Це дозволить здійснити імпортозаміщення в даній фармакологічно-терапевтичній групі ліків, покращити результати лікування.

Ключові слова: стоматологічний препарат, оромукозальний гель, запальні захворювання порожнини рота, слизова оболонка порожнини рота, генералізований пародонтит, гінгівіт, холіну саліцилат, фітодент, лідокаїн, протизапальна активність, топічні стоматологічні лікарські форми.

SUMMARY

Hrudnytska O. "Development and substantiation of the use of a new oromucosal gel for the treatment of inflammatory diseases of the oral cavity" – Qualification scientific work as a manuscript.

Dissertation for the degree of Doctor of Philosophy in the field of knowledge 22 "Health care" on a specialty 221 "Dentistry" – Bogomolets National Medical University, Kyiv, 2025.

This scientific study provides both theoretical reasoning and experimental evidence for addressing a pressing issue in contemporary dentistry — enhancing the treatment outcomes of oral inflammatory conditions through the formulation of a novel dental gel with a combined active composition.

In recent decades, the world has seen an upward trend in dental pathologies, with periodontal disease, oral mucosa, and similar etiologies arising from the use of dentures of various designs taking the leading place. According to the WHO, about 95% of the world's adult population and 80% of children have some signs of these pathologies, which is due to climatic conditions, diet, social, occupational and hereditary factors.

Despite the improvement of conservative methods of treatment and prevention of caries, tooth extraction is still the leading surgery in the maxillofacial area. Along with the increase in the number of outpatient tooth extraction operations (Kiencalo A., 2021), there is a tendency to increase inflammatory complications after tooth extraction, in particular, alveolitis caused by general and local factors (Lee CA, 2015). At the same time, managing localized inflammatory conditions of the oral mucosa, such as gingivitis, local stomatitis in the oro-antral junction, postoperative complications of flap surgery for periodontitis etc remains a significant clinical challenge. Ineffective treatment of inflammatory diseases leads to the spread of inflammation, and at the same time increases the severity of the pathology - phlegmon, abscesses, osteomyelitis develop, which entails inpatient treatment of

patients, involvement of economic and human resources, etc. Thus, the development of new effective methods and means for the prevention and treatment of inflammatory pathologies of the oral mucosa remains an urgent scientific task of modern dentistry.

For the treatment of inflammatory pathologies of the oral cavity, topical medicines are most often used. The main requirement for dental medicines for the treatment and prevention of the above pathological conditions is multimodal action - the ability to affect the microbial, inflammatory, painful components of the pathology, i.e. all links in the pathogenesis of the inflammatory process.

Among oromucosal drug delivery systems, the gel formulation is considered the most effective, as it enables sustained and multi-targeted action on both the periodontal tissues and oral mucosa. However, the current pharmaceutical market of Ukraine lacks medicinal products that fully meet the above criteria. The available dosage forms either do not have long-term adhesion to the mucous membrane and are quickly washed off with saliva, or have a limited number of pharmacological effects and do not suppress all links in the pathogenesis of inflammation, while simultaneously affecting the microbial component, etc. Therefore, we, together with the Department of Factory Drug Technology of the National University of Pharmacy (Head of the Department - Doctor of Pharmacy, Professor O.A. Ruban), have developed a new oromucosal gel of combined composition, conventionally called «Holident». The advantage of this drug product is to provide a local therapeutic effect due to local application and retention of the drug on the surface of the mucous membrane, fixation due to improved bioadhesive properties, minimisation of saliva washout and longer contact of the drug components with tissues, creation of a relatively high concentration of active pharmaceutical ingredients and their rapid penetration through the mucous membranes into the capillaries, which significantly increases the bioavailability of active substances. The innovative gel-based pharmaceutical formulation includes a synergistic blend of active ingredients derived from both natural and synthetic sources: «Fitodent» tincture (manufactured by Chervona Zirka, Ukraine), 80% choline salicylate (Basf Pharma, Switzerland),

and lidocaine hydrochloride (Societa Italiana Medicinali Scandicci, Italy). This combination ensures a comprehensive therapeutic effect on the damaged tissues within the oral cavity. In order to improve the bioavailability of the developed gel, provide it with good biopharmaceutical characteristics and, accordingly, prolonged action, a combination of Polacril 40P carbomer (Amedeo Brasca & C. Srl, Italy) with OraRez® W-100L16 (BOAI, China) was proposed as mucoadhesive polymers approved for oral use, selected on the basis of preliminary microbiological, rheological, adhesive and osmotic studies.

In summary, the creation and pharmacological evaluation of novel oromucosal agents for managing inflammatory conditions of the oral mucosa remain highly relevant, highlighting the ongoing need to improve existing topical formulations used for both treatment and prevention.

This study aims to formulate and provide scientific justification for the use of a new oromucosal gel designed to treat inflammatory conditions of the oral cavity.

Primary research tasks:

1. To examine the current situation regarding the management of oral mucosal inflammatory conditions in Ukraine and to substantiate the necessity for creating novel topical pharmaceutical agents.

2. To perform a screening analysis of the dental gel in order to identify the most effective concentration of lidocaine hydrochloride within the formulation.

3. To evaluate the analgesic, anti-exudative, and tissue-repairing properties of the developed gel using animal models of carrageenan- and kaolin-induced inflammation, as well as thermal burn injury.

4. Investigate the toxicological characteristics of the gel in in vitro cell culture studies.

5. To summarise the pharmacological efficacy of the investigated dosage form in inflammatory diseases of the oral cavity and to determine the next stages of experimental and clinical trials.

Object of study - inflammatory diseases of the oral cavity.

Subject of study - dental gel of combined composition.

Research methods:

1. Pharmacological (determination of the effective dose, carrageenan model of acute exudative inflammation, kaolin model of acute inflammation, model of thermal burn in the experiment on laboratory animals).

2. Toxicological (in vitro cytotoxicity studies on cell cultures).

3. Microscopic histological (morphological evaluation of the gel effectiveness).

4. Statistical (methods of statistical analysis of results).

The research protocol received approval from the Commission for Bioethical Evaluation and Scientific Research Ethics affiliated with Bogomolets National Medical University (Chairman of the Commission - Doctor of Medicine, Professor L.V. Natrus).

To determine the antiexudative activity of the new gel, a model of kaolin inflammation was used, white Wistar rats (2 groups of 6 animals each) were used as laboratory animals. A comparison was made with the reference drug, «Kamistad®» gel (STADA Arzneimittel AG, Germany). On the model of carrageenan edema of the foot in rats, the studied dental gel «Holident» significantly reduced the local inflammatory reaction, showed a moderate anti-exudative effect, which was realised 1.5-2 hours after the administration of the phlogogenic agent, and had a longer effect compared to the reference drug «Camistad®» (STADA Arzneimittel AG, Germany).

To investigate the analgesic activity of the new gel, a model of carrageenan inflammation was used and the pain sensitivity threshold was measured by analgesimetry. Laboratory animals (Wistar rats) were divided into two groups of 5 animals each. After simulating acute inflammation, the first group was treated with the test gel, and the second group with the reference drug Kamistad® (STADA Arzneimittel AG, Germany). The threshold of pain sensitivity was measured: initially, at the peak of the pain reaction, after application of the gels, and the percentage of change in the threshold of pain sensitivity to the initial level was calculated.

Although the lidocaine content in the proposed dental gel is lower (1.5 %) compared to the reference formulation (2.0 %), it demonstrates a more pronounced antinociceptive response shortly after administration and accelerates the recovery of pain sensitivity, indicating a statistically significant analgesic effect.

The reparative activity was studied in a rat skin thermal burn model. The animals were divided into treatment and control groups. The burn wound model confirmed the ability of Holident gel to stimulate reparative processes and reduce the local inflammatory response, which was manifested by an increase in mitosis and increased angiogenesis in the affected area.

Toxicity studies of the claimed gel were conducted on cultures of human oral epidermoid carcinoma cells and on a culture of human diploid fibroblasts in in vitro experimental models. The level of reactive oxygen species production, mitochondrial activity, cell death and cell viability were determined, and chlorhexidine was chosen as a reference drug. The study of the effect of 24-hour exposure to the active substances of the dental gel on the viability of cultured CV cells and fibroblasts showed that the drug phytodent had the least, and choline salicylate - the greatest cytotoxic effect. The dental gel had a lesser cytotoxic effect compared to the comparison drug chlorhexidine. According to the results of the assessment of the level of ROS production in tumour cells after exposure to the drugs, the similarity of the test sample to the comparison drug CHG was shown only in the highest of the studied doses - 3%: the level of ROS production was estimated at 100 points after exposure to CHG and 90-95 after exposure to the test sample (dental gel), while at a drug concentration of 0.5 % the test sample caused a 2.8-fold decrease in the level of ROS production by cells compared to CHG. When assessing the cell death rates due to the test sample, a statistically significant increase in the percentage of cells in the stages of early and late apoptosis was shown relative to the control only at a higher concentration of the drug (3 %).

The findings confirm the necessity for continued preclinical and clinical evaluation of the newly developed dental gel, with a view to its eventual implementation in the management of oral inflammatory conditions. The

introduction of this formulation will broaden the assortment of topical therapeutic agents available for such pathologies, support domestic production as an alternative to imported drugs, and contribute to enhanced treatment effectiveness.

Key words: dental gel, inflammatory diseases of the oral cavity, oral mucosa, generalised periodontitis, gingivitis, choline salicylate, phytodent, anti-inflammatory activity, topical dental dosage forms.

СПИСОК ОСНОВНИХ ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Маслій, Ю. С., Рубан, О. А., Зайченко, Г. В., & Грудницька, О. О. (2020). Патент на винахід № 122021. Фармацевтична композиція багатоспрямованої дії у формі стоматологічного гелю. Опубліковано 25 серпня 2020 р., Бюл. № 12. *(Автором зібрано матеріал, проаналізовано літературні джерела, статистично оброблено отримані результати, спільно зі співавторами сформульовано висновки).*

2. Maslii, Y. S., Hrudnytska, O. O., Ruban, O. A., & Zaychenko, G. V. (2019). Justification of local anesthetic and choice of its concentration in composition of dental gel. Farm Zhurnal, (3), 49–55. https://doi.org/10.32352/0367-3057.3.19.06 *(Автором зібрано матеріал, проаналізовано літературні джерела, статистично оброблено отримані результати, спільно зі співавторами сформульовано висновки)*

3. Hrudnytska, O. O., Maslii, Y. S., Ruban, O. A., & Zaychenko, G. V. (2020). Pharmacological studies of the dental gel of combined composition. Achievements of Clinical and Experimental Medicine, 3(43), 13–19. https://doi.org/10.11603/1811-2471.2020.v.i3.11577 *(Автором зібрано матеріал, запропоновано дизайн дослідження, статистично оброблено отримані результати, спільно зі співавторами сформульовано висновки)*

4. Hrudnytska, O., Zaychenko, G., Malanchuk, V., Apykhtina, O., Maslii, Y., & Ruban, O. (2024). Evaluation of the effectiveness and safety of a new dental gel in experimental in vitro model systems. Prosthodontics, 74 (2), 116–128. https://doi.org/10.5114/ps/189407 *(Автором зібрано матеріал, проаналізовано літературні джерела, статистично оброблено отримані результати, спільно зі співавторами сформульовано висновки).*

НАУКОВІ ПРАЦІ, ЯКІ ЗАСВІДЧУЮТЬ АПРОБАЦІЮ МАТЕРІАЛІВ ДИСЕРТАЦІЇ

5. Грудницька, О. О., Маслій, Ю. С., Зайченко, Г. В., & Рубан, О. А. (2019). Дослідження протизапальної активності нового стоматологічного гелю комбінованого складу. *Тези доповідей ІІ науково-практичної інтернет-конференції з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція»,* 21 листопада 2019 р., м. Харків, НФаУ. С. 126.

6. Грудницька, О. О., Маслій, Ю. С., Зайченко, Г. В., & Рубан, О. А. (2019). Дослідження репаративної активності нового стоматологічного гелю комбінованого складу. *Матеріали науково-практичної інтернет-конференції* «*Актуальні питання клінічної фармакології та фармації»,* 22–23 жовтня 2019 р., м. Харків, НФаУ. С. 293.

7. Грудницька, О. О., & Маланчук, В. О. (2023). Обґрунтування використання нового стоматологічного гелю комбінованого складу. *Збірник тез VIII З'їзду Української Асоціації черепно-щелепно-лицевих хірургів,* 12 травня 2023 р., м. Київ.

СПИСОК ДОДАТКОВИХ ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

8. Маслій, Ю. С., Рубан, О. А., Грудницька, О. О., & Зайченко, Г. В. (2019). Патент на корисну модель № 135187. Фармацевтична композиція багатоспрямованої дії у формі стоматологічного гелю. Опубліковано 25 червня 2019 р., Бюл. № 12. *(Автором зібрано матеріал, проаналізовано літературні джерела, статистично оброблено отримані результати, спільно зі співавторами сформульовано висновки)*

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ 19

ВСТУП 20

РОЗДІЛ 1 СУЧАСНИЙ ПОГЛЯД НА ПРОБЛЕМУ ЛІКУВАННЯ ЗАПАЛЬНИХ ЗАХВОРЮВАНЬ ПОРОЖНИНИ РОТА (АНАЛІТИЧНИЙ ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ) 27

1.1. Поширеність запальних захворювань порожнини рота 27

1.2. Особливості фармакологічної корекції запальних станів порожнини рота 31

1.3. Огляд сучасного фармацевтичного ринку лікарських засобів, доступних лікареві-стоматологу для місцевого лікування запальних захворювань порожнини рота 39

1.4. Визначення напрямів наукового пошуку та постановка конкретних дослідницьких задач 47

Висновки до розділу 1 48

РОЗДІЛ 2 ДИЗАЙН, МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ 50

2.1. Предмет дослідження 50

2.2. Планування та етапи дослідження 53

2.3. Вивчення антиноцицептивної активності стоматологічного гелю 55

2.4. Дослідження антиексудативної активності нового стоматологічного гелю 59

2.5. Дослідження репаративної активності нового оромукозального гелю. 61

2.6. Дослідження токсикологічних характеристик нового оромукозального гелю 63

2.7. Вибір та обґрунтування методів статистичної обробки результатів досліджень 74

Висновки до розділу 2 76

РОЗДІЛ 3 РЕЗУЛЬТАТИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ВИВЧЕННЯ ДОСЛІДЖУВАНОГО СТОМАТОЛОГІЧНОГО ГЕЛЮ КОМБІНОВАНОГО СКЛАДУ 78

3.1. Результати дослідження анальгетичної активності 78

3.2. Результати дослідження антиексудативної активності 83

3.3. Результати дослідження репаративної активності нового стоматологічного гелю 85

3.4. Оцінка ефективності та безпечності стоматологічного гелю в експериментальних модельних системах in vitro 89

3.4.1. Оцінка цитотоксичної дії стоматологічного гелю та його діючих речовин на клітини епідермоїдної карциноми людини 90

3.4.2. Дослідження цитотоксичної дії стоматологічного гелю на культурі клітин фібробластів людини 97

3.4.3. Дослідження впливу препаратів на мітохондріальну активність клітин культури КВ 104

3.4.4. Оцінка впливу досліджуваного стоматологічного гелю на рівень продукції активних форм кисню клітинами лінії КВ 106

3.4.5. Визначення показників загибелі клітин лінії КВ після дії тест-агенту (стоматологічний гель) 107

Висновки до розділу 3 112

РОЗДІЛ 4 ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ТА ВИСНОВКИ 115

ВИСНОВКИ 124

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ 127

ДОДАТКИ 146

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

ЛФ – лікарська форма;

СОПР – слизова оболонка порожнини рота;

АФІ – активний фармацевтичний інгредієнт;

ХРАС – хронічний рецидивуючий афтозний стоматит;

НПЗЗ – нестероїдний протизапальний лікарський засіб;

КП – контрольна патологія;

ФСТ – фетальна сироватка телят;

ДМСО – диметилсульфоксид;

DCFH - 2',7'-дихлордигідрофлуоресцеїн;

АФК – активні форми кисню;

DCF - 2',7'-дихлорофлуоресцеїну;

ФСБ – фосфатно-сольовий буфер;

АА – анальгетична активність;

ПБЧ – поріг больової чутливості.

ВСТУП

Актуальність теми. В останні десятиліття у світі спостерігається тенденція до зростання стоматологічних патологій [1-9]. Не дивлячись на вдосконалення консервативних методів лікування та профілактики карієсу, серед операцій у щелепно-лицевій ділянці провідне місце посідає операція видалення зубу. Разом зі збільшенням кількості проведених операцій амбулаторного видалення зубів, зберігається тенденція до збільшення запальних ускладнень після екстракції зубів, зокрема, альвеоліту [10, 11], спричиненого загальними та місцевими факторами [12]. Водночас, залишається актуальною проблема лікування таких уражень слизової оболонки порожнини рота, як локальні гінгівіти, локальні стоматити в ділянці оро-антрального сполучення, післяопераційні ускладнення лоскутних операцій при пародонтиті та інші. Неефективне лікування запальних захворювань призводить до розповсюдження запалення, а разом з тим і збільшується тяжкість патології – розвиваються флегмони, абсцеси, остеомієліти, що тягне за собою стаціонарне лікування хворих, залучення економічних, людських ресурсів тощо. Отже, розробка нових ефективних методів та засобів для профілактики та лікування запальних патологій слизової оболонки порожнини рота залишається актуальним науковим завданням сучасної стоматології.

Для лікування запальних патологій ротової порожнини найчастіше застосовують лікарські засоби місцевої дії, оскільки саме вони забезпечують пряму доставку активних речовин до вогнища ураження, зменшуючи системне навантаження на організм і ризик побічних ефектів. Місцеві препарати дозволяють досягти високої концентрації діючої речовини у зоні запалення, що сприяє швидкому зменшенню симптоматики — болю, набряку, гіперемії — та покращенню загального стану пацієнта. Крім того, зручність застосування та легка переносимість роблять топічні засоби найбільш

доцільними для лікування широкого спектра стоматологічних захворювань, зокрема гінгівітів, стоматитів, пародонтитів тощо.

Основною вимогою, що висувається до сучасних стоматологічних лікарських засобів для лікування та профілактики запальних станів, є мультимодальна дія — здатність впливати одночасно на декілька ключових патогенетичних ланок захворювання. Ідеальний препарат повинен поєднувати антисептичну активність для боротьби з мікробною флорою, протизапальний ефект для пригнічення медіаторів запалення, а також аналгетичну дію**,** що забезпечує зменшення больового синдрому. Наявність репаративних та антиоксидантних властивостей також є бажаною характеристикою, що сприяє відновленню слизової оболонки та покращенню загального перебігу захворювання.

Саме такі багатокомпонентні підходи є перспективними у створенні ефективних лікарських форм нового покоління.

Найбільш ефективною оромукозальною лікарською формою, що дозволяє реалізувати полівалентну, локальну та пролонговану дію на тканини пародонту і слизової оболонки порожнини рота, є гелева форма. Завдяки своїй м’якій консистенції, здатності до біоадгезії та поступового вивільнення активних речовин, гелі забезпечують тривалий контакт із ураженою ділянкою та зручність застосування. Це особливо важливо для топічної терапії в умовах постійного механічного, температурного та хімічного впливу в порожнині рота, де зберегти лікарську форму на поверхні слизової досить складно. Гелева основа також дозволяє поєднувати кілька фармакологічних речовин, що дає змогу створювати препарати з комплексною, мультимодальною дією.

Незважаючи на значні переваги гелевих лікарських форм, на сучасному фармацевтичному ринку України спостерігається дефіцит препаратів, які б повністю відповідали вимогам до ідеального засобу для лікування запальних захворювань порожнини рота. Частина з них характеризується низькою адгезивністю, внаслідок чого препарат швидко змивається слиною і не встигає проявити очікувану терапевтичну дію. Інші — мають обмежений спектр

фармакологічних властивостей: лише антисептичну або знеболювальну активність без протизапальної чи репаративної дії. Це значно знижує їх ефективність у комплексному лікуванні та профілактиці інфекційно-запальних захворювань слизової оболонки порожнини рота та пародонту, що зумовлює актуальність створення нових високоефективних гелевих засобів із мультимодальним механізмом дії.

Тому нами разом з кафедрою заводської технології ліків Національного фармацевтичного університету (завідувачка кафедри – професор, д.фарм.наук Рубан О.А.) було розроблено новий оромукозальний гель комбінованого складу. Перевага зазначеної ЛФ полягає в забезпеченні локального терапевтичного ефекту за рахунок місцевого нанесення і утримання лікарського засобу на поверхні слизової оболонки, фіксації завдяки покращеним біоадгезивним властивостям, мінімізації вимивання слиною та більш тривалого контакту компонентів препарату з тканинами, створення відносно високої концентрації активних фармацевтичних інгредієнтів і їх швидкого проникнення крізь слизові оболонки у капіляри, що значно підвищує біодоступність діючих речовин. До складу нової фармацевтичної композиції у формі гелю включено комбінацію АФІ природнього та синтетичного походження, а саме: настойку «Фітодент» (виробник — ПАТ «ХФЗ “Червона зірка”», Україна), 80 % холіну саліцилат (виробник — Basf Pharma, Швейцарія) та лідокаїну гідрохлорид (виробник — Societa Italiana Medicinali Scandicci, Італія). Саме такі складові нового гелю забезпечують мультимодальну дію при ураженнях слизової оболонки ротової порожнини. З метою підвищення біодоступності гелю, що розробляється, забезпечення його покращених біофармацевтичних характеристик і, відповідно, пролонгованої дії, у якості мукоадгезивних полімерів, дозволених для орального застосування, було запропоноване поєднання карбомеру Polacril 40P (виробник — Amedeo Brasca & C. Srl, Італія) з гелевим компонентом OraRez® W-100L16 (BOAI, Китай), обране на підставі попередніх мікробіологічних, реологічних, адгезивних та осмотичних досліджень.

Підсумовуючи вищезазначене, розробка та фармакологічне дослідження нових оромукозальних лікарських засобів для лікування запальних захворювань слизової оболонки порожнини рота є надзвичайно актуальною і дуже гостро стоїть питання недосконалості існуючих топічних форм для терапії та профілактики.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дослідницька робота була здійснена у межах запланованої науково-дослідної роботи, що реалізується на базі кафедри фармакології НМУ ім. О.О. Богомольця «Розробка та клініко-фармакологічне дослідження стоматологічних лікарських форм з субстанціями природного та синтетичного походження» (номер державної реєстрації №0123U101127). Дисертант є співвиконавцем вищезазначеної науково-дослідної роботи.

Мета дослідження полягає в розробці та обґрунтуванні застосування нового оромукозального гелю для лікування запальних захворювань порожнини рота.

Завдання дослідження:

1. Проаналізувати стан проблеми лікування запальних патологій слизової оболонки порожнини рота в Україні та обґрунтувати доцільність розробки нових топічних лікарських засобів.

2. Провести скринінгове дослідження оромукозального гелю для визначення в складі лікарської форми оптимального вмісту лідокаїну гідрохлориду.

3. Провести вивчення анальгетичної, антиексудативної та репаративної активності досліджуваного гелю на моделі карагенінового, каолінового запалення та на моделі термічного опіку у тварин.

4. Дослідити окремі показники безпеки оромукозального гелю в дослідженнях на клітинних культурах *in vitro*.

5. Узагальнити фармакологічні властивості нового оромукозального гелю комбінованого складу і обґрунтувати його застосування при запальних захворюваннях порожнини рота.

Об’єкт дослідження – запальні захворювання порожнини рота в експерименті.

Предмет дослідження – фармакологічні властивості нового оромукозального гелю комбінованого складу.

Методи дослідження: фармакологічні (визначення ефективної дози, карагенінова модель гострого ексудативного запалення, каолінова модель гострого запалення, модель термічного опіку), токсикологічні (дослідження цитотоксичної дії на клітинних культурах in vitro), мікроскопічні гістологічні (морфологічна оцінка ефективності гелю), статистичні (методи статистичного аналізу результатів).

Наукова новизна. Вперше розроблено інноваційну лікарську форму у вигляді оромукозального гелю комбінованого складу з покращеними адгезивними показниками, а також вперше запропоновано комбінацію діючих речовин в складі гелю для лікування запальних захворювань слизової оболонки порожнини рота та, зокрема, запальних ускладнень після операції видалення зуба.

Встановлено фармакологічні властивості гелю в порівнянні з референтними препаратами, окремі параметри безпеки та запропоновано можливості його використання для лікування стоматологічних патологій.

Практична значимість одержаних результатів. Отримані результати дослідження впроваджуватимуться в освітній процес на кафедрі фармакології та на кафедрі хірургічної стоматології та щелепно-лицевої хірургії, а також застосовуватимуться в практичній охороні здоров’я під час надання стоматологічної допомоги пацієнтам.

Проведені дослідження мають теоретичне та практичне значення в галузях фармакології, хірургічної стоматології та щелепно-лицевої хірургії. Результати дисертаційного дослідження використані при підготовці реєстраційного досьє на лікарський засіб (Модуль 3 “Преклінічні фармакологічні та токсикологічні дослідження”), у проекті інструкції до медичного застосування нового гелю. На основі проведених досліджень буде розширено асортимент топічних лікарських засобів, що застосовуються при

лікуванні запальних захворювань порожнини рота. Це дозволить здійснити імпортозаміщення в даній фармакологічно-терапевтичній групі ліків, покращити результати лікування.

Впровадження результатів дослідження. Матеріали наукових досліджень, представлені в дисертаційній роботі, були інтегровані у дослідницьку роботу фармацевтичної компанії ТОВ «Алкалоїд Київ», а також в наукову та освітню діяльність кафедри терапевтичної стоматології Національного медичного університету імені О.О.Богомольця, кафедри загальної стоматології Одеського медичного інституту Міжнародного гуманітарного університету, кафедри терапевтичної стоматології та пародонтології Київського медичного університету Української асоціації народної медицини.

Особистий внесок здобувача. Здобувачем здійснено аналітичний огляд та узагальнення джерел літератури за темою дисертаційної роботи. У співпраці з науковими керівниками визначено напрям дослідження, сформульовано його мету й основні завдання, а також обґрунтовано доцільність застосованих методичних підходів. Здобувачем самостійно проведено скринінгові, фармакологічні та токсикологічні дослідження, Проведено аналіз отриманих результатів і їхню статистичну обробку, а також підготовлено всі розділи дисертаційного дослідження, сформульовано висновки, опубліковано статті і тези згідно одержаних результатів, підготовлено практичні рекомендації. У друкованих роботах внесок здобувача є визначальним.

Апробація результатів дослідження. Ключові результати дисертаційного дослідження були представлені на науково-практичних конференціях: II Науково-практична інтернет-конференція з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція», м. Харків, 21 листопада 2019 р., Науково-практична інтернет-конференція з міжнародною участю «Актуальні питання клінічної фармакології та фармації», м. Харків, 21 листопада 2019 р., VIII З’їзд

Асоціації черепно-щелепно-лицевих хірургів, м. Київ, 12 травня 2023 р., а також на фаховому семінарі – спільному засіданні кафедри фармакології, кафедри терапевтичної стоматології та кафедри хірургічної стоматології та щелепно-лицевої хірургії 14 березня 2025р.

Публікація результатів досліджень. За темою дисертаційної роботи опубліковано 8 наукових праць, серед яких, 2 патенти (на винахід і на корисну модель) [13, 14], 2 статті у фахових журналах МОН України [15, 16], 1 стаття в журналі, що індексується в наукометричній базі SCOPUS [17]. Додатково результати досліджень були опубліковані у 3 тезах доповідей та матеріалах наукових конференцій з міжнародною участю [18 – 20].

Структура та обсяг роботи. Дисертаційне дослідження обсягом 159 сторінок друкованого тексту включає вступ, чотири основні розділи, висновки, список використаної літератури, що налічує 128 джерел, а також додатки.

Дисертація містить 27 рисунків, 11 таблиць і 4 додатки.

РОЗДІЛ 1
СУЧАСНИЙ ПОГЛЯД НА ПРОБЛЕМУ ЛІКУВАННЯ ЗАПАЛЬНИХ ЗАХВОРЮВАНЬ ПОРОЖНИНИ РОТА (АНАЛІТИЧНИЙ ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

Запальні захворювання порожнини рота є однією з найпоширеніших патологій у стоматологічній практиці, що охоплює широкий спектр клінічних проявів — від гінгівіту й стоматиту до пародонтиту та афтозних уражень. Вони не лише погіршують якість життя пацієнтів, але й можуть бути індикаторами або ускладненнями системних захворювань. Сучасні епідеміологічні дані свідчать про зростання поширеності цих захворювань серед різних вікових груп, зокрема на тлі зниження імунного статусу, стресів, супутньої патології та незадовільної гігієни ротової порожнини.

Упродовж останніх років дослідження в галузі фармакотерапії запальних уражень слизової оболонки порожнини рота активізувалися, що зумовлено необхідністю пошуку ефективних, безпечних та багатофункціональних засобів місцевої дії.

У зв’язку з цим актуальним є створення нових композицій з мультикомпонентною дією, які поєднують антисептичні, анальгезуючі, репаративні та антиоксидантні властивості.

Цей аналітичний огляд літератури має на меті узагальнити сучасні наукові уявлення щодо фармакотерапевтичних стратегій у лікуванні запальних захворювань порожнини рота, а також проаналізувати перспективні напрямки розробки нових топічних засобів, що відповідають вимогам сучасної доказової медицини.

1.1. Поширеність запальних захворювань порожнини рота

У сучасному світі запальні захворювання порожнини рота, зокрема, її слизової оболонки, являють собою одну з найбільш складних для вирішення проблем з точки зору лікування.

За даними WHO Global Oral Health Status Report (2022), стоматологічні захворювання мають майже 3,5 млрд осіб [1], це найбільша група захворювань, від якої страждає людство.

За даними ВООЗ, розповсюдженість стоматологічних захворювань серед дитячого населення сягає 75%, натомість у дорослого населення – 100%.

Найрозповсюдженішими стоматологічними захворюваннями є каріес, захворювання пародонту, травматичні ураження, онкологічні захворювання, а також вроджені аномалії розвитку зубо-щелепної системи. Захворювання пародонту мають більше 1 млрд людей.

Усі ураження слизової оболонки порожнини рота (СОПР) вкрай негативно впливають на якість життя пацієнтів, порушують такі життєвоважливі та соціально-значущі процеси як ковтання, жування, мовлення, спілкування [2]. Запальні захворювання СОПР надзвичайно поширені серед населення різного віку та соціального стану. Упродовж останніх років рівень поширеності уражень слизової оболонки порожнини рота варіюється в межах від 10,8 % до 61,6 % залежно від популяційних особливостей [3-6], в той же час відмічено тенденцію до помолодшання даної патології. Частіше у молодих людей діагностують гінгівіт, натомість до генералізованого пародонтиту більш схильні люди похилого віку.

Згідно світових епідеміологічних досліджень, у США гінгівіт діагностовано у 9-17% у дітей в віці 3-11 років, в той час як цей показник у підлітків сягає 70-90%, поширеність гінгівіту у країнах Європи та в Австралії у дітей у віці 3-6 років оцінена в 48-75% [7].

Дослідження захворюваності в країнах Європи, зокрема в Італії, вказують на поширеність пародонтиту тяжкого ступеню у майже 35% дорослого населення, помірно тяжкого пародонтиту – у 41% населення [8] (рис.1.1).



Рис.1.1. Поширеність генералізованого пародонтиту у країних Південної Європи

У країнах північної Європи генералізований пародонтит має 49% дорослого населення, натомість 9% мають генералізований пародонтит тяжкого ступеню [9] (рис.1.2).



Рис.1.2. Поширеність генералізованого пародонтиту у країнах Північної Європи

Не дивлячись на вдосконалення консервативних методів лікування та профілактики карієсу, серед операцій у щелепно-лицевій ділянці провідне місце посідає операція видалення зубу. Разом зі збільшенням кількості проведених операцій амбулаторного видалення зубів, зберігається тенденція до збільшення запальних ускладнень після екстракції зубів, зокрема, альвеоліту [10, 11], спричиненого загальними та місцевими факторами [12, 21]. Водночас, залишається актуальною проблема лікування таких уражень слизової оболонки порожнини рота, як локальні гінгівіти, локальні стоматити в ділянці оро-антрального сполучення, післяопераційні ускладнення лоскутних операцій при пародонтиті та інші. Неефективне лікування запальних захворювань призводить до розповсюдження запалення, а разом з тим і збільшується тяжкість патології – розвиваються флегмони, абсцеси, остеомієліти, що тягне за собою стаціонарне лікування хворих, залучення економічних, людських ресурсів тощо.

Отже, розробка нових ефективних методів та засобів для профілактики та лікування запальних патологій слизової оболонки порожнини рота залишається актуальним науковим завданням сучасної стоматології.

Виникають запальні захворювання внаслідок різних загальних порушень: аутоімунних, ендокринних, обміну речовин, зміни реактивності організму та ін. [22, 23]. Наприклад, у літературі є відомості про ураження слизової оболонки при системних захворюваннях: при ревматизмі — у 82%, цукровому діабеті — у 90%, склеродермії — у 94%, при виразковому ураженні шлунку та дванадцятипалої кишки — у 100% пацієнтів [24 - 26]. У розвитку захворювань кожен з багатьох зовнішніх і внутрішніх факторів може бути самостійним пусковим механізмом запального процесу чи допоміжним.

У зв’язку з цим, лікування запальних уражень слизової оболонки порожнини рота у пацієнтів із системними патологіями потребує особливого підходу. Комплексна терапія має враховувати не лише місцеві прояви, але й фонову соматичну патологію, що часто ускладнює перебіг основного захворювання. Особливо важливо забезпечити локальне протизапальне та

репаративне лікування з мінімальним системним впливом, що робить доцільним застосування саме засобів місцевої дії. У таких випадках перспективними є препарати у вигляді гелів із мультимодальною дією, які здатні не лише зменшувати локальне запалення, а й сприяти загоєнню ураженої слизової, покращувати місцеву мікроциркуляцію та мати антиоксидантний ефект.

Отже, з огляду на високий ступінь поширеності запальних захворювань порожнини рота, покращення медикаментозних схем лікування є важливим інструментом оптимізації стоматологічної допомоги, профілактики та зниження тягаря цих захворювань на індивідуальному та соціальному рівнях.

1.2. Особливості фармакологічної корекції запальних станів порожнини рота

До основних причин виникнення запальних захворювань СОПР можна віднести: мікробний чинник (анаеробна та аеробна флора), нераціональна та нерегулярна гігієна порожнини рота, незбалансоване харчування, пересушування слизової оболонки, травматизація (зубними протезами [27, 28], хімічні або термічні опіки), порушення гормонального балансу (в т.ч. вагітність, менопауза), анемія, хронічні захворювання шлунково-кишкового тракту [29], хронічні захворювання сечовидільної системи, туберкульоз [30], цукровий діабет [31], куріння, зловживання алкоголем, онкологічні захворювання та хіміотерапія [32].

Вищевикладане дозволяє зробити висновки, що запальні стани в порожнині рота можуть бути як самостійними захворюваннями, або бути проявами загального стану організму.

Отже, лікування запальних захворювань порожнини рота повинно бути комплексним, індивідуалізованим, місцевим і загальним, мультинаправленним, має містити засоби етіотропної, патогенетичної та симптоматичної терапії.

Одним з ключових компонентів комплексного лікування є призначення засобів місцевої медикаментозної терапії [33, 34]. Засоби для місцевого лікування забезпечують зменшення мікробної інвазії, знеболення, зниження запальної реакції, нормалізацію гемостазу, сприяють репаративним процесам в СОПР.

Сучасні методи місцевого лікування базуються на комплексному підході, що включає застосування антисептиків, антибіотиків, нестероїдних протизапальних лікарських засобів, кортикостероїдів, місцевих анестетиків, препаратів з регенеративними властивостями. Така комбінація діючих речовин забезпечує вплив не тільки на етіотропний (мікробний) чинник запалення, а й впливає на всі ланки патогенезу (біль, збільшення проникності судин, пошкодження цілосності СОПР). Така мультимодальна дія є вимогою до сучасного топічного стоматологічного лікарського засобу для лікування запальних станів порожнини рота.

До засобів етіотропної терапії включають лікарські засоби, що впливають на мікробний компонент. Це антибіотики, антисептики, вони можуть бути рослинного або синтетичного походження [35, 36].

Серед антисептиків найбільш часто включають до складу стоматологічних лікарських форм хлоргексидин, що може застосовуватись як самостійний антисептик для ротової порожнини у вигляді розчину або гелю, або виступати в комбінації з іншими складниками, забезпечуючи комплексну дію [37 - 40]. Показаннями для призначення хлоргексидину локально є альвеоліти, генералізований пародонтит, локальні гінгівіти, протезний стоматит тощо.

Доксіциклін в якості антибіотика в топічних стоматологічних лікарських засобах проявляє окрім бактеріостатичної дії, додаткову знеболюючу та власну протизапальну дію, що дозволяє його використовувати при лікуванні ХРАС, герпетичних уражень тощо [41]. Крім того, він має здатність інгібувати матриксні металопротеїнази, що відіграють ключову роль у руйнуванні

сполучної тканини при хронічному запаленні, зокрема у пацієнтів з пародонтитом.

Останніми роками проведено велику кількість досліджень і доведена роль грибів роду Candida у виникненні протезного стоматиту [42]. Для вирішення цієї проблеми навіть було запропоновано включити певні протигрибкові компоненти, а саме флуконазол та хлоргексидин, до складу цементу, що використовується для фіксації ортопедичних конструкцій, тим самим забезпечуючи профілактику виникнення протезного стоматиту [43]. Такий підхід дозволяє не лише покращити мікробіологічну стабільність протезного ложа, але й мінімізувати ризик розвитку кандидозу у пацієнтів із тривалим користуванням зубних протезів.

При запальних захворюваннях тканин пародонту збільшується кількість анаеробних штамів мікроорганізмів до 80%, в той час як в нормі ця кількість сягає 20%. Це обумовлює необхідність включення місцевих протимікробних засобів до терапевтичних схем [44].

Включення антимікробних лікарських засобів з протипротозойною активністю (наприклад, метронідазол) до топічних стоматологічних форм грунтується на дослідженнях, які виявляють у пацієнтів з захворюваннями пародонту такі мікроорганізми, як Entamoeba gingivalis, Porphyromonas gingivalis, Treponema denticola, Tannerella forsythia [45]. Ці патогени відіграють ключову роль у формуванні біоплівок і розвитку персистуючого хронічного запалення, тому таргетна дія метронідазолу забезпечує ефективне пригнічення анаеробної інфекції та зниження патогенного навантаження в пародонтальних кишенях.

Ністатин – це полієновий протигрибковий засіб, який порушує проникність клітинної мембрани чутливих грибів шляхом зв'язування зі стеролами, головним чином ергостеролом. Його основна дія спрямована проти Candida spp. Він практично не розчиняється у воді, тому в розробці є гелеві форми лікарських форм з ністатином, які призначені для лікування протезного

стоматиту, хронічного рецидивуючого афтозного стоматиту, грибкових уражень порожнини рота [46].

Патогенетичне місцеве лікування включає в себе призначення лікарських засобів з протизапальною дією [47, 48].

Окреме місце серед таких засобів займають лікарські засоби на основі холіну саліцилату [49].

Холіну саліцилат є похідним саліцилової кислоти, має протизапальну, аналгезуючу та жарознижуючу активність. Основний механізм його дії це пригнічення ферменту циклооксигенази, що призводить до порушення синтезу прозапальних простагландинів. Тому він є одним з ключових АФІ синтетичного походження, що входять до складу засобів для топічної терапії в стоматології [50].

Лорноксикам, відносно новий нестероїдний протизапальний лікарський засіб (НПЗЗ), ефективний для полегшення болю, що супроводжує різні стоматологічні проблеми. Проводяться дослідження щодо можливої розробки топічних лікарських форм з лорноксикамом в якості знеболювального та протизапального агенту, що дозволить зменшити потребу призначати системні НПЗП і зменшити тим самим кількість побічних ефектів [51].

Преднізолон є препаратом із групи кортикостероїдів, чим аргументоване його можливе використання для лікування запальних станів СОПР [52, 53], проте тривале топічне використання кортикостероїдів підвищує ризик розвитку атрофії СОПР і розмноження патогенної мікрофлори. Вищезазначені побічні ефекти обмежують можливості використання кортикостероїдів в якості протизапальних компонентів стоматологічних лікарських форм.

Дифенгідрамін відноситься до протиалергічних препаратів (блокатори H_1-гістамінових рецепторів) і також входить до складу стоматологічних гелів для лікування хронічного рецидивуючого стоматиту, завдяки тому, що зменшує проникність судин та володіє власною місцевоанестезуючою активністю [54].

В якості знеболюючого компоненту найчастіше до складу стоматологічних лікарських форм включають лідокаїн [55, 56]. Лідокаїну гідрохлорид додається в різних концентраціях, від 1% до 2%, в той же час Управління з контролю за продуктами і ліками США (FDA) попереджає, що 2% розчин лідокаїну не можна використовувати для лікування немовлят і дітей, які страждають від болю при прорізуванні зубів [57]. Тому перспективним вважається розробка нових лікарських форм з додаванням до їх складу лідокаїну з концентрацією менше 2%.

Окреме місце в комплексній терапії займають лікарські засоби рослинного походження. [58 – 61].

До біологічно активних сполук, що містяться в лікарській рослинній сировині, відносяться: феноли, каротиноїди, алкалоїди, фітостероли, азотовмісні сполуки та сірковмісні сполуки [61].

Фенольні сполуки, особливо поліфеноли, безсумнівно, є найбільш вивченими. Вони впливають на склад мікробіоти порожнини рота, профілактуючи виникнення дизбіозу ротової порожнини, який, в свою чергу, підвищує сприйнятливість до інфекційних уражень СОПР, вірусу герпесу, грибів роду Candida [60, 62].

Фітопрепарати характеризуються мультимодальністю дії, впливають на мікробний компонент запалення, чинять антиексудативну дію, сприяють регенеративним процесам тощо. Виправданим є їх використання у пацієнтів з обтяженим алергологічним анамнезом та за наявності супутніх захворювань [63].

Одним з поширених компонентів натурального походження, що включають до місцевої терапії запальних станів порожнини рота, є прополіс. Останніми роками з’являється дослідження щодо його застосуванні при альвеолітах, що пов’язано, зокрема, з його здатністю пригнічувати продукцію та активацію остеокластів, підвищуючи продукцію і вироблення остеобластів альвеолярного відростку [64].

Екстракт зеленого чаю, а саме катехіни, здатні впливати на показники оксидативного стресу, зокрема, зменшувати продукцію активних форм кисню, що призводить до швидшої регенерації тканин та зменшує місцеве запалення [65, 66].

Патогенетично виправданим є включення до топічних стоматологічних форм компонентів з регенеративною активністю щодо слизової оболонки порожнини рота. З одного боку, багато лікарських рослин мають таку здатність, з іншого боку – такі ж властивості проявляють декспантенол, алантоїн [38], гіалуронова кислота [67 - 70].

Серед лікарських рослин високу протизапальну активність проявляє екстракт квіток гранату [71, 72]. Доведено ефективність його локального застосування при лікуванні ХРАС, достовірно зменшувався час епітелізації афт та їх площа, пацієнти відмічали зменшення больової реакції.

Перспективним видається дослідження властивостей алое вера в якості протизапального та антибактеріального компоненту місцевого лікування запальних захворювань СОПР [73], а також його комбінації з куркуміном, який зменшує продукцію прозапальних цитокінів [74, 75].

Останніми роками з’являється все більше повідомлень про важливість застосування пробіотиків в місцевому лікуванні запальних захворювань порожнини рота, що обумовлене розвитком дизбіозу і потребою його корекції. Зокрема, це проявляється при протезних стоматитах, ХРАС, Candida-асоційованих запальних станах [62].

За даними опитування, 62% лікарів-стоматологів вважають необхідним розробку нових рослинних лікарських засобів для лікування запальних станів порожнини рота [76].

Засоби місцевої терапії в стоматології можуть використовуватися в різних лікарських формах, що мають ті чи інші переваги та недоліки [77, 78].

Раніше широко застосовувалися рідкі лікарські засоби - розчини для зовнішнього застосування у вигляді ротових ванночок або аплікацій. Недоліком такої лікарської форми є те, що розчин важко фіксується на

поверхні СОПР, тяжко досягнути необхідної терапевтичної концентрації та необхідного часу експозиції.

Далі у вжиток увійшли мазі, проте мазі мають ліпофільну основу і теж погано себе проявляють у гідрофільному середовищі порожнини рота.

Ще однією поширеною лікарською формою є спреї та аерозолі. До їх переваг можна віднести:

- швидке всмоктування слизовою оболонкою;
- легкість при використанні;
- відсутність механічного подразнення при нанесенні.

Проте, перелік недоліків спреїв та аерозолів також значний:

- швидке змивання слиною;
- можливість нерівномірного нанесення препарату, особливо при локалізації патологічного процесу в тяжко доступних місцях;
- ризик розвитку подразнення дихальних шляхів при вдиханні дрібнодисперсних часточок аерозолю.

Для лікування запальних захворювань порожнини рота також широко призначаються лікарями-стоматологами таблетки для розсмоктування. Перевагами даної лікарської форми можна вважати:

- тривалий контакт зі слизовою оболонкою порожнини рота;
- поступове виділення активних інгредієнтів.

До недоліків таблеток для розсмоктування відносять:

- ризик механічного подразнення;
- менш ефективне проникнення АФІ до важкодоступних локалізацій (пародонтальні та ясенні кишені);
- необхідність довго утримувати таблетку в порожнині рота, що може бути незручно для пацієнта.

Таким чином повстала необхідність створення нових лікарських форм з покращеними властивостями [79 - 81]. Такою лікарською формою став гель – м’яка лікарська форма, яка має відповідати наступним вимогам:

1. Високий ступінь біодоступності [82].
2. Гідрофільна основа.
3. Помірна осмотична активність.
4. pH, близькій до pH слизової оболонки порожнини рота.
5. Відсутність подразнюючої і сенсибілізуючої дії.
6. Не містити алергени.
7. Рівномірність розподілу по СОПР.
8. Безболісне нанесення на СОПР.
9. Забезпечення повноти та швидкості вивільнення активних сполук.
10. Стабільність при зберіганні.
11. Покращена адгезія до СОПР, що забезпечує тривалу експозицію активних сполук.
12. Задовільні органолептичні властивості.

Тож гелі є перспективною і найбільш зручною для використання у стоматології [83].

За даними авторів, кожен третій стоматолог обирає для лікування запальних захворювань гелеву форму лікарського засобу, а 54,5% лікарів-стоматологів вважають стоматологічні гелі перспективною формою для розробки і подальшого використання, і вважають необхідним розширення асортименту вітчизняних лікарських засобів у формі гелю комплексної дії (зокрема, антисептична, знеболююча, протизапальна та репаративна дія) [76].

Отже, відмічено високий рівень прихильності лікарів-стоматологів до застосування у пацієнтів стоматологічного гелю як найбільш перспективної та сучасної топічної лікарської форми. Основною вимогою до сучасних оромукозальних гелей є мультинаправлена дія, що дозволить лікарю призначити один засіб місцевої терапії, полегшить фінансові витрати пацієнта і збільшить комплайенс лікування.

1.3. Огляд сучасного фармацевтичного ринку лікарських засобів, доступних лікареві-стоматологу для місцевого лікування запальних захворювань порожнини рота

Вітчизняний ринок стоматологічних лікарських засобів виглядає досить нерізноманітним. За класифікацією АТХ лікарські засоби, що використовуються в стоматології відносяться до підгрупи «A01A B протимікробні та антисептичні препарати для місцевого застосування у стоматології» та до підгрупи «A01A D інші засоби для місцевого застосування у стоматології» [84, 85]. Загальна кількість за даними Державного реєстру лікарських засобів України становить відповідно 23 ЛЗ у групі A01A B та 68 у групі A01A D [84, 85].

При аналізі країн-виробників виявилось, що частка вітчизняних ЛЗ у першій підгрупі складає 55% та 68% у другій підгрупі відповідно. Серед препаратів українського виробництва присутні лікарські засоби не тільки синтетичного походження, а й комбінованого складу з компонентами рослинного та синтетичного походження.

До підгрупи A01A B віднесено лікарські засоби з такими АФІ:

- хлоргексидин (лікарська форма – розчин для зовнішнього застосування);
- гексетидин (у вигляді спрею та розчину для зовнішнього застосування);
- прополіс (аерозоль та спрей);
- клотримазол (розчин для зовнішнього застосування);
- хлоргексидин в комбінації з аскорбіновою кислотою (таблетки для ротової порожнини);
- метронідазол в комбінації з хлоргексидином (стоматологічний гель).

Серед вищеназваних лікарських засобів даної підгрупи, налічується всього 5 стоматологічних гелей, які містять комбінації метронідазолу з хлоргексидином і відрізняються між собою лише різною концентрацією складників та додаванням різних смакових додатків (рис.1.3). Виробниками 3 стоматологічних гелей є вітчизняні компанії, інших 2 – іноземні компанії.



Рис.1.3. Розподілення лікарських форм підгрупи «A01A B протимікробні та антисептичні препарати для місцевого застосування у стоматології»

До підгрупи A01A D віднесено лікарські засоби з такими АФІ:

- бензидіамін (спрей, розчин, таблетки для ротової порожнини)
- холіну саліцилат (стоматологічний гель)
- лідокаїну гідрохлорид (стоматологічний гель)
- рослинна лікарська сировина.

Серед рослинної лікарської сировини зареєстровано: листя евкаліпту, кору дуба, траву звіробою, листя шавлії. Основні лікарськими формами, що мають в своєму складі рослинні компоненти є: настоянка, розчин для зовнішнього застосування, рідкий екстракт.

Також дана підгрупа містить гомеопатичні таблетки для прорізування зубів.

Серед стоматологічних гелей дана підгрупа налічує всього 4 лікарських засоби (серед загальної кількості засобів в групі – 68), що представлено на рис.1.4.



Рис.1.4. Розподілення лікарських форм підгрупи «A01A D інші засоби для місцевого застосування у стоматології»

Серед вищезазначених стоматологічних гелей 3 засоби мають у своєму складі лідокаїну гідрохлорид і екстракт ромашки, а ще один є комбінацією холіну саліцилату та цеталконію хлориду [86].

Таким чином, аналізуючи зареєстровані стоматологічні засоби на фармацевтичному ринку, можна зауважити, що стоматологічні гелі, будучи найперспективнішою лікарською формою і такою, що найбільш часто обирається лікарем-стоматологом [87], представлені невеликим різноманіттям (на 91 лікарський засіб всього 9 стоматологічних гелей).

Проаналізувавши країни походження виробників вищеназваних гелей, виявилось, що з 9 гелей лише 4 є продукцією вітчизняних фармацевтичних підприємств.

Тобто, розробка нових стоматологічних гелей є перспективною з точки зору розширення асортименту гелевих лікарських форм для місцевого застосування у стоматології, а також з точки зору імпортозаміщення.

При аналізі продажу на фармацевтичному ринку України загалом топічних лікарських засобів для застосування в стоматології, виявилось, що по-перше, за останні 5 років ринок щорічно зростає, і за період 2024р. було продано лікарських засобів для стоматології на 856, 6 млн.грн. Це може вказувати на перспективність створення нових лікарських засобів даної групи і зацікавленість виробників в їх розробці і реєстрації (рис.1.5).

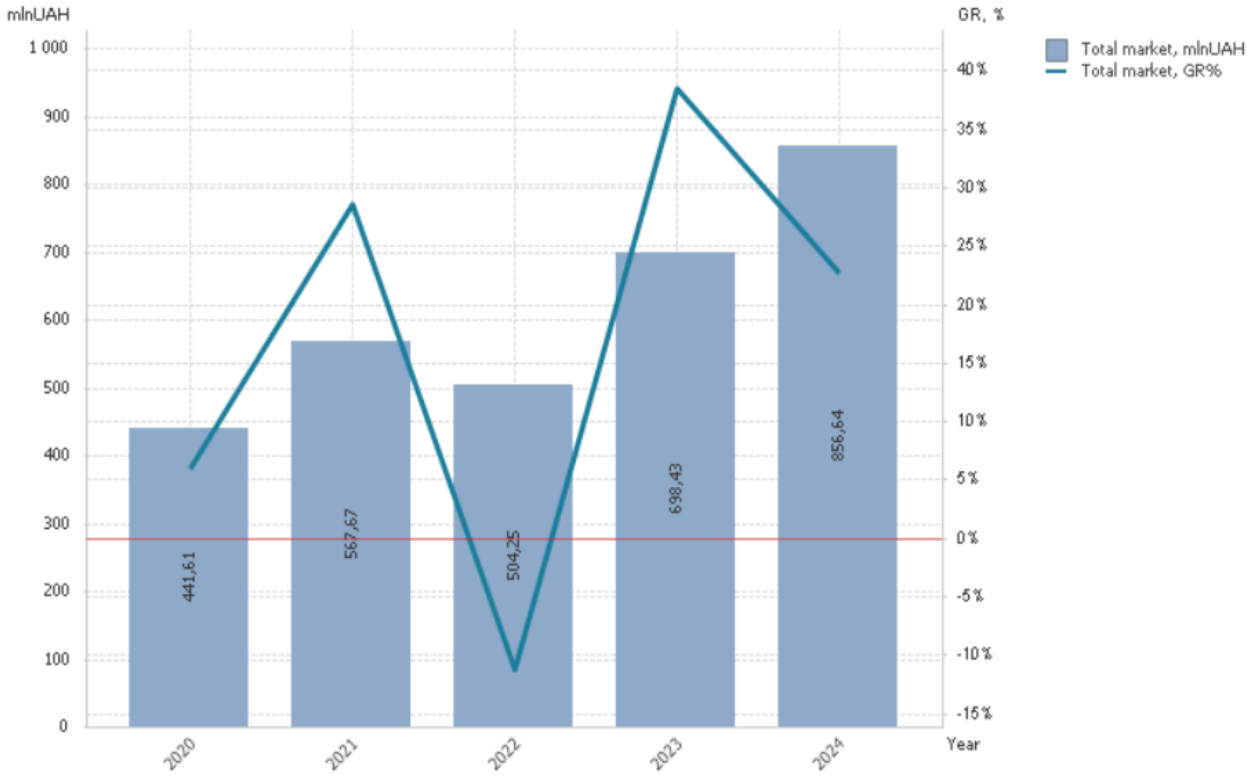


Рис.1.5. Продажі топічних лікарських засобів для застосування в стоматології в Україні в період 2020-2024 рр.

Аналізуючи розподіл продажу вищенаведених лікарських засобів (рис.1.6), відмічено, що за останні 5 років продажі збільшувались як у вітчизняних виробників, так і у іноземних. Проте частка іноземних виробників у 2,5 рази більше, ніж вітчизняних. Це відкриває простір для імпортозаміщення в даному сегменті [88].

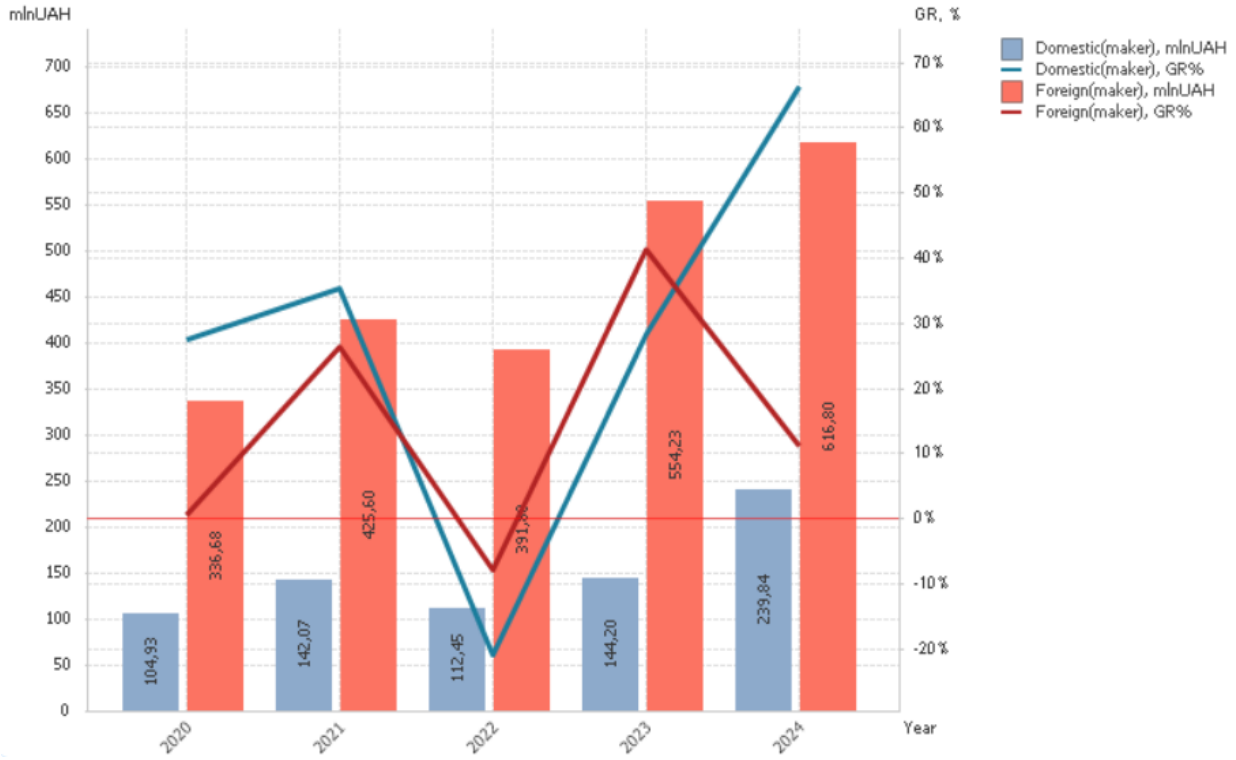


Рис.1.6. Порівняння продажу вітчизняних та іноземних топічних ЛЗ для застосування в стоматології в Україні в період 2020-2024 рр.

Аналізуючи ринок безпосередньо стоматологічних гелів, виявлено, що серед 9 гелів найбільшу частку в продажу має Метрогіл Дента® (Unique Pharmaceutical Laboratories, Індія) (58%) та Холісал® (Medana Pharma, Польща) (26%), доля інших представників не досягає 10% (рис.1.7).

Загальний ринок за 2024р. стоматологічних лікарських форм склав 856 млн.грн., з них – стоматологічних гелей було продано на суму 160 млн грн., що складає 972 000 упаковок гелей.

Одним з лікарських засобів комбінованого складу, що випускається у формі стоматологічного гелю, є гель Холісал® (Medana Pharma, Польща), що містить у своєму складі холіну саліцилат (забезпечує протизапальну та антиексудативну активність) та цеталконію хлорид (антисептик з антимікробною, протигрибковою та противірусною активністю).

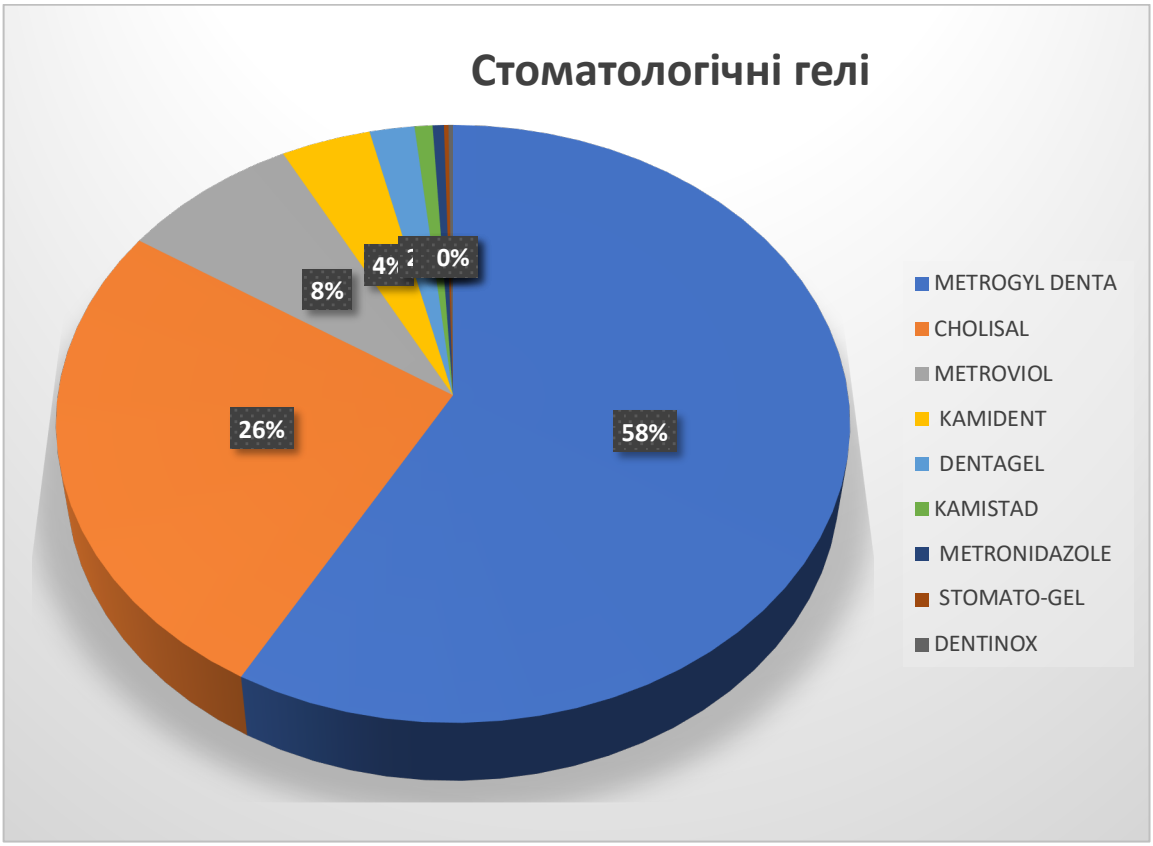


Рис.1.7. Розподілення долі ринку стоматологічних гелей в Україні за 2024 рік

Показаннями до застосування є інфекційно-запальні процеси в порожнині рота (гінгівіти, пародонтити тощо), а також захворювання, що супроводжуються висипами в порожнині рота (червоний плескатий лишай, вітряна віспа тощо) [89]. До недоліків даного стоматологічного лікарського засобу можна віднести відсутність репаративної активності та знеболюючого компоненту.

Іншим представником стоматологічних гелей, що займає перше місце з продажів на вітчизняному ринку, є гель Метрогіл Дента® (Unique Pharmaceutical Laboratories, Індія), що містить в своєму складі метронідазол (забезпечує протипротозойну та антибактеріальну активність) та хлоргексидин (антисептик з протигрибковою та противірусною активністю). Показаннями до застосування є інфекційно-запальні процеси тканин пародонту, протезний стоматит, альвеоліт, гострий виразково-некротичний гінгівіт Венсана.

Таким чином, гелі, на які припадає 85% всіх призначених лікарями топічних лікарських засобів у стоматології, не повністю відповідає вимогам мультимодальності топічних стоматологічних ЛФ, тобто не впливають на кожну ланку патогенезу запалення.

Інші представники гелів, які разом мають 10% ринку продажів, представлені в табл.1.1.

Аналіз складу доступних на ринку стоматологічних гелей, показав, що жоден гель не впливає одночасно на етіотропний мікробний чинник та патогенетичні ланки запального процесу, тому не забезпечує комплексну місцеву дію при лікування запальних станів порожнини рота, що вимагає розробки нових лікарських форм з комбінованим складом і мультинаправленою дією.

Аналіз фармацевтичного ринку України з точки зору наявності стоматологічних гелів, показав, що:

1) існує нерівномірність у кількості між гелями вітчизняного виробника та між гелями зарубіжного виробництва на користь останніх;
2) встановлено, що більшість (майже 85%) проданих упаковок стоматологічних гелей припадають на гелі зарубіжного виробництва, що відкриває простір для розробки нових лікарських форм вітчизняного виробництва та імпортозаміщення в даному сегменті;
3) аналіз складу гелів, що представлені на ринку України, показав, що розробка гелю комбінованого складу з рослинними і синтетичними

складниками є перспективною з точки зору відсутності на ринку засобів, що впливають на етіотропний мікробний компонент та всі патогенетичні ланки запального процесу.

Таблиця 1.1

Стоматологічні гелі, що зареєстровані в Україні

Назва	Виробник	АФІ
Камістад®	STADA Arzneimittel AG, Німеччина	Лідокаїну гідрохлорид, екстракт ромашки.
Камідент®	Фармацевтична компанія “Здоров’я”, Україна	Лідокаїну гідрохлорид, екстракт ромашки
Дентинокс®	Dentinox Gesellschaft für pharmazeutische Präparate, Німеччина	Лідокаїну гідрохлорид, екстракт ромашки та полідоканол
Стоматогель®	Фармацевтична компанія “Здоров’я”, Україна	Метронідазол, хлоргексидин
Метровіол Дента®	Фармацевтична компанія “Віола”, Україна	Метронідазол, хлоргексидин
Дентагель®	Фармацевтична компанія “Здоров’я”, Україна	Метронідазол, хлоргексидин
Метронідазол Дента®	Фармацевтична компанія “Дарниця”, Україна	Метронідазол, хлоргексидин

Отже, розробка нових вітчизняних стоматологічних препаратів комплексної дії для місцевого лікування запальних захворювань тканин пародонту є надзвичайно перспективним і актуальним з точки зору підвищення ефективності лікування запальних станів СОПР, розширення фармацевтичного асортименту лікарських стоматологічних засобів, збільшення імпортозаміщення в даному сегменті.

1.4. Визначення напрямів наукового пошуку та постановка конкретних дослідницьких задач

Проведений в підрозділах 1.1-1.3 аналіз підходів та засобів для лікування запальних станів в порожнини рота дозволяє дійти висновку, що, попри інтенсивний розвиток сучасних наукових досліджень, запальні захворювання порожнини рота надзвичайно поширені в сучасному суспільстві. Етіологія цих захворювань є полікомпонентною, тобто включає як внутрішні чинники організму (місцеві і системні), так і залежить від оточуючих факторів. Тому і лікування повинно бути комплексним і включати в себе усунення місцевих чинників захворювання, застосування топічних лікарських засобів (серед яких найбільш прогресивною і перспективною лікарською формою є оромукозальний гель), лікування хронічних захворювань, позбавлення від шкідливих звичок тощо.

Водночас аналіз фармацевтичного ринку України показав, що зареєстровано всього 4 стоматологічних гелі вітчизняного виробництва і 5 імпортного виробництва, але жоден з них не володіє мультинаправленою дією, впливаючи на етіологічні фактори та ланки патогенезу запального процесу.

Тому ***метою дисертаційної роботи*** є розробка та обґрунтування застосування нового оромукозального гелю для лікування запальних захворювань порожнини рота.

Для реалізації поставленої мети слід розв’язати відповідне наукове завдання – дослідити фармакологічні властивості та показники безпеки нового стоматологічного гелю комбінованого складу.

Об’єктом дослідження є запальні захворювання порожнини рота в експерименті, а ***предметом дослідження*** – фармакологічні властивості нового оромукозального гелю комбінованого складу.

Для розв’язання сформульованого наукового завдання необхідно розбити дане наукове завдання на ряд взаємозалежних складових частин, які

визначають ***часткові наукові завдання досліджень***. Основними з цих наукових завдань є:

1. Проаналізувати стан проблеми лікування запальних патологій слизової оболонки порожнини рота в Україні та обґрунтувати доцільність розробки нових топічних лікарських засобів.

2. Провести скринінгове дослідження оромукозального гелю для визначення в складі лікарської форми оптимального вмісту лідокаїну гідрохлориду.

3. Провести вивчення анальгетичної, антиексудативної та репаративної активності досліджуваного гелю на моделі карагенінового, каолінового запалення та на моделі термічного опіку у тварин.

4. Дослідити окремі показники безпеки оромукозального гелю в дослідженнях на клітинних культурах *in vitro*.

5. Узагальнити фармакологічні властивості нового оромукозального гелю комбінованого складу і обґрунтувати його застосування при запальних захворюваннях порожнини рота.

Вирішення взаємопов’язаних часткових наукових задач обумовило логічну побудову та змістове наповнення дисертаційної роботи.

Висновки до розділу 1

Досліджено поширеність стоматологічних захворювань серед різних популяцій. Показано, що поширеність стоматологічної патології сягає майже 100% у дорослого населення, і вагоме місце посідають запальні захворювання слизової оболонки порожнини рота.

Досліджено сучасні підходи до фармакологічної корекції запальних станів порожнини рота. Розглянуто основні активні фармацевтичні інгредієнти природнього та синтетичного походження, що включені в сучасні стоматологічні лікарські форми.

Проаналізовано сучасний фармацевтичний ринок України. Розглянуто основні топічні лікарські форми, їх недоліки та переваги і доведено перспективність розробки саме стоматологічних гелей.

На основі проведеного аналізу підходів до фармакологічної корекції запальних станів порожнини рота та наявного арсеналу топічних лікарських форм сформульовано актуальне наукове завдання щодо розробки та обґрунтування застосування нового оромукозального гелю комбінованого складу для лікування запальних захворювань порожнини рота.

РОЗДІЛ 2
ДИЗАЙН, МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

З огляду на високу поширеність запальних захворювань порожнини рота, на помолодшання даної патології, проблема лікування цих станів постає досить гостро для лікаря-стоматолога. Водночас, на фармацевтичному ринку спостерігається недостатня кількість лікарських засобів мультимодальної дії, тобто такої, яка була б направлена на всі ланки патогенезу запального процесу. Таким чином, нами було запропоновано розробити новий оромукозальний гель комбінованого складу з покращеними показниками адгезії до слизової оболонки та провести його фармакологічні дослідження.

2.1. Предмет дослідження

Предметом досліджень став новий оромукозальний гель комбінованого складу, синтезований спільно з кафедрою заводської технології ліків Національного фармацевтичного університету, м.Харків (завідувачка кафедри – д.фарм.н., професор Рубан О.А.). У основу винаходу покладено завдання доповнити наявний асортимент місцевих стоматологічних засобів шляхом розробки нової гелевої фармацевтичної композиції, в якій завдяки раціональному поєднанню інгредієнтів природного та синтетичного походження у визначених пропорціях досягається комплексний, багатовекторний терапевтичний ефект для лікування та профілактики запальних захворювань порожнини рота, в тому числі захворювань пародонта, слизової оболонки, при адаптації до знімних протезів, при ускладненнях після видалення зубів (альвеоліти) тощо [13, 14].

Поставлене завдання реалізовано шляхом створення стоматологічного гелю з комплексною фармакологічною активністю, до складу якого входять активні речовини як природного, так і синтетичного походження, а також гелеутворювальна основа та вода. В якості активних компонентів

використано настойку «Фітодент», 80 % розчин холіну саліцилату і лідокаїну гідрохлорид [13, 14].

Настойка «Фітодент» (ПАТ «ХФЗ «Червона зірка», Україна) містить у своєму складі фітосировину з вираженими лікувальними властивостями: кореневища аїру, квітки ромашки, нагідок, софори японської, листя кропиви, надземну частину чистотілу та плоди шипшини. Завдяки синергії біологічно активних сполук рослинного походження, засіб характеризується антимікробною, протигрибковою, протизапальною, репаративною, гемостатичною та антихолінестеразною дією. Використовується для місцевого лікування уражень слизової оболонки рота, а також у складі терапевтичних схем при пародонтальних патологіях [90 – 92].

Холіну саліцилат — це представник групи нестероїдних протизапальних засобів (НПЗЗ), що походить від саліцилової кислоти та широко застосовується у стоматології. Основою його дії є гальмування активності циклооксигенази, внаслідок чого знижується біосинтез прозапальних медіаторів, зокрема простагландину Е2, тромбоксану та простациклінів із арахідонової кислоти. Препарат чинить протизапальну дію за рахунок зменшення проникності судинних стінок і покращення мікроциркуляції в тканинах. Завдяки високому ступеню всмоктування через слизову ротової порожнини, холіну саліцилат швидко надходить до периферичних нервових закінчень, забезпечуючи аналгезивний і протизапальний ефекти [92].

В якості місцевого анестетика було обрано лідокаїну гідрохлорид, як найефективніший знеболюючий засіб у стоматологічній практиці [93]. Він забезпечує швидкий початок дії, тривале знеболення та має сприятливий профіль безпеки при місцевому застосуванні. Лідокаїн блокує натрієві канали в нейронах, що перешкоджає виникненню та проведенню нервового імпульсу, таким чином ефективно знижуючи больову чутливість у ділянці нанесення.

Завдяки своїм властивостям, він є незамінним компонентом при створенні багатокомпонентних стоматологічних засобів, зокрема у формі гелів для місцевого застосування, де необхідне швидке полегшення болю без

системної дії. Його включення до складу нового препарату спрямоване на підвищення комфорту пацієнта вже з перших хвилин після нанесення засобу на уражену ділянку слизової оболонки порожнини рота.

Фармацевтична композиція у формі оромукозального гелю під умовною назвою Холідент містить активні фармацевтичні інгредієнти природнього та синтетичного походження, гелеву основу та воду очищену. Склад на 100 г гелю (мас. %):

- настойка «Фітодент» - 15,0 (спиртові екстракти кореневища аїру, квіток нагідок, ромашки, плодів софори японської та шипишини, листя кропиви, трави чистотілу);
- холіну саліцилат (80% розчин) – 8,0;
- лідокаїну гідрохлорид – 1,5;
- гелева основа (карбопол, 10% гідроксид натрію, мукозальний адгезив OraRez® W-100L16, ніпагін, ніпазол);
- вода очищена [13, 14].

Гелеподібна консистенція, однорідність та стабільність лікарського засобу під час зберігання забезпечуються завдяки оптимальному підбору та кількісному співвідношенню допоміжних речовин, що використовуються для створення гелевої основи.

Отже, добір активних фармацевтичних інгредієнтів (АФІ) для композиції досліджуваного стоматологічного гелю здійснено з урахуванням необхідності цілеспрямованого впливу на патогенетичні ланки запального процесу. Настойка «Фітодент» та холіну саліцилат забезпечують антисептичну, протизапальну, гемостатичну й репаративну дію, тоді як лідокаїну гідрохлорид відповідає за знеболювальний ефект. Усі активні та допоміжні речовини, включені до складу засобу, належать до дозволених і фармацевтично прийнятних для місцевого застосування субстанцій, однак комбінація компонентів і їх співвідношення мають новизну та не описані в доступних літературних чи інформаційно-патентних джерелах.

2.2. Планування та етапи дослідження

Виконання задач, поставлених при плануванні роботи, потребувало методичного розроблення програми досліджень і поступової її реалізації. Дослідження проводилося поетапно, причому кожен з етапів був орієнтований на послідовне розв'язання окремих наукових завдань, визначених у межах загальної мети роботи (табл.2.1).

До початку експерименту було проведено аналіз і узагальнення даних літератури, сформульовано завдання роботи, намічено об'єкти дослідження, розроблено дизайн подальших експериментальних досліджень, обрано предмет дослідження та препарати порівняння.

Перший етап був присвячений скринінговому дослідженню нового стоматологічного гелю, визначенню оптимального вмісту одного з активних фармацевтичних інгредієнтів (АФІ), що входять до його складу, а саме – лідокаїну гідрохлориду, а також вивчення знеболювальної активності досліджуваного гелю в порівнянні з референтним препаратом.

Другим етапом було вивчення антиексудативної та репаративної активності нового стоматологічного гелю порівняно до референтного препарату.

Третім етапом стало дослідження показників токсичності оромукозального гелю на клітинних культурах у дослідженнях in vitro.

Експериментальні дослідження були виконані на базі кафедри фармакології Національного медичного університету імені О.О.Богомольця (під керівництвом завідувачки кафедри – д.мед.н., професора Зайченко Г.В.), а також на базі Інституту експериментальної патології, онкології і радіобіології імені Р.Є.Кавецького НАН України (директор Інституту – д.біол.н., професор Бучинська Л.Г.).

Таблиця 2.1

Дизайн дослідження

Етапи експерименту	Опис етапу	Матеріали дослідження	Методи дослідження
Перший	Скринінгове дослідження для визначення оптимальної концентрації лідокаїну гідрохлориду в складі гелю	Групи лабораторних тварин (білі щурі лінії Вістар)	Визначення показників антиноцицептивної активності
Другий	Дослідження фармакологічної активності гелю	Групи лабораторних тварин (білі щурі лінії Вістар)	Визначення показників антиексудативної та репаративної активності
Третій	Дослідження токсичності стоматологічного гелю	Клітинні культури епідермоїдної карциноми ротової порожнини людини та диплоїдних фібробластів людини.	Визначення рівня продукції активних форм кисню, мітохондріальної активності, визначення показників загибелі клітин, визначення життєздатності клітин.

Згідно дизайну дослідження, експерименти були виконані на тваринах. Тварини, використані у дослідженні, дозволяють певною мірою екстраполювати результати експериментів на людину. Застосування зазначених видів тварин (щури лінії Вістар) регламентоване чинними методичними вказівками ДФЦ МОЗ України та діючим законодавством України (Наказ МОЗ України «Про затвердження порядку проведення доклінічного вивчення лікарських засобів, порядку визначення установ, які проводять доклінічне вивчення лікарських засобів», Закон України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (2006)). Усі експериментальні процедури та евтаназія лабораторних тварин здійснювалися відповідно до вимог чинного етичного законодавства та нормативних документів з біоетики, а саме «Директиви Європейського Союзу 2010/63/EU про захист тварин, які використовуються для наукових цілей" [93], а також згідно «Загальних етичних принципів експериментів на тваринах», ухвалених Першим національним конгресом з біоетики (Київ, 2001) та Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» № 3477-IV від 21.02.2006 р. Дотримання етичних вимог у рамках дослідницького протоколу, зокрема щодо поводження з лабораторними тваринами, було схвалено Комісією з питань біоетичної експертизи та етики проведення наукових досліджень при Національному університеті ім.О.О.Богомольця (Голова Комісії – д.мед.н., професор Натрус Л.В., протокол засідання №189 від 25 листопада 2024р.).

2.3. Вивчення антиноцицептивної активності стоматологічного гелю

У межах даного етапу експериментального дослідження було проаналізовано три зразки оромукозального гелю, що відрізнялися концентрацією лідокаїну гідрохлориду — 1,0 %, 1,5 % та 2,0 %.

Для оцінки аналгетичної дії застосовувався метод Randall–Selitto із використанням електронного аналгезиметра Pressure Analgesiometer

(виробництва IITC Life Science, США) [13-15, 94]. Це експериментальний тест для оцінки механічної ноцицепції (больової чутливості) у лабораторних тварин, зокрема у щурів і мишей. Він широко використовується у фармакологічних дослідженнях для визначення анальгетичної ефективності лікарських засобів. Метод Randall-Selitto базується на вимірюванні больового порогу у тварини шляхом прикладання поступово зростаючого тиску на лапу до моменту, коли тварина проявляє реакцію на біль (наприклад, відсмикує лапу або видає вокалізацію). Перевагами даного методу є: висока чутливість до анальгетичних препаратів, швидкість отримання результатів, можливість виміряти кількісно больову чутливість.

Дослідження проведено на білих щурах-самцях лінії Вістар масою 190 – 210 г.

Щурів утримували в клітках за стандартних умов: температури навколишнього середовища (22 ± 2ºС), відносної вологості (45 – 50 %) та 12-годинним циклом «день-ніч», з 2-тижневим акліматизаційним періодом перед початком експериментів.

Оцінювання анальгетичної дії проводили на моделі набряку, індукованого каоліном, яка характеризується найбільш вираженим больовим синдромом серед експериментальних моделей запалення [13-15, 95], застосовується для оцінки протизапальної та аналгетичної активності лікарських засобів. Модель каолінового набряку базується на індукції запального процесу шляхом підшкірного або внутрішньосуглобового введення каоліну (гідратованого силікату алюмінію). Це викликає розвиток локального набряку, гіперемії, болючості та інфільтрації тканин запальними клітинами. Перевагами даної експериментальної моделі є висока відтворюваність результатів, простота виконання та доступність компонентів. Метод дозволяє досліджувати як гостру, так і хронічну запальну реакцію.

Для моделювання запального набряку тваринам під апоневроз задньої лапки вводили розчин каоліну у дозуванні 0,1 мл на кожні 100 г маси тіла [15].

У дослідженні реєстрували початковий рівень больової чутливості, а також зміни порогу больової чутливості через 60 хвилин після ін'єкції флогогенного агента. Після цього на ділянку введення наносили досліджуваний гель, і повторні вимірювання больової відповіді проводили через 75 хвилин, 90 хвилин та 120 хвилин після індукції запального процесу. Для оцінки анальгетичної активності гелю розраховували відсоток змін порогу больової чутливості щодо вихідного рівня, а також у порівнянні з показниками через годину після введення каоліну. Антиноцицептивний ефект тестових зразків оцінювали на тлі запального болю, викликаного каоліном, орієнтуючись на зміну порогу больової чутливості (ПБЧ) у період найінтенсивнішої ноцицептивної реакції — з 60-ї до 120-ї хвилини після введення запального агента. Аналгетичну активність (АА) обчислювали за спеціальною формулою, що враховує динаміку больового порогу в порівнянні з контрольними значеннями [15]:

$$АА = \frac{ПБЧ_д - ПБЧ_к}{ПБЧ_к} \times 100\ \%;$$

де: $ПБЧ_д$ – ПБЧ у тварин дослідної групи;

$ПБЧ_к$ – ПБЧ у тварин контрольної групи.

Отримані значення анальгетичної активності (АА) виражаються у відсотках і відображають ступінь зниження больової чутливості у тварин під впливом тест-зразка порівняно з контрольною групою. Показник порогу больової чутливості (ПБЧ) визначався у період максимального розвитку больового синдрому, що зазвичай спостерігається між 60-ю та 120-ю хвилинами після введення каоліну — стандартного індуктору запальної гіпералгезії.

Підвищення ПБЧ у дослідній групі свідчить про наявність аналгетичного ефекту. Таким чином, чим вищим є значення АА, тим потужнішою є антиноцицептивна дія препарату. Дана формула дозволяє кількісно оцінити ефективність аналгетичної дії тест-зразків у рамках експериментального моделювання запального болю та є інформативним інструментом для

первинного доклінічного скринінгу потенційних лікарських засобів місцевої дії.

Крім того, була вивчена анальгетична активність стоматологічного гелю з тест-зразком-лідером у порівнянні з референтним препаратом.

Референтний стоматологічний гель, який використовується для порівняння у процесі розробки нового топічного засобу, повинен відповідати низці критичних вимог. Насамперед, він має бути зареєстрованим та дозволеним до медичного застосування, із наявною доказовою базою ефективності та безпечності, підтвердженою доклінічними та клінічними дослідженнями. Його фармакологічна дія має бути добре вивченою, з чітко визначеним механізмом дії, показаннями до застосування та терапевтичною ефективністю при лікуванні запальних захворювань порожнини рота. Обов'язковою є також стабільність якості препарату протягом усього терміну зберігання, що забезпечує відтворюваність дії в клінічній практиці.

З технологічної точки зору, референтний гель повинен мати однорідну, зручну для нанесення консистенцію, відповідну pH-реакцію, добру біоадгезивність до слизової оболонки порожнини рота та пролонговану локальну дію. Важливою вимогою є забезпечення мінімального подразнюючого ефекту, доброго профілю безпечності та відсутності сенсибілізації. Наявність підтверджених показників протизапальної, анальгезуючої, репаративної або антисептичної дії (залежно від складу) також є необхідною умовою для визнання гелю повноцінним референтом при створенні та випробуванні нового лікарського засобу топічної дії в стоматології.

Як препарат для порівняння було використано гелеву форму лікарського засобу «Камістад®» (виробник - Stada Arzneimittel AG, Німеччина), до складу якого входить 2,0 % лідокаїну гідрохлориду як місцевоанестезуючого компонента.

2.4. Дослідження антиексудативної активності нового стоматологічного гелю

Оцінювання протизапальної (антиексудативної) дії стоматологічного гелю здійснювали на білих щурах лінії Вістар масою 160–180 г із застосуванням моделі карагінан-індукованого запалення. Для вимірювання набряку використовували електронний плетизмометр (виробник - WPI, Італія). Лабораторні тварини було випадковим чином поділені на 2 групи по 6 особин у кожній [13, 14, 16].

Щурів утримували в клітках за стандартних умов: температури навколишнього середовища (22 ± 2ºС), ідносної вологості (45 – 50 %) та 12-годинним циклом «день-ніч», з 2-тижневим акліматизаційним періодом перед початком експериментів.

Під час експерименту тварину утримували в руках, після чого її задню кінцівку занурювали в резервуар електронного плетизмометра, наповнений рідиною. Об’єм кінцівки визначали за кількістю витісненої рідини. Лабораторні щури були розподілені на дві підгрупи по шість особин: контрольну та експериментальну. В якості препарату порівняння використовували гель «Камістад®» (виробник – STADA Arzneimittel AG, Німеччина), який має в складі екстракт суцвіть ромашки та лідокаїну гідрохлорид [13, 14, 16].

Запальний набряк викликали ін'єкцією карагенінового розчину (концентрація 10 мг/мл) під апоневроз підошовної частини задньої кінцівки у дозі 0,1 мл на кожні 100 грамів маси тіла тварини.

Карагенін, сульфатований полісахарид, використовується в експериментах як прозапальний флогогенний агент з метою оцінки антиексудативної активності досліджуваних речовин [96]. Реакція тканин на карагенін складається з трьох фаз: під час першої фази відбувається вивільнення гістаміну і серотоніну, настання другої фази обумовлене брадикініном, і заключна фаза пов'язана з локальним виробленням

простагландинів [97].

План проведення досліду передбачав фіксацію початкових значень об’єму задньої кінцівки, повторне вимірювання через 60 хвилин після ін’єкції флогогенної речовини, нанесення досліджуваного гелю на ділянку запалення та подальшу реєстрацію змін об’єму лапи через 30, 60, 90 і 120 хвилин після аплікації засобу [98]. Аналізували відсоткове відхилення показника відносно початкового значення, а також зміну об’єму порівняно з даними, зафіксованими через одну годину після індукції запальної реакції. Протизапальна активність (ПЗА) розраховувалася за наступною формулою [13, 14, 16]:

$$ПЗА = \frac{V_д - V_к}{V_к} \times 100\ \%;$$

де: $V_д$ – об’єм лапи у тварин в певний проміжок часу;

$V_к$ – об’єм лапи у тварин на вершині запальної реакції.

Отримане значення протизапальної активності (ПЗА) виражається у відсотках і свідчить про ступінь зменшення набряку лапи у тварин під впливом досліджуваного препарату порівняно з піком запальної реакції. Чим вище значення ПЗА, тим вираженішим є протизапальний ефект засобу. Розрахунок проводився для кожної експериментальної групи на основі середніх значень об’єму лапи у відповідні проміжки часу. Об’єм лапи враховувався як індикатор інтенсивності запального процесу.

Таким чином, дана формула дозволяє кількісно оцінити ефективність досліджуваного гелю щодо зменшення запального набряку, що є одним із ключових параметрів при доклінічному вивченні фармакологічної активності протизапальних засобів місцевої дії.

2.5. Дослідження репаративної активності нового оромукозального гелю

Регенеративну ефективність гелевої композиції вивчали на експериментальній моделі термічного пошкодження шкіри. Дослід проводили із залученням білих лабораторних щурів лінії, маса тіла яких становила 180–220 г [13, 14, 16].

Щурів утримували в клітках за стандартних умов: температури навколишнього середовища (22 ± 2ºС), відносної вологості (45-50 %) та 12-годинним циклом «день-ніч», з 2-тижневим акліматизаційним періодом перед початком експериментів.

Напередодні моделювання термічного опіку проводили депіляцію ділянки нижньої третини спини лабораторних щурів. Після введення кетаміну (100 мг/кг маси тіла) тваринам прикладали до попередньо очищеної шкіри дві металеві пластини, нагріті до 100 °С, тривалість експозиції – 10 секунд. Отримані термічні ураження відповідали IIIА-Б – III-В ступеню згідно з клінічною класифікацією опіків, що характеризується глибоким некрозом усіх шарів шкіри, включно з потовими, сальними залозами та волосяними фолікулами. Патогенетичні механізми таких ушкоджень частково корелюють з процесами, які спостерігаються при пародонтиті [13, 14, 16].

Терапевтичний вплив починали з першої доби після нанесення термічного ушкодження шляхом щоденного одноразового нанесення тонкого шару гелю на ділянку опіку в один і той самий час доби.

Лабораторні тварини були випадковим чином розподілені на вісім груп, кожна з яких складалася з трьох особин:

Група 1 — нанесення гелю здійснювали впродовж 1, 2, 3 доби, забір матеріалу — на 4-й день.

Група 2 — нанесення гелю здійснювали впродовж 4, 5, 6 доби, забір матеріалу відбувався на 7-й день.

Група 3 — нанесення гелю здійснювали впродовж 11, 12, 13 доби, забір

матеріалу відбувався на -й день.

Група 4 — нанесення гелю здійснювали впродовж 18, 19, 20 доби, забір матеріалу відбувався на 21-й день.

Аналогічним чином були сформовані ще 4 групи контрольної патології (КП), яким замість гелю використовували фізіологічний розчин 0,9 % натрію хлориду, аплікації починали з 1 доби, біоматеріал відбирали на 4, 7, 14 та 21 добу [16].

Зразки фіксували у 10 % розчині формаліну, після чого проводили фарбування гематоксиліном і еозином. Мікроскопічне дослідження проводили із застосуванням світлооптичної техніки.

Оцінка дії гелю здійснювалася шляхом аналізу морфологічних показників відновлення тканин, серед яких: ступінь клітинної інфільтрації запального характеру, присутність макрофагів у зоні ураження, вираженість ангіогенезу, рівень епітелізації, інтенсивність міграційної та проліферативної активності епітеліоцитів, а також формування межової регенеративної структури [16].

Для морфологічного аналізу застосовували світлооптичне дослідження гістологічних препаратів із використанням напівкількісної методики. Відновлення шкірних структур оцінювали за бальною системою згідно з певними критеріями [13, 14, 16, 99]:

- .регенерація епідермісу (0 – відсутня, 1 – поодинокі клітинні мітози, часткова міграція клітин, 2 – наявність епітеліального пласта в зоні дефекту, 3 – повна регенерація);
- ангіогенез (0 – не виявлений, 1 – поодинокі кровоносні судини, 2 – помірний процес формування нових судин, 3 – багато новоутворених судин в пограничній зоні та прилеглій дермі;
- запальна інфільтрація (0 – відсутня, 1 – мінімальна, 2 – помірна, 3 – інтенсивна).

На основі отриманих результатів проводили розрахунок середніх значень і стандартних відхилень. Зіставлення показників між експериментальними та контрольною групами дало змогу кількісно

охарактеризувати репаративну активність гелю «Холідент». Така методика забезпечила обґрунтовану оцінку динаміки відновних процесів під впливом досліджуваної фармацевтичної композиції.

2.6. Дослідження токсикологічних характеристик нового оромукозального гелю

Об'єкти дослідження. Дослідження проведені на культурах клітин епідермоїдної карциноми ротової порожнини людини лінії КВ та диплоїдних фібробластах людини. Клітинні лінії отримані з колекції Клітинного банку ліній з тканин людини та тварин, Інституту експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р.Є. Кавецького НАН України.

Культура клітин епідермоїдної карциноми ротової порожнини людини лінії КВ. Клітинна лінія була отримана у 1954 році H. Eagle з епідермоїдної карциноми губи дорослого пацієнта чоловічої статі європеоїдної раси. Клітини лінії КВ містять послідовності вірусу папіломи людини 18 типу. Характер експресії рецепторів до епідермального фактора росту і трансферину на поверхні клітин КВ типовий для клітин епітеліального походження – відмічений високий рівень експресії обох маркерів. Каріотип: 2n = 46, модальне число 74 – 78 (рис. 2.1).

Диплоїдні фібробласти людини. Клітини отримані з нормальної шкіри людини. Клітини характеризуються класичною фібробластоподібною морфологією. Це моношарова клітинна лінія. Клітини продукують прозапальні цитокіни Іл-6 і Іл-8. Каріотип: 2n = 23 (46 хромосом) (рис. 2.2).

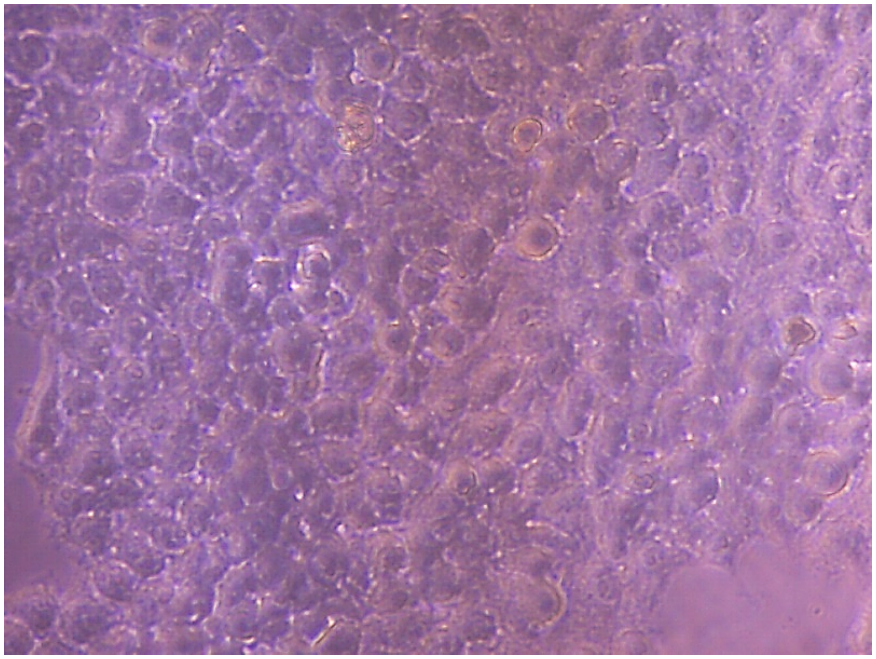


Рис. 2.1. Культура клітин епідермоїдної карциноми ротової порожнини людини лінії КВ. Фотографія живих клітин (об. х40)

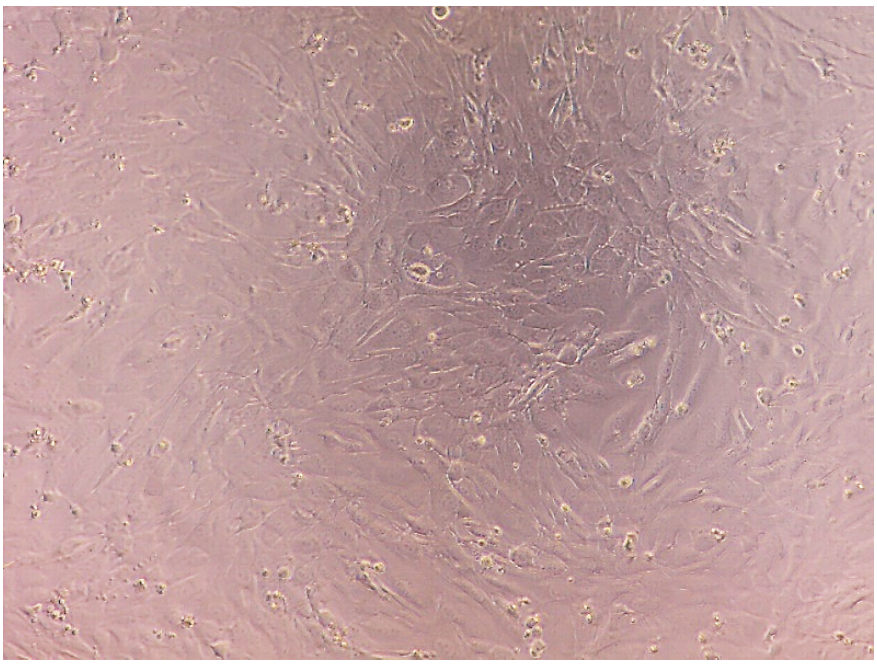


Рис. 2.2. Диплоїдні фібробласти людини.
Фото живих клітин (об. х20).

Досліджувані АФІ та лікарські засоби:

1) Настойка «Фітодент» (ПАТ «Хімфармзавод Червона зірка», Україна, с. 041221, придатний до 01.2024) – для експерименту використовували 15% водний розчин «Фітодент», pH=7,0;

2) Холіну саліцилат 80% (Siegfried Evionnas SA, Швейцарія, с. 22044005, придатний до 12.02.2024) – для експерименту використовували водний 8% розчин холін саліцилату, pH=7,0;

3) Лідокаїну гідрохлорид (ПАТ Галичфарм, Україна, с. 714, дата виробництва 29.12.2016) - для експерименту використовували водний 1,5% розчин лідокаїну гідрохлориду, pH=7,0;

4) Вода для ін'єкцій (Лекхім, Україна, с. 71003022) – негативний контроль;

5) Тест-препарат (стоматологічний гель) – суміш настойки «Фітодент» (15%), холіну саліцилату (8%), лідокаїну гідрохлориду (1,5%) і води для ін'єкцій (75,5%), pH=7,0;

6) Препарат поривняння - Хлоргексидин (ПрАТ Фармацевтична фабрика «Віола», Україна, с. 030123, придатний до 01/26) – позитивний контроль.

Культивування клітин. Клітинні КВ-лінії та лінії нормальних фібробластів людини (в експоненціальній фазі росту) культивували в умовах зволоженого інкубатора при температурі 37 °С та в атмосфері, збагаченій 5 % вуглекислого газу. Для цього застосовували поживне середовище DMEM, збагачене 10 % фетальною сироваткою теляти (ФСТ) та антибіотиком-антимікотиком (Biowest, Франція). Клітини висівали у спеціальний пластиковий лабораторний посуд для культивування. Заміна середовища та пересів клітин проводилися за загальноприйнятим стандартним протоколом. Пересів виконували за досягнення клітинною культурою 70 % щільності моношару з використанням розчину Версена [17].

Досліджувані препарати розводили у повному поживному середовищі до робочих концентрацій.

Визначення життєздатності клітин колориметричним методом.

Через одну добу після пересівання клітинні культури піддавали обробці розчином Версена з метою їх делікатного відокремлення від поверхні субстрату. Отриману суспензію клітин поміщали у стерильні ємності для наступного аналізу. Кількість клітин визначалася шляхом підрахунку у камері Горяєва із застосуванням забарвлення трипановим синім, що дозволяє виявити нежиттєздатні клітини на тлі життєздатної популяції. Застосований метод дав змогу точно оцінити концентрацію клітин у зразку та їх життєздатність [17].

Культури клітин КВ-лінії та фібробластів розміщували у лунках планшетів на 96 комірок, використовуючи середовище DMEM з додаванням 10 % фетальної телячої сироватки, у розрахунку на одну лунку планшета 1×10^4 клітин. Протягом 24 годин інкубацію здійснювали в умовах, оптимізованих для росту клітин: при температурі 37 °С, вологості та концентрації вуглекислого газу на рівні 5 %. Після добового культивування у призначені лунки додавали досліджувані речовини в трикратному повторенні відповідно до експериментального плану: досліджуваний гель, АФІ, позитивний і негативний контролі до кінцевої концентрації: 20%, 10%, 5%, 2,5%, 1,2%, 0,6%, 0,3%. Клітини культивували у зволоженій атмосфері при 5% CO_2 и 37^0С протягом 24 годин [17].

Наступним етапом стало визначення кількості живих клітин методом прямої мікроскопії, колориметричним методом (забарвлення живих клітин кристалічним фіолетовим) і методом МТТ-тесту [100, 101].

Після контакту клітин з тестованими речовинами завершували інкубаційний етап, після чого з кожної лунки повністю видаляли залишки поживного середовища разом із клітинними елементами, що втратили життєздатність. Для виявлення живих клітин у кожну комірку додавали по 50 мкл барвника — кристалічного фіолетового, розведеного у 70 % метанолі до концентрації 5 мг/мл. Даний барвник має властивість зв’язуватися з нуклеїновими кислотами та білками всередині клітин, що дозволяє їх чітко

ідентифікувати. Планшети витримували при температурі приміщення протягом 10 хвилин для завершення реакції фарбування. Після інкубації надлишок розчину обережно видаляли, а залишки барвника змивали проточною холодною водою, повторюючи процедуру п’ять разів [17].

Після закінчення промивання залишки вологи з лунок ретельно видаляли, постукуючи перевернутим планшетом по фільтрувальному паперу. Після завершення стадії фарбування планшет залишали у затемненому місці при температурі навколишнього середовища для повільного висихання протягом доби.

Наступним етапом була елюція барвника: до кожної окремої лунки вносили по 100 мкл 96% розчину етанолу. Після внесення спирту планшет фіксували на платформі лабораторного мікрошатера і протягом 10 хвилин проводили струшування зі швидкістю 300 обертів за хвилину для повного вилучення зв’язаного барвника [17].

Дослідження мітохондріальної активності в МТТ-тесті

У рамках МТТ-аналізу, після завершення інкубації клітин із досліджуваними зразками, до кожної лунки 96-коміркового планшета додавали по 10 мкл МТТ-реагенту (концентрація — 5 мг/мл; 3-(4,5-диметилтіазол-2)-2,5-дифенілтетразоліум бромід, розчинений у фосфатно-сольовому буфері). Далі планшет розміщували у насиченому вуглекислим газом інкубаторі на 3 години для утворення продуктів відновлення, фіксували зміну кольору середовища в лунках, що визначалася за кількістю внутрішньоклітинних кристалів формазану темно-фіолетового відтінку, які свідчать про метаболічну активність клітин [17].

НАДФ-Н-залежні клітинні оксидоредуктазні ферменти здатні відновлювати 3-(4,5-диметилтіазол-2) -2,5-дифенілтетразоліум бромід до нерозчинного формазану, який має пурпурне забарвлення. Далі за допомогою автоматичної піпетки з усіх лунок планшета акуратно, не зачіпаючи осад кристалів формазану, видаляли поживне середовище. Наступним кроком

стало додавання до кожної комірки планшета 100 мкл диметилсульфоксиду (ДМСО). Після внесення реагенту планшет розміщували на платформі мініатюрного шейкера та витримували в режимі струшування протягом 10 хвилин при швидкості 300 обертів на хвилину. Протягом цього часу відбувалося повне розчинення сформованих кристалів формазану у ДМСО, що забезпечувало подальшу кількісну оцінку метаболічної активності клітин [17].

Поглинання світла вимірювали за допомогою спектрофотометричного аналізу з використанням приладу, що забезпечує вертикальну геометрію ходу променя, при довжині хвилі 540 нм. Кількісне визначення життєздатності клітин (Х) у кожній комірці планшета проводили у відсотках, застосовуючи спеціалізовану формулу для розрахунку, яка дозволяє дати об'єктивну оцінку рівню метаболічної активності клітинної маси [17]:

$$X = \frac{A_1 \cdot 100\ \%}{A_0},$$

де A_0 – середній показник оптичної щільності (негативний контроль),

A_1 – середній показник оптичної щільності (досліджувані зразки, експериментальна група).

Порівняльну оцінку життєздатності клітинної популяції після 24-годинної інкубації з досліджуваним зразком здійснювали відносно інтактної контрольної групи клітин. Аналогічним чином було здійснено порівняння з позитивним і негативним контролем. Для визначення концентрації, що спричиняє 50 % зниження життєздатності клітин, застосовували пробіт-аналіз, розраховуючи значення IC_{50} як показник цитотоксичної дії досліджуваного препарату [17].

Визначення впливу на рівень продукції активних форм кисню в клітинах

Для визначення впливу на рівень утворення активних форм кисню (АФК) у клітинах КВ-лінії після експозиції з досліджуваним оромукозальним гелем

[102], клітини висівали на стерильні покривні скельця. Посів здійснювали у середовищі DMEM, збагаченому 10 % фетальною телячою сироваткою та антимікробним комплексом, у концентрації 1×10^5 клітин на чашку. Клітинні культури протягом 24 годин інкубували у стандартних умовах — при температурі 37 °C, у зволоженому середовищі з 5 % вмістом вуглекислого газу —для забезпечення адгезії та стабільного росту клітин перед аналізом [17].

Для оцінки продукції активних форм кисню (АФК) [102] в клітинах лінії КВ після їх обробки тест-препаратом (стоматологічний гель), клітини висаджували на чашки Петрі d = 35 мм, в які поміщали стерильні покривні скельця. Клітини висаджували у поживному середовищі DMEM з 10% ФСТ з антибіотиком-антимікотиком в концентрації $1x10^5$ клітин/чашку і культивували у зволоженій атмосфері при 5 % CO_2 и 37 ^{0}C протягом 24 годин [17].

На наступному етапі у відповідні чашки Петрі вносили досліджувану гелеву композицію або контрольну речовину (хлоргексидин) у концентраціях 3 % та 0,5 % відповідно. Після цього клітини залишали в умовах культивування ще на 24 години при температурі 37 °C у середовищі, збагаченому 5 % вуглекислого газу.

По завершенні інкубаційного періоду з культуральних ємностей обережно видаляли рідке середовище, після чого клітини дворазово промивали охолодженим фосфатно-сольовим буфером (ФСБ). Далі до кожної чашки додавали 1 мл свіжого ФСБ із додаванням флуоресцентного зонду DCFH до фінальної концентрації 50 мкМ [17].

Інкубацію клітин із зазначеним барвником проводили впродовж 20 хвилин у термостаті за стандартних умов (37 °C, 5 % CO_2). Зонд 2′,7′-дихлордигідрофлуоресцеїн (DCFH) легко транспортується через клітинну мембрану й у присутності реактивних кисневих форм окислюється до флуоресцентної форми — 2′,7′-дихлорфлуоресцеїну (DCF). Оскільки зонд взаємодіє з різними типами АФК, він не забезпечує селективності щодо конкретної молекулярної форми [17].

Після завершення інкубації клітини повторно промивали буфером, а покривні скельця з адгезованим моношаром обережно переносили на предметні скельця. Реєстрацію інтенсивності флуоресценції проводили негайно за допомогою мікроскопа, оснащеного УФ-джерелом світла з довжиною хвилі 490 нм.

Рівень утворення активних форм кисню в клітинних структурах оцінювали напівкількісним методом за допомогою бальної системи, що дозволяла порівнювати ступінь окисного навантаження між експериментальними варіантами.

При цьому негативний контроль (нефарбовані клітини) прийняли за мінімум – 0,0 балів, тоді як забарвлені клітини з найбільш яскравим свіченням – за максимум – 100,0 балів.

Визначення показників загибелі клітин (апоптоз, некроз) методом проточної цитометрії

Відсоток живих, апоптотичних та некротичних клітин лінії КВ після дії тест-препарату (стоматологічний гель) визначали з використанням анексину V, кон'югованого з флуоресцентним барвником FITC, та пропідію йодиду за допомогою відповідного набору фірми Dojindo (Японія).

Аннексин V зв'язується з поверхнею клітини, яка перебуває на початкових етапах апоптозу, а пропідій йодид забарвлює тільки ті клітини, у яких порушена проникність клітинної мембрани, що відбувається на пізніх етапах апоптозу та під час некрозу [17, 103].

Клітини епідермоїдної карциноми висівали у комірки планшету, що містив 12 лунок, використовуючи поживне середовище DMEM, збагачене 10 % фетальною телячою сироваткою та антимікробним комплексом (антибіотик + антимікотик), у концентрації 1×10^5 клітин на кожну лунку.

Культивування здійснювали протягом 24 годин у стандартному середовищі з контрольованою температурою 37 °C, 5 % вмістом вуглекислого газу та високим рівнем вологості [17].

Після доби інкубації у визначені лунки планшету вводили досліджуваний гелевий зразок згідно з експериментальною схемою або позитивний контроль (хлоргексидин) до кінцевих концентрацій 3 % та 0,5 %. Через 18 годин після інкубації клітин з тест-агентом або позитивним контролем КВ знімали з чашок Петрі та підраховували їх кількість.

Після промивання клітин ФСБ проводили їхнє забарвлення згідно з протоколом виробника набору з деякими власними модифікаціями. З метою проведення аналізу, клітини переводили у стан суспензії у фарбувальному буфері при концентрації $1{,}0\times10^6$ клітин на мілілітр. Для кожного експериментального варіанту відбирали по 0,1 мл клітинної суспензії та переносили в окремі пробірки, призначені для цитометричного дослідження. До кожного зразка додавали 5 мкл розчину Аннексин V, міченого флуоресцеїн ізотіоціанатом (FITC), після чого зразки обережно ресуспендували та витримували у темному місці при температурі навколишнього середовища протягом 15 хвилин. По завершенні інкубації до кожної пробірки додатково вносили 0,4 мл буфера для завершення фарбувальної реакції, ресуспендували та додавали 50 мкл розчину пропідію йодиду (10 мкг/мл) [17].

Після додавання буфера зразки інкубували протягом однієї хвилини, після чого одразу ж проводили аналіз на проточному цитофлуориметрі DxFlex (виробник — Beckman Coulter), обладнаному лазерним джерелом з довжиною хвилі збудження 488 нм (синій спектр).

Флуоресценцію, зумовлену зв’язуванням Аннексину V, кон’югованого з FITC, реєстрували у каналі FITC з використанням світлофільтра 525/40 нм (діапазон пропускання). У свою чергу, сигнал, що відповідав фарбуванню пропідію йодидом, аналізували у каналі ECD із застосуванням фільтра з параметрами 610/20 нм. Значення підсилення (gain) встановлювали відповідно до налаштувань приладу для кожного каналу окремо. Для каналу FITC він

становив 2 та для каналу ECD – 10. Параметри спектральної компенсації флуоресценції барвників FITC та пропідію йодиду розраховували в попередньому модельному експерименті з індукцією апоптозу клітин KB етопозидом та індукцією некрозу шляхом нагрівання з використанням спеціальної програмної опції в режимі “негативного” та “позитивного” піку для кожного барвника. Експеримент виконували у трикратному повторенні з метою підвищення достовірності результатів [17].

Під час проведення проточно-цитометричного аналізу застосовували стратегію гейтування, що передбачала максимально широке охоплення популяції клітин, при цьому дрібні частки та клітинний детрит виключали за допомогою аналізу на FSC-A/SSC-A дот-плоті. Для запобігання включенню дуплетів у результати аналізу використовували графік FSC-A проти FSC-H, що дозволяло коректно визначити лише одиничні клітини.

Реєстрація кількості клітин, що перейшли до стадій апоптозу та некрозу здійснювали з використанням квадрантного гейтування на двоканальному дот-плоті, побудованому за параметрами флуоресценції у каналах FITC-A та ECD-A. Такий підхід дозволяв розподілити клітини відповідно до стадії життєвого циклу, базуючись на характері забарвлення флуоресцентними маркерами (рис. 2.3) [17].

У ході дослідження, залежно від типу досліджуваного зразка, кількість зареєстрованих подій становила від 30 000 до 46 000.

Обробку та інтерпретацію отриманих результатів здійснювали з використанням спеціалізованого програмного забезпечення CytExpert for DxFlex**.** Для визначення стану клітин — зокрема, розподілу між апоптозом та некрозом — застосовували аналіз у форматі чотирьох квадрантів на двовимірному плоті за осями FITC-A та ECD-A, що дозволяло чітко розмежовувати клітини залежно від їх флуоресцентних характеристик [17].

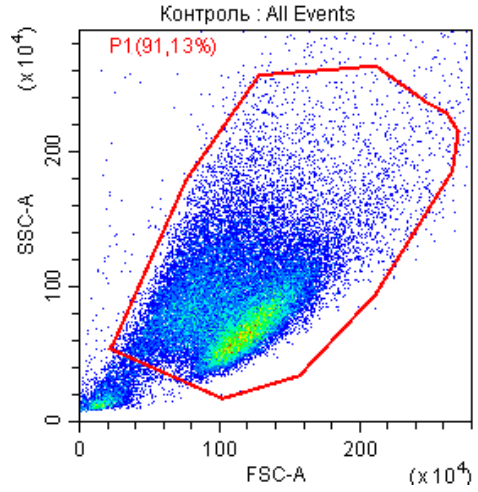
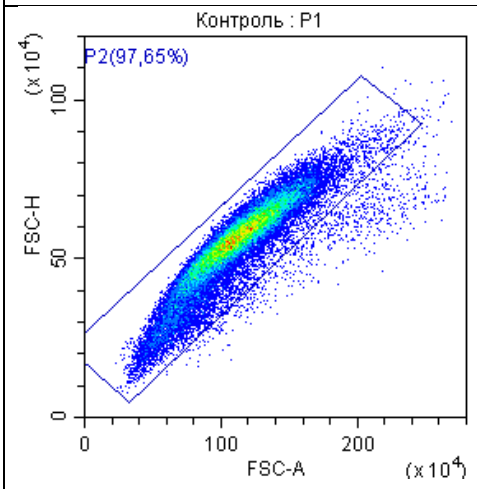
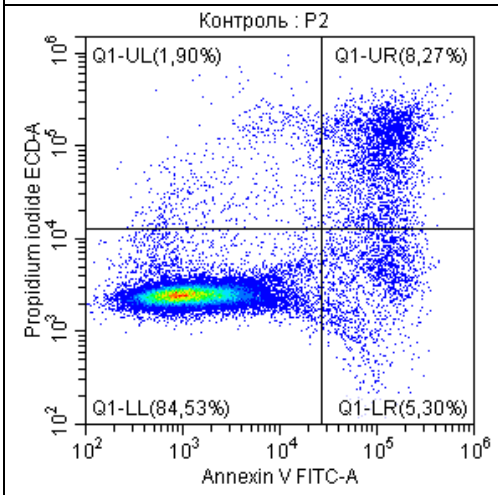
	А – Максимально широке охоплення життєздатних клітин із одночасним виключенням неклітинних частинок та клітинного детриту – гейт P1.
	Б - Гейтування з метою виключення клітинних дуплетів та забезпечення аналізу виключно окремих клітин (синглетів) здійснювали за допомогою встановлення гейту P2, він дозволяв відфільтрувати події, що відповідали одиничним клітинам, на основі співвідношення сигналів FSC-A та FSC-H, забезпечуючи достовірність результатів цитофлуориметричного дослідження.
	В – псевдокольоровий плот FITC-A/ECD-A з квадрантами для підрахунку параметрів апоптозу та некрозу.

Рис. 2.3. Стратегія гейтування при оцінці параметрів апоптозу та некрозу клітин КВ після дії тест-агенту та препарату порівняння

Під час аналізу даних проточної цитометрії використовують гейт типу чотирьох квадрантів, який дозволяє підрахувати: 1) клітини, які не демонструють забарвлення аннексином та пропідіум йодидом – живі клітини; 2) клітини, які демонструють забарвлення тільки аннексином – так званий ранній апоптоз; 3) клітини, які одночасно забарвлені і аннексином і пропідіум йодидом – так званий пізній апоптоз; 4) клітини, які забарвлені тільки пропідіум йодидом – так звані некротичні клітини.

2.7. Вибір та обґрунтування методів статистичної обробки результатів досліджень

Статистичну обробку отриманих даних проводили за допомогою ліцензованого статистичного пакету IBM SPSS Statistics (версія 23.0., виробник «SPSS», США, користувач – НМУ ім. О.О. Богомольця), Microsoft Excel for Windows (2010), Medstat (версія 5.2).

Для перевірки розподілу даних на відповідність нормальному закону розподілу було використано статистичний критерій Шапіро-Уїлкі. Більшість параметрів відображали нормальний розподіл, тому використовували параметричні критерії, а саме: t-критерій Ст'юдента та F-критерій Фішера. Міру достовірності отриманих результатів, а також різницю між середніми величинами досліджуваних показників у вибірках було перевірено за допомогою вище зазначених критеріїв значущості.

Критерій Стюдента (t-тест) є параметричним методом, що використовується для порівняння середніх значень двох незалежних вибірок з метою визначення, чи існують статистично значущі відмінності між ними. Метод передбачає, що дані у вибірках мають нормальний розподіл та рівні дисперсії. t-тест обчислюється як відношення різниці між середніми значеннями груп до стандартної помилки цієї різниці.

Проводили оцінку наступних статистичних параметрів: середнє арифметичне значення, стандартна похибка середнього, що відображає

точність оцінки, та p - показник рівня статистичної достовірності (дозволяє встановити значущість відмінностей між порівнюваними групами), обсяг вибірки (всі вищезазначені показники наведено в таблицях даної роботи). За рівень статистичної значущості прийнято $p < 0,05$.

Для статистичних даних, розподіл яких відрізняється від нормального, порівняння проводилось за допомогою медіани та середнього квадратичного відхилення ($Me \pm \sigma$). Для таких показників порівняння проводилось за допомогою таких статистичних критеріїв узгодженості: для пов'язаних вибірок використовували критерій знакових рангів Уілкоксона, для непов'язаних вибірок – критерій Уілкоксона-Манна-Уітні.

Критерій знакових рангів Уілкоксона є непараметричним методом, що використовується для порівняння двох залежних вибірок, зокрема для аналізу змін у значеннях між двома вимірюваннями. Він базується на підрахунку знаків (позитивних і негативних) та рангах різниць між парами спостережень, що дозволяє оцінити статистичну значущість відмінностей. Метод є альтернативою парному t-тесту для випадків, коли дані не відповідають нормальним розподілам або містять викиди.

Критерій Уілкоксона-Манна-Уітні, або тест Манна-Уітні, є непараметричним методом порівняння двох незалежних вибірок для визначення, чи існують статистично значущі відмінності між їхніми розподілами. Тест базується на ранжуванні всіх спостережень з обох груп і порівнянні суми рангів, що дозволяє оцінити, чи одна група має більші або менші значення за іншу. Метод є альтернативою t-тесту для незалежних вибірок і використовується, коли дані не відповідають нормальним розподілам.

Для порівняння показників середніх значень в трьох і більше групах було використано метод дисперсійного аналізу (ANOVA). Він аналізує варіацію даних всередині груп і між групами, порівнюючи загальну дисперсію з дисперсією, що виникає в межах кожної групи. ANOVA застосовується за умови, що дані мають нормальний розподіл, вибірки незалежні і дозволяє

уникнути множинних порівнянь, що підвищує ймовірність помилок першого роду.

Згідно стандартів медичних досліджень, ймовірність статистичної помилки першого типу (альфа) встановлювалась на рівні 0,05, а статистичної помилки другого типу (бета) – на рівні 0,2, потужність дослідження – на рівні 80 %.

Таким чином, вище зазначені методи були обрані для обробки результатів досліджень. Всі числові дані представлені в розділі 3.

Висновки до розділу 2

Було обрано методи дослідження фармакологічних властивостей нового стоматологічного гелю.

На основі моделі каолінового набряку лапи щурів було досліджено анальгетичну (місцевоанестезувальну) активність тест-зразків для визначення оптимального вмісту лідокаїну гідрохлориду, а також проведено порівняння анальгетичної активності тест-зразка лідера з референтним препаратом.

На основі моделі карагенінового набряку лапи щурів було досліджено протизапальну (антиексудативну) активність нового гелю в порівнянні з референтним препаратом.

На основі моделі термічного опіку шкіри щурів було досліджено репаративну активність досліджуваного гелю в порівнянні з групою контрольної патології.

Було досліджено окремі показники безпеки нового гелю: вивчення життєздатності клітин колориметричним методом, дослідження мітохондріальної активності в МТТ тесті, вивчення показників загибелі клітин методом проточної цитометрії, вплив нового гелю та його складників на активні форми кисню в порівнянні з референтним препаратом.

Усі отримані результати було статистично оброблено за допомогою сучасного програмного забезпечення.

Аналіз отриманих результатів, який буде наведено в розділі 3, дозволить сформувати уявлення про можливий механізм дії стоматологічного гелю та окреслити перспективи його застосування.

РОЗДІЛ 3
РЕЗУЛЬТАТИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ВИВЧЕННЯ ДОСЛІДЖУВАНОГО СТОМАТОЛОГІЧНОГО ГЕЛЮ КОМБІНОВАНОГО СКЛАДУ

Сучасна стоматологія потребує ефективних лікарських засобів для лікування запальних змін слизової оболонки порожнини рота. Одним із перспективних методів є використання стоматологічних гелів комбінованого складу, що поєднують антисептичні, протизапальні та репаративні властивості, тобто впливають одночасно на всі ланки патогенезу запального процесу. У даному дослідженні новий оромукозальний гель було експериментально випробувано з метою оцінки його впливу на процеси регенерації, зменшення запалення та болю.

Експериментальна частина роботи включала аналіз динаміки загоєння експериментальних ушкоджень, оцінку протизапальної та антиноцицептивної активності. Отримані результати дали змогу визначити специфіку дії досліджуваного препарату та його потенційні переваги при клінічному застосуванні.

3.1. Результати дослідження анальгетичної активності

Першим етапом експериментального дослідження став скринінг місцевоанестезувальної дії з метою визначення оптимального вмісту лідокаїну гідрохлориду в складі тестових гелевих композицій, які містили різні концентрації анестетика — 1,0 %, 1,5 % та 2,0 %.

Лабораторні тварини були поділені на три експериментальні групи залежно від концентрації лідокаїну в нанесеному зразку: перша група отримувала гель із вмістом 2,0 % лідокаїну гідрохлориду (тест-зразок № 1), друга — препарат із концентрацією 1,5 % (тест-зразок № 2), третя — зразок, що містив 1,0 % активної речовини (тест-зразок № 3).

Отримані результати наведено у таблиці 3.1, що дозволяє порівняти вираженість місцевоанестезувального ефекту залежно від концентрації анестетика.

Таблиця 3.1

Динаміка місцевоанестезувальної активності тест-зразків гелю

Група, n=6	Стат. показник	Початковий поріг больової чутливості	1 год. (максимум больової реакції)	15 хв. після нанесення	30 хв. після нанесення	1 год. після нанесення
Тест-зразок № 1	M	271,47	186,98	292,58	300,75	225,79
	±m	67,79	25,03	46,49	33,51	32,36
	%[1]	–	–	+56,45%*	+60,76%*	+20,74%
	%[2]	–	–30,89%*	+7,14%	+10,71%	–16,88%
Тест-зразок № 2	M	235,38	209,55	294,59	322,11	234,19
	±m	42,77	21,22	57,43	17,87	35,49
	%[1]	–	–	+40,46%*	+53,58%*	+11,67%
	%[2]	–	-11,11%	+25,09%	+36,75%	–0,42%
Тест-зразок № 3	M	309,67	245,69	287,01	313,95	269,51
	±m	30,33	27,97	37,21	53,29	41,77
	%[1]	–	–	+16,78%	+27,39%	+9,69%
	%[2]	–	–20,66%	–7,14%	+1,01%	–12,88%

Примітка: [1] – відсоток зміни до максимального порогу больової чутливості (пік запальної реакції);

[2] – відсоток зміни до нормального порогу больової чутливості;

* – $p \leq 0,05$.

На основі отриманих даних встановлено, що через одну годину після індукції запального процесу у тварин усіх дослідних груп спостерігався чітко виражений больовий синдром, що свідчить про ефективність моделювання запального болю для подальшої оцінки місцевоанестезувальної дії тест-зразків.

Динаміка зміни анальгетичної активності всіх трьох тест-зразків представлена на рис.3.1.

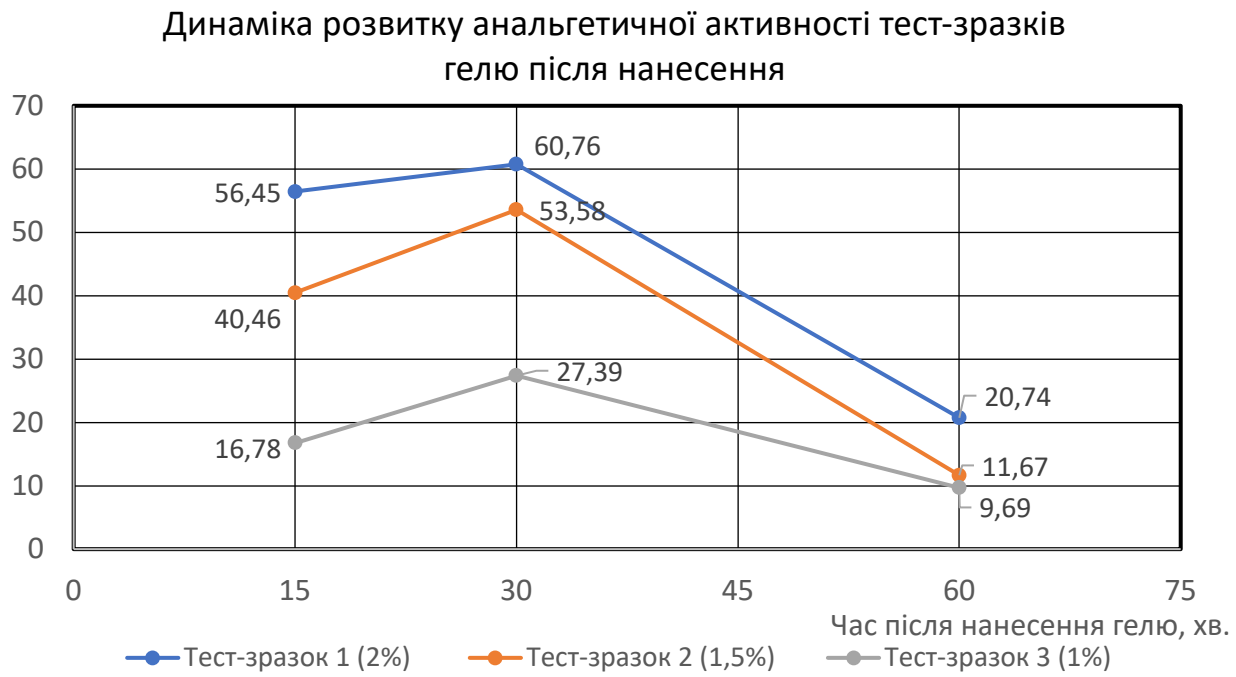


Рис. 3.1. Динаміка розвитку анальгетичної (місцевоанестезувальної) активності досліджуваних тест-зразків нового стоматологічного гелю

За результатами дослідження (див. табл. 3.1, рис.3.1), застосування тест-зразку № 3 не виявило достовірного антиноцицептивного ефекту і може розглядатися як тенденція аналгезії. Це може свідчити про втрату анальгетичної активності зі зменшенням вмісту лідокаїну до 1,0 % і служити обґрунтуванням збільшення концентрації лідокаїну гідрохлориду до 1,5 % [15].

Виражений місцевоанестезувальний ефект відзначався при застосуванні тест-зразків гелю № 1 та № 2 через 15 і 30 хв. і за тривалістю був не менше 2-х годин. Застосування гелю в концентрації 2,0 % та 1,5 % знижувало чутливість запаленої лапи у порівнянні з вихідним значенням. У той же час

були відсутні достовірні відмінності між виразністю антиноцицептивної активності між зразками гелю № 1 і № 2 [15].

Додатково було проведено дослідження анальгетичної дії гелевої форми препарату, що містила обрану оптимальну концентрацію лідокаїну гідрохлориду — 1,5 %. Ефективність цього зразка порівнювали з референтним препаратом, до складу якого входив лідокаїн у кількості 2,0 %. Дані, отримані в ході експерименту, узагальнено та представлено в таблиці 3.2.

Таблиця 3.2

Результати вивчення анальгетичної активності тест-зразків

Зразок	Стат. показник	Початковий поріг больової чутливості	1 год. (максимум больової реакції)	15 хв. після нанесення	30 хв. після нанесення	1 год. після нанесення
Стоматологічний гель, що розробляється n=5	M	235,36	209,59	294,55	322,12	234,19
	±m	42,77	21,21	57,42	17,88	35,48
	%[1]	-	-	+40,51%*	+53,55%*	+41,68%
	%[2]	-	-11,12%	+25,14%	+36,75%	-0,41%
Референтний препарат n=5	M	414,29	263,03	360,71	362,66	387,02
	±m	13,45	11,71	22,79	20,24	13,66
	%[1]	-	-	+36,79%*	+37,91%*	+47,13%*
	%[2]	-	-36,45%	-12,39%	-12,49%	-6,66%

Примітка: [1] – відсоток зміни до максимального порогу больової чутливості (пік запальної реакції);

[2] – відсоток зміни до нормального порогу больової чутливості;

* – $p \leq 0,05$.

Підвищення ПБЧ (показник М у таблиці) свідчить про наявність аналгетичного ефекту. Таким чином, чим вищим є значення ПБЧ, тим потужнішою є антиноцицептивна (місцевоанестезувальна) дія препарату. Це дозволяє об’єктивно оцінити зменшення больового відгуку організму на тлі

запального процесу. Особливо актуальним є визначення цього показника для засобів місцевої дії, які застосовуються на слизовій оболонці порожнини рота, де високий рівень іннервації обумовлює вираженість больових відчуттів навіть при незначному запаленні.

Динаміка анальгетичної активності досліджуваного тест-зразка у порівнянні з референтним препаратом представлена на рис.3.2.

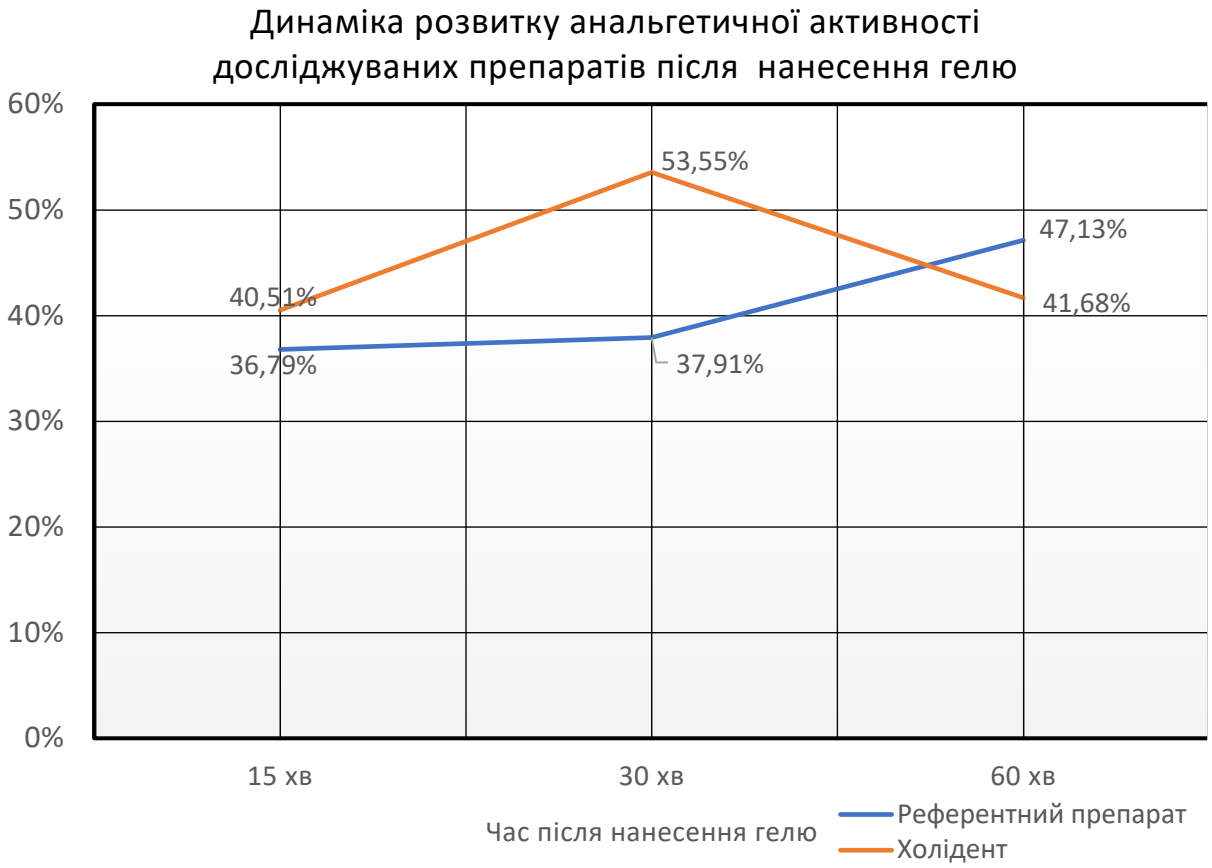


Рис. 3.2. Динаміка розвитку анальгетичної (місцевоанестезувальної) активності досліджуваного тест-зразка лідера в порівнянні з референтним препаратом

За результатами дослідження (див. табл. 3.2, рис.3.2), запропонований оромукозальний гель з 1,5 % лідокаїну гідрохлориду за виразністю антиноцицептивного ефекту перевершував референтний препарат (через 15 хв. на 3 % та через 30 хв. після нанесення на 16 % відповідно), але за тривалістю анальгетичної дещо йому поступався [13-15].

3.2. Результати дослідження антиексудативної активності

Дослідження антиексудативної дії оромукозального гелю “Холідент” проводили у порівнянні з референтним препаратом, що містить екстракт ромашки та лідокаїну гідрохлорид – препаратом з місцевоанестезувальною, протимікробною і протизапальною видами дії для місцевого застосування. Нанесення зразків проводили через одну годину після введення запального індуктору, тобто на етапі, коли запальний процес перебуває під впливом ранніх медіаторів, зокрема гістаміну та серотоніну, що переважають у цій фазі відповіді. Узагальнені результати фармакологічної оцінки представлено в табл. 3.3.

Таблиця 3.3

Динаміка протизапальної (антиексудативної) активності стоматологічних гелей

Експеримен-тальна група, n=6	Стат. показник	Початковий об’єм лапи	Через 1 год. після індукції запалення	Час після нанесення гелю			
				0,5 год.	1 год.	1,5 год.	2 год.
Досліджуваний гель	V	0,79	1,05	0,98	0,94	1,13	1,09
	±v	0,029	0,039	0,021	0,019	0,033	0,043
	%[1]	–	–	–6,7	–10,4	+7,6%	+3,8
	%[2]	–	+29,2*	+24,1	+18,9	+43,1	+33,7
Референтний препарат	V	0,78	1,07	1,05	0,96	1,11	1,11
	±v	0,331	0,373	0,519	0,26	0,288	3.443
	%[1]	–	–	–1,8	–10,3	+3,7	+3,7
	%[2]	–	+37,2*	+34,6	+18,5	+40,5	+42,3

Примітки: V – початковий об‘єм лапи;

%[1] – відсоток зміни об’єму лапи до 1-ї години гострої запальної реакції;

%[2] – відсоток зміни до початкового об’єму лапи;

*$p \leq 0,05$.

Динаміка протизапальної активності досліджуваного гелю та референтного препарату приведена на рис.3.3 [13, 14, 16].

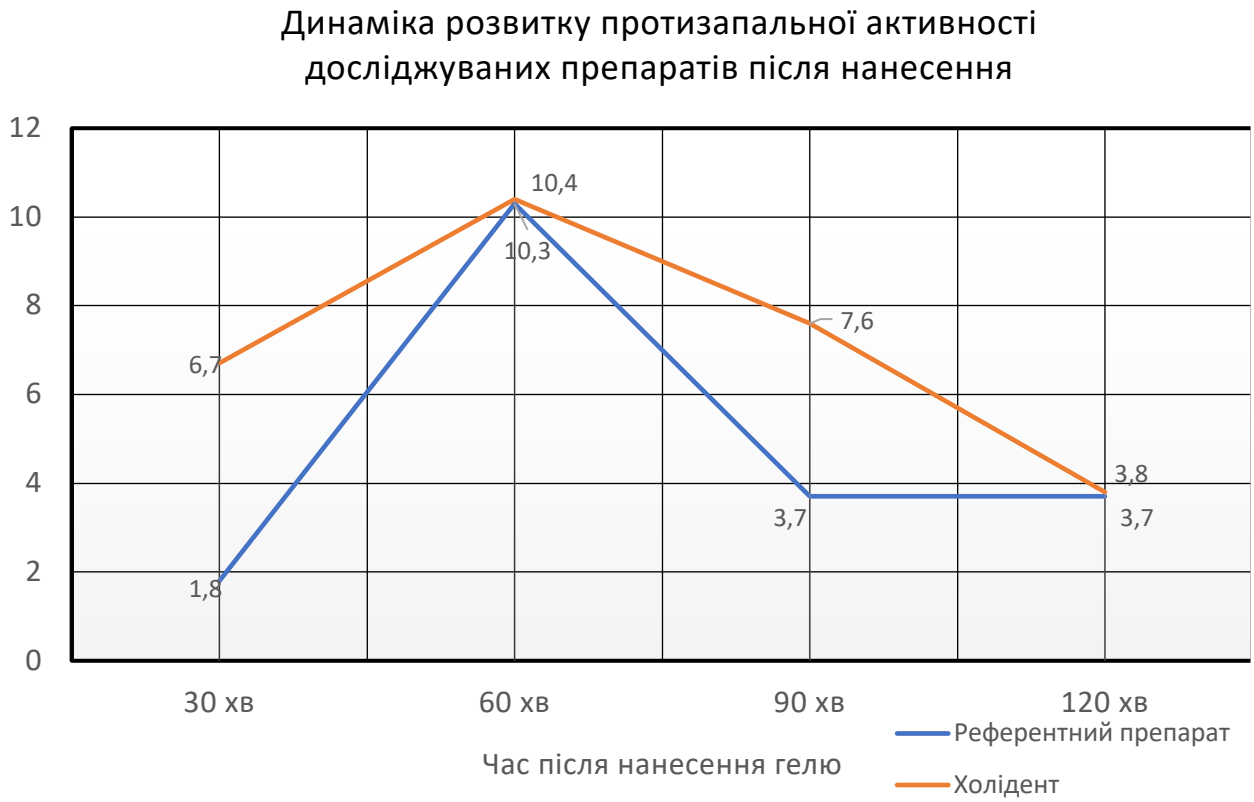


Рис. 3.3. Динаміка розвитку протизапальної (антиексудативної) активності досліджуваного гелю в порівнянні з референтним препаратом

Отже, на експериментальній моделі карагенін-індукованого набряку задньої кінцівки у щурів встановлено, що гель, що розробляється, достовірно знижує вираженість локальної запальної реакції. Препарат продемонстрував помірну, але статистично значущу антиексудативну активність, яка проявлялася вже через 30 хвилин після аплікації. У той час як референтний засіб починав діяти не раніше ніж через 1 годину. Імовірним механізмом реалізації такого ефекту є пригнічення вивільнення медіаторів ранньої запальної відповіді, зокрема гістаміну та кінінів, при збереженні активності простагландинового компонента [13, 14, 16].

3.3. Результати дослідження репаративної активності нового стоматологічного гелю

Регенераторну активність препарату досліджували на моделі шкірної опікової травми. Морфологічне вивчення тканин проводили для виявлення ключових ознак репаративного процесу в кожній експериментальній групі. Зокрема, аналізували наявність клітин запального інфільтрату, включаючи макрофаги; ступінь розвитку неоангіогенезу; інтенсивність епітелізації; характер міграції та проліферації епітеліоцитів; а також формування морфологічно визначеної межової відновлювальної зони. Для оцінювання гістологічних змін використовували напівкількісний метод у поєднанні зі світлооптичною мікроскопією.

На рис. 3.4 подано мікрофотографії гістологічних зрізів контрольної групи тварин, які після моделювання термічного опіку отримували лікування ізотонічним розчином натрію хлориду.

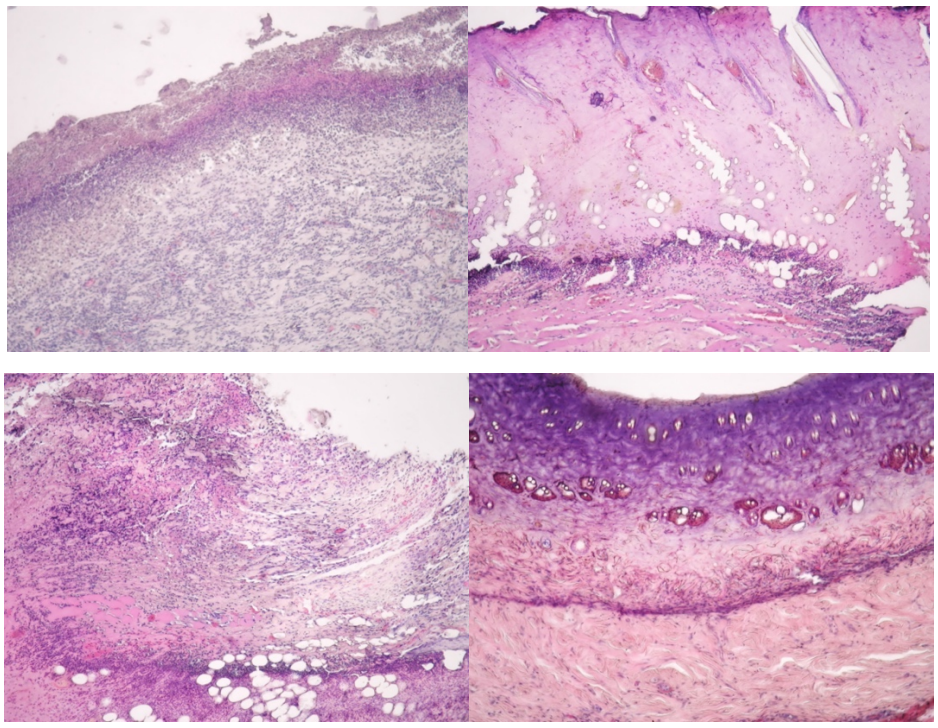


Рис. 3.4. Мікрофотографії гістологічних зрізів тварин групи контрольної патології на 4, 7, 14 і 21 день експерименту (об. х100).

На рис.3.5 подано мікрофотографії гістологічних зрізів контрольної групи тварин, які після моделювання термічного опіку отримували лікування досліджуваним гелем.

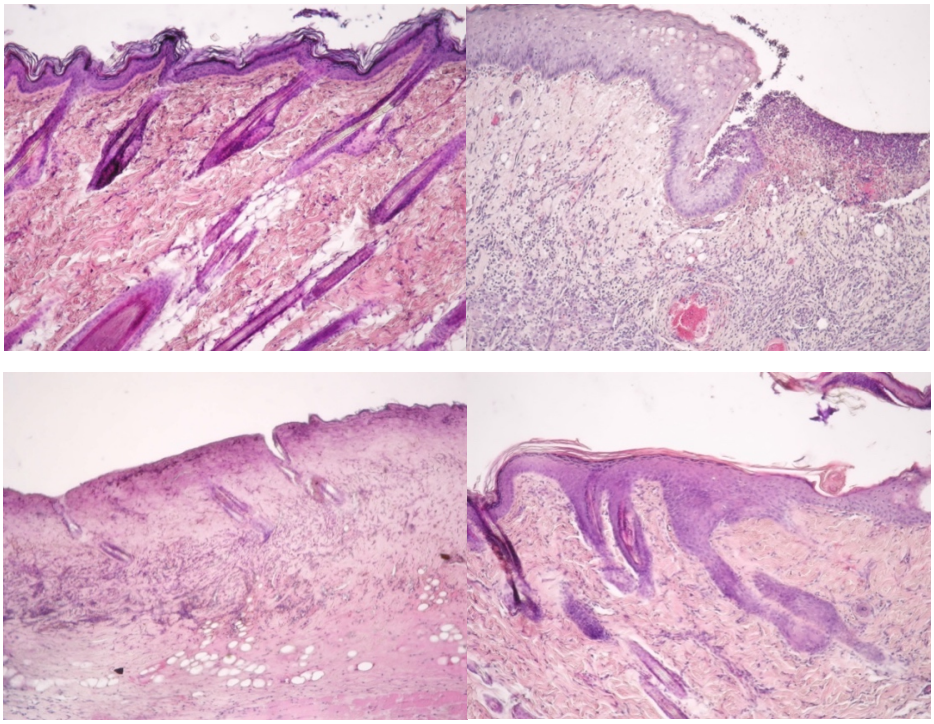


Рис. 3.5. Мікрофотографії гістологічних зрізів тварин експериментальних груп, які отримували лікування гелем на 4, 7, 14 і 21 день експерименту (об. х100)

Результати експерименту наведені у табл. 3.4.

Аналіз морфологічних змін за результатами гістологічного дослідження (табл. 3.4) свідчив про поступове зростання щільності клітинної інфільтрації у дермальному шарі як безпосередньо в зоні термічного ураження, так і в прилеглих тканинах протягом усього періоду спостереження — з 4-ї по 21-шу добу експерименту. У ранні строки дослідження (4 та 7 доба) ознаки відновлення епідермального шару над ураженою ділянкою були відсутні; натомість у межовій зоні, переважно в ділянці волосяних фолікулів, відзначались поодинокі ознаки мітозів [16].

Таблиця 3.4

Напівкількісна характеристика процесів шкірної регенерації за результатами морфологічного аналізу

Дослідні групи	Ознаки реепітелізації	Мітози у волосяних фолікулах	Формування нових мікросудин у пограничній зоні	Щільність макрофагальної інфільтрації в зоні термічної рани
КП, 4 доба	0,5 ± 0,25	1,0 ± 0,0	-	1,0 ± 0,0
КП, 7 доба	0,75 ± 0,25	0,5 ± 0,25	0,75 ± 0,25	2,75 ± 0,25
КП, 14 доба	0,75 ± 0,25	0,5 ± 0,25	1,0 ± 0,5	2,25 ± 0,25
КП, 21 доба	1,5 ± 0,25	1,0 ± 0,0	1,0 ± 0,0	2,75 ± 0,25
КП + Холідент, 4 доба	0,75 ± 0,25*	-	0,5 ± 0,25	1,25 ± 0,25
КП + Холідент, 7 доба	1,75 ± 0,25*	1,5 ± 0,25	0,5 ± 0,25	2,0 ± 0,0
КП + Холідент, 14 доба	1,5 ± 0,25	1,5 ± 0,25*	1,0 ± 0,0	1,25 ± 0,25
КП + Холідент, 21 доба	1,75 ± 0,25*	1,0 ± 0,0	1,25 ± 0,25*	2,25 ± 0,25

Примітка: * – відхилення показників є статистично достовірними порівняно з даними групи контрольної патології (КП), при рівні значущості $p \leq 0,05$.

До 14-ї доби, а більш виражено — на 21-шу добу, спостерігалося формування регенераторного епітеліального валу по краях зони ураження, що зумовлено проліферативною активністю клітин базального шару епідермісу. Також були зафіксовані морфологічні ознаки утворення демаркаційної межі між некротизованими та життєздатними тканинами [13, 14, 16].

Відмічаються такі ускладнення регенерації, як нерівномірне утворення грануляційної тканини з осередками запалення.

Процеси регенерації проявлялися підвищенням чисельності епітеліальних клітин, збільшенням товщини епідермального шару в зоні межі ураження, а також формуванням тонкого шару клітин, що мігрували під зону термічного пошкодження, де епідерміс був зруйнований. Водночас у жодному з проаналізованих випадків не спостерігалося повного закриття поверхні опікової рани [16].

У дермі прикордонної області фіксувалося зростання щільності новоутворених мікросудин, що свідчить про активацію ангіогенезу, а також посилення клітинної інфільтрації, яка охоплювала всі ділянки шкірних тканин. Між волокнами колагену реєструвалися нормальні фібробласти, що свідчить про залучення до ремоделювання сполучної тканини [16].

Після аплікації досліджуваного гелю відзначалася виражена тенденція до зниження щільності макрофагального інфільтрату в дермі, що може розглядатися як морфологічний маркер зменшення локального запалення. У зоні, прилеглій до опікового ураження, спостерігалося помірне посилення регенераторних процесів, однак рівень реепітелізації не досягав повного закриття дефекту [16].

На 7-му та 14-ту добу експерименту реєструвалося зростання кількості мітозів у клітинах волосяних фолікулів. Активність поділу та міграції клітин із цих структур розцінюється як характерна ознака репаративної відповіді тканин у гострій фазі термічного ураження, а також як одне з потенційних джерел епідермального відновлення [16, 96].

Крім того, виявлено ознаки активного ангіогенезу, зокрема — поява окремих неоваскулярних структур, що свідчить про залучення механізмів мікросудинної перебудови у зону регенерації. Таке протікання репаративного процесу забезпечує більш раннє і рівномірне виникнення і дозрівання молодої сполучної тканини та її подальшу епітелізацію [13, 14, 16].

Підсумовуючи, результати морфологічного аналізу підтверджують, що гель «Холідент» чинить протизапальну дію на тканини в зоні ураження, знижуючи прояви місцевої запальної реакції. Крім того, препарат демонструє позитивну динаміку впливу на репаративні процеси у шкірі у гостру фазу опікового ушкодження, що свідчить про його потенціал як засобу з регенеративною активністю.

3.4. Оцінка ефективності та безпечності стоматологічного гелю в експериментальних модельних системах in vitro

Як відомо, проведення токсикологічних досліджень сьогодні є обов`язковим та одним із надзвичайно важливих етапів біологічної оцінки токсичності потенційних лікарських засобів і виробів медичного призначення, оскільки дозволяють виявити можливий негативний вплив тестової речовини на організм ще на початкових етапах дослідження і попередити побічні ефекти.

Такі дослідження включають в себе як експерименти в системі *in vitro*, так і тестування токсичності та безпечності препарату *in vivo.* При цьому використання в доклінічних дослідженнях в якості фармакологічних моделей клітинних ліній має багато переваг: можливість контролю фізико-хімічного оточення (температура, вміст кисню та вуглекислоти, pH), біохімічних та фізіологічних умов, що, в свою чергу, сприяє повторюваності та відновлюваності результатів, економії реагентів та терміну проведення досліджень [105 - 108].

Культура клітин досить часто доповнює або навіть замінює існуючі моделі з використанням експериментальних тварин, особливо на сучасному етапі, коли набуває розвитку використання 3D культур та Organ-on-a-chip підходів [109 - 112].

Використання культури клітин часто є більш зручним і дешевим способом оцінки лікарських засобів та медичних виробів у порівнянні з традиційними експериментальними моделями з використанням тварин. При цьому культура клітин з достатньою достовірністю може репрезентувати процеси, які відбуваються у певному типі клітин організму, оскільки при проведені експерименту можна підібрати адекватну та органоспецифічну модель для вивчення препарату і провести необхідну кількість повторів для отримання статистично значущих результатів.

Саме тому, нами було обрано експериментальні моделі із використанням культури клітин для оцінки ефективності та безпечності стоматологічного гелю. Слід додати, що клітинні модельні системи дозволяють також розкрити та /або більш детально дослідити і механізми дії лікарських засобів (форм), що є надзвичайно важливим при його подальшій доклінічній та клінічній оцінці.

3.4.1. Оцінка цитотоксичної дії стоматологічного гелю та його діючих речовин на клітини епідермоїдної карциноми людини

На першому етапі було оцінено вплив тест-зразку (стоматологічного гелю) на клітини епідермоїдної карциноми ротової порожнини людини лінії КВ. При цьому було проаналізовано життєздатність за кількістю живих клітин (табл. 3.5, 3.6) та їх дихальною активністю (активністю мітохондріальних дегідрогеназ) після їх інкубації у присутності досліджуваного тест-зразку, а також його діючих речовин (настоянка «Фітодент», лідокаїну гідрохлорид та холіну саліцилат).

Таблиця 3.5

Оцінка життєздатності **фібробластів** колориметричним методом
шляхом фарбування клітин кристалічним фіолетовим

% вміст тест-агентів	Лідокаїн	Холін саліцилат	Хлоргексидин	Позитивний контроль (Фітодент + вода)	Тест-зразок	Негативний контроль (вода)
	Кількість живих клітин, % # (M±m)					
20,0	1,2±0,7**	2,7±0,7**	0,5±0,1**	52,9±2,6**	1,0±0,4**	92,0±2,0
10,0	52,1±3,6**	41,5±2,2**	0,3±0,1**	78,3±3,1**	2,8±1,9**	99,0±1,6
5,0	79,2±3,9**	54,6±1,0**	0,8±0,2**	99,9±1,3	29,9±1,7**	99,6±1,7
2,5	89,2±2,1**	65,2±1,9**	52,1±4,4**	100,8±1,2	66,6±2,2**	99,4±0,8
1,25	99,9±1,2	80,8±1,0**	81,7±2,3**	99,7±1,6	83,9±1,1**	100,2±0,3
0,6	99,8±1,0	92,1±1,3*	93,2±0,3*	100,7±2,6	89,4±0,6**	101,3±2,4
0,3	99,8±1,6	95,6±1,2*	97,01±1,9	100,7±0,7	91,7±0,7**	99,7±1,3

Примітка: *p<0,05, **p<0,01 - статистично достовірне відхилення в порівнянні з відповідним показником контрольної групи (негативний контроль - вода)

Примітка: #розрахували відносно контроля клітин (без тест-зразку, позитивного або негативного контроля) – 100%.

Таблиця 3.6

Оцінка життєздатності клітин лінії **КВ** колориметричним методом
шляхом фарбування клітин кристалічним фіолетовим
Кількість живих клітин, % # (M±m)

Концентрація препаратів, %	Лідокаїну гідрохлорид	Холіну саліцилат	Хлоргексидин	Фітодент	Тест-зразок	Негативний контроль (вода д.ін.)
20,0	1,2±0,8**	0,9±0,4**	0,8±0,1**	71,9±4,5	0,6±0,2**	83,7±3,3
10,0	39,7±1,8**	1,7±0,4**	0,9±0,2**	93,4±3,5	1,0±0,6**	94,9±2,3
5,0	67,3±2,3**	57,4±0,9**	1,3±0,4**	101,4±1,6	17,6±1,9**	100,5±1,0
2,5	100,4±1,2	80,1±5,0**	51,1±3,9**	100,7±1,3	69,8±5,4**	99,7±1,1
1,25	99,2±1,6	99,0±0,9	64,5±1,7**	101,5±1,5	83,4±1,8**	100,9±1,3
0,6	100,2±1,0	100,8±0,9	77,7±2,8**	100,3±1,3	97,4±0,5	100,6±2,0
0,3	101,3±0,4	100,5±0,5	82,3±0,3**	100,9±1,3	101,1±1,1	100,2±1,1

Примітка: *p<0,05, **p<0,01 - статистично достовірне відхилення у порівнянні з відповідним показником контрольної групи (негативний контроль - вода)

Примітка: #розрахували відносно контроля клітин (без тест-зразку, позитивного або негативного контроля) – 1

Дослідження тест-препарату проводили у порівнянні з водою для ін'єкцій (негативний контроль) та хлоргексидином (позитивний контроль) як препаратом порівняння, оскільки він широко застосовується в стоматології, належить до антисептичних та дезінфікуючих речовин, має подібні властивості та показання для застосування, зокрема (в стоматології): при стоматитах, гінгівітах, пародонтитах, альвеолітах (згідно інструкції виробника) [87].

Було досліджено широкий спектр концентрацій препаратів – від 20,0 % до 0,3 % вмісту в середовищі культивування, що дозволило проаналізувати та оцінити їх цитотоксичні концентрації та встановити IC50 (концентрація, яка викликає загибель 50% клітин).

Морфологічний аналіз клітин культури КВ показав, що досліджуваний стоматологічний гель (тест-зразок) у концентрації 5 % окрім зменшення загального числа клітин відносно контролю спричиняв збільшення числа клітин з вакуолями та морфологічними ознаками апоптичних клітин, тоді як у концентрації 2,5 % морфологія клітин суттєво не відрізнялась від контрольної популяції (рис. 3.6, 3.7). Поряд з цим, число вакуолізованих клітин з ознаками апоптичних змін після дії 5 % хлоргексидину було значно більшим (у порівнянні із тест-зразком): клітини набували округлої форми із зменшенням адгезії до субстрату, з великою кількістю вакуолей, із зміненим ядерно-цитоплазматичним співвідношенням, розташуванням ядра та порушенням цілісності мембран, що свідчить про значний токсичний вплив препарату.

Високі концентрації холіну саліцилату (10 %), що є складовою тест-зразку, також спричиняли значну цитотоксичну дію, що проявлялося наступними морфологічними змінами: порушення цілісності мембран, збільшення числа вакуолей в клітині та нечіткі межі клітинної мембрани і цитоплазми загалом. Клітини після експозиції з холіну саліцилатом, крім суттєвого зменшення загального числа відносно контролю, набували округлої

форми із зменшенням адгезії до субстрату та ознаками апоптичних та, в деяких випадках, некротичних клітин.

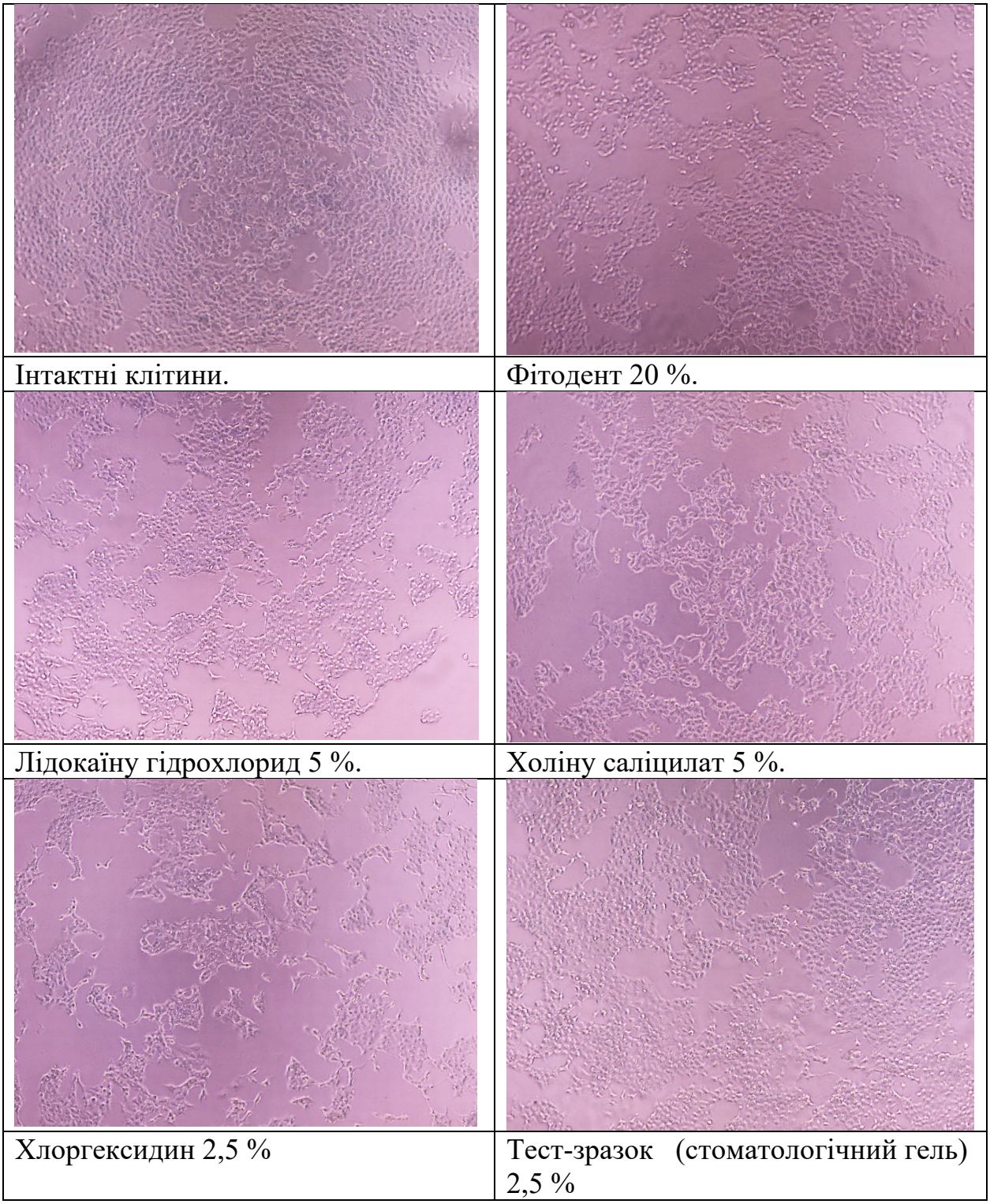


Рис. 3.6. Мікрофотографії живих клітин лінії КВ після 24-годинної експозиції з досліджуваними препаратами (об. х20)

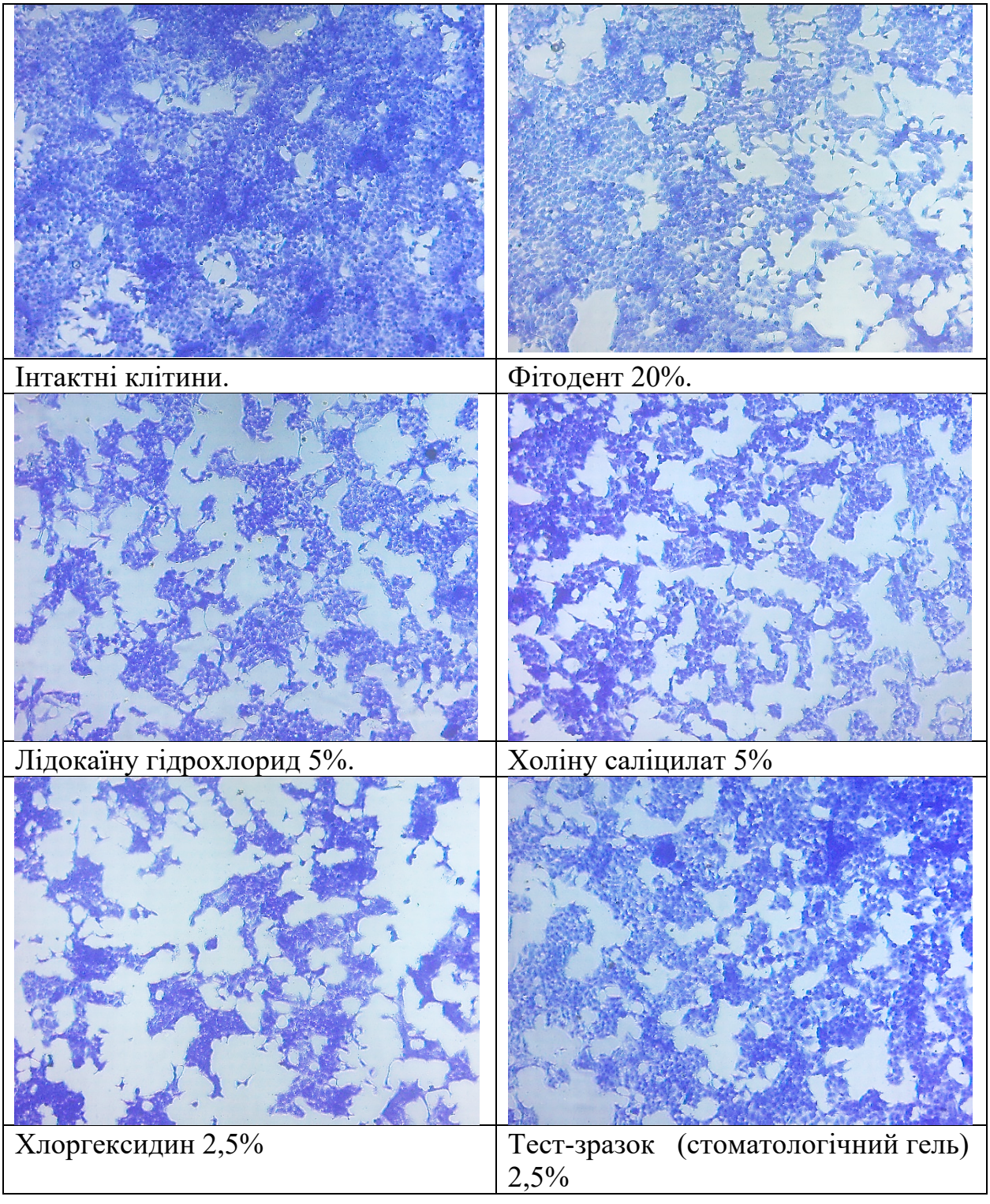


Рис. 3.7. Мікрофотографія клітин лінії КВ після 24-годинної експозиції їх з досліджуваними препаратами. Клітини зафіксовані і забарвлені кристалічним фіолетовим (об. х20)

Лідокаїн у концентрації 10 % спричиняв зменшення загального числа клітин та збільшення відносного (в порівнянні з контролем) числа вакуолізованих клітин та клітин дещо видовженої форми, що може свідчити про незначні зміни адгезії зазначених клітин. Разом з тим Фітодент у досліджених концентраціях практично не впливав на морфологію клітин лінії КВ.

Дослідження впливу 24-годинної експозиції діючих речовин стоматологічного гелю на життєздатність клітин культури КВ показало, що препарат фітодент чинив найменшу, а холіну саліцилат – найбільшу цитотоксичну дію (рис. 3.8).

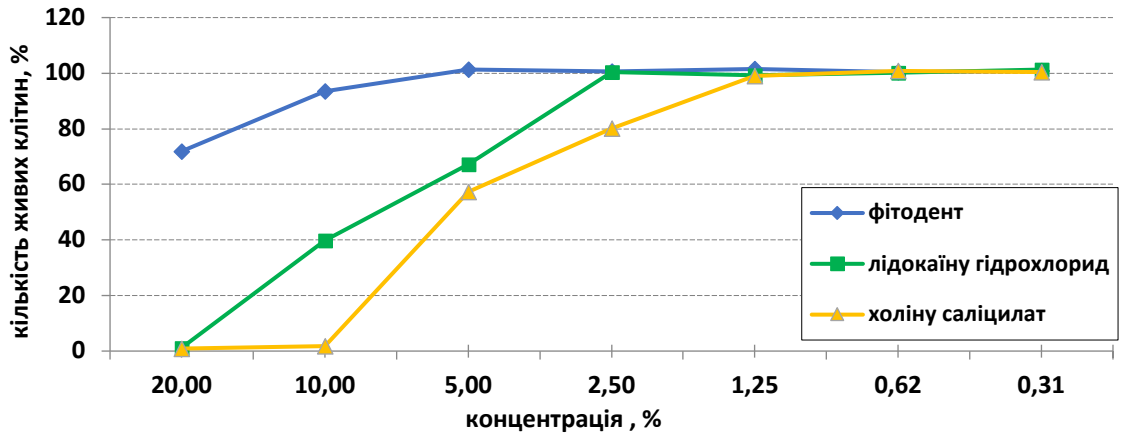


Рис. 3.8. Вплив діючих речовин стоматологічного гелю на життєздатність клітин культури КВ (колориметричний тест з кристалічним фіолетовим)

Концентрації IC50, які викликала загибель 50% клітин становили 20,58 [14,70; 27,39], 9,13 [5,48; 14,18] та 6,65 [3,46; 10,98] % відповідно для фітоденту, лідокаїну гідрохлориду та холіну саліцилату (табл. 3.7).

Стоматологічний гель у концентраціях 0,31 – 5 % проявляв меншу цитотоксичну дію на культуру клітин КВ, порівняно із препаратом порівняння – хлоргексидином (рис. 3.9).

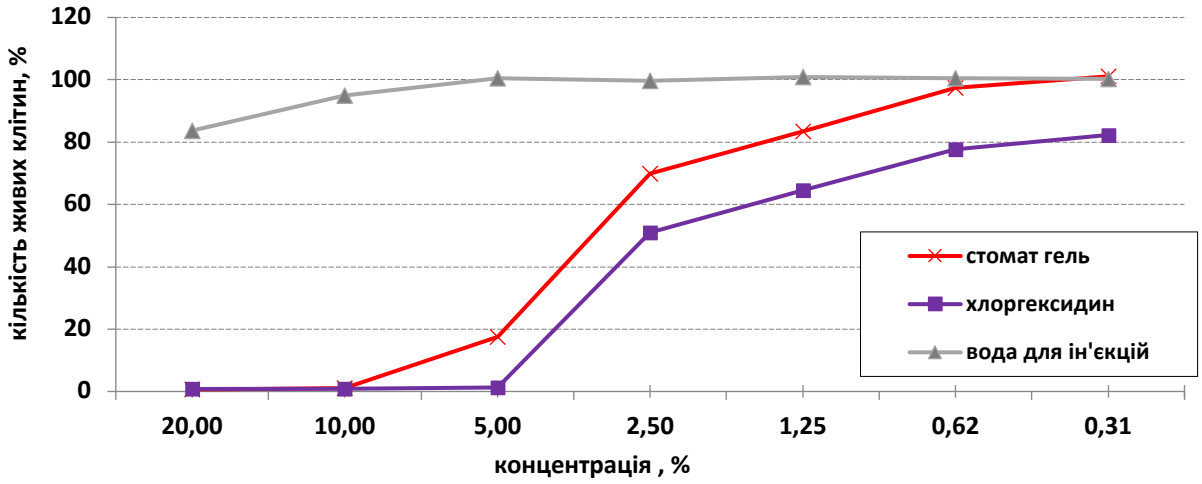


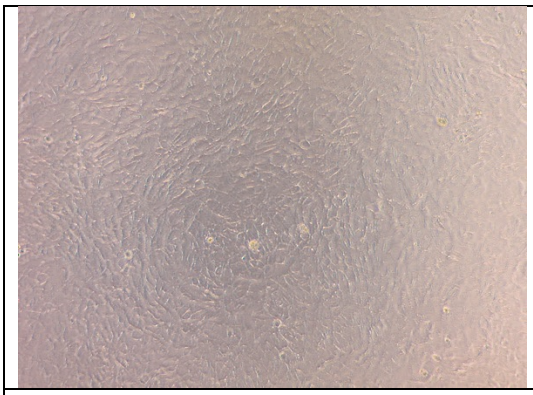
Рис. 3.9. Вплив стоматологічного гелю та препарату порівняння (хлоргексидину) на життєздатніть клітин культури лінії КВ людини (колориметричний тест з кристалічним фіолетовим)

IC50 для стоматологічного гелю після 24-годинної інкубації становить 4,69 [1,73; 8,36] %, тоді як IC50 для хлоргексидину у 1,9 рази нижче – 2,51 [0,52; 5,60] % (табл. 3.7).

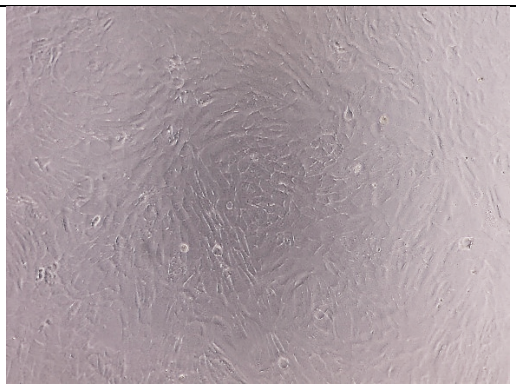
3.4.2. Дослідження цитотоксичної дії стоматологічного гелю на культурі клітин фібробластів людини

На наступному етапі було оцінено вплив тест-зразку (стоматологічного гелю) на клітини нормальних фібробластів людини. При цьому було проаналізовано життєздатність за кількістю живих клітин (табл. 3.5) та їх дихальною активністю (активністю мітохондріальних дегідрогеназ) після їх інкубації у присутності досліджуваного тест-зразку, а також його діючих речовин (настоянка «Фітодент», лідокаїну гідрохлорид та холіну саліцилат). Дослідження тест-препарату проводили у порівнянні з водою для ін’єкцій (негативний контроль) та хлоргексидином (позитивний контроль) як препаратом порівняння

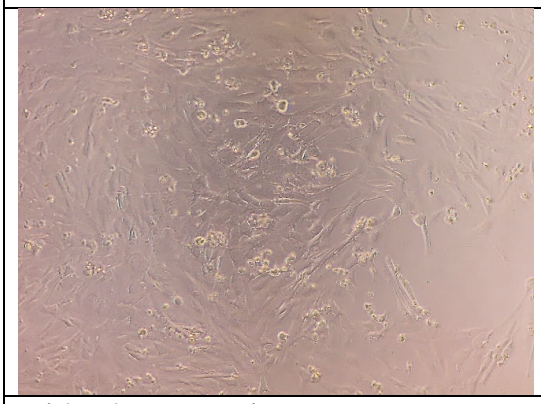
Відмічено, що після дії тест-зразку на нормальні фібробласти у концентраціях 5 % та 2,5 % (рис. 3.10) спостерігалось не тільки зменшення загального числа, але і певна зміна форми клітин із зменшенням адгезії до субстрату та збільшення кількості клітин з вакуолями і ознаками апоптичних змін (у концентрації 5 %).



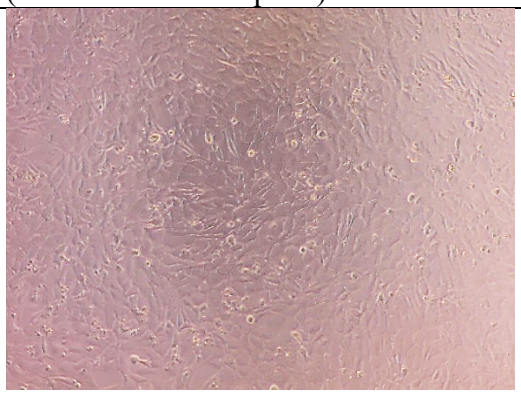
Інтактні клітини.



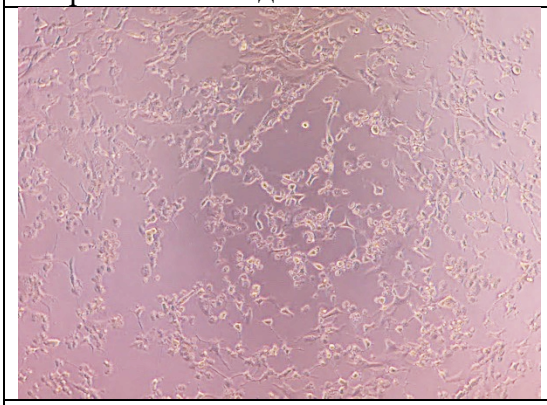
Фібробласти + Фітодент 10 % (Позитивний контроль)



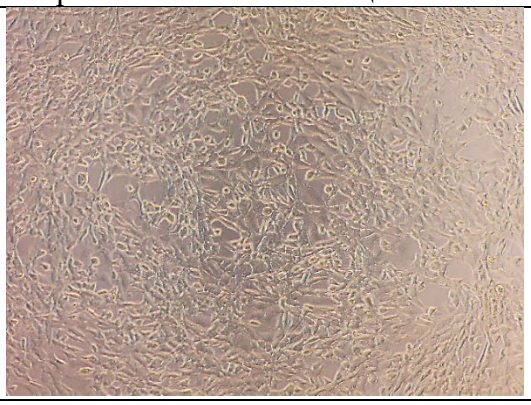
Фібробласти + Лідокаїн 10 %.



Фібробласти + Холін саліцилат 5 %



Хлоргексидин 2,5 %



Тест-зразок (стоматологічний гель) 2,5 %

Рис. 3.10. Мікрофотографії живих нормальних клітин (фібробласти) після 24-годинної експозиції досліджуваними препаратами (об. х20)

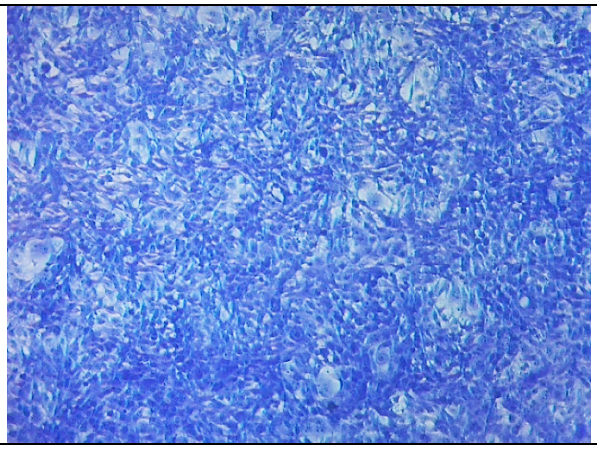
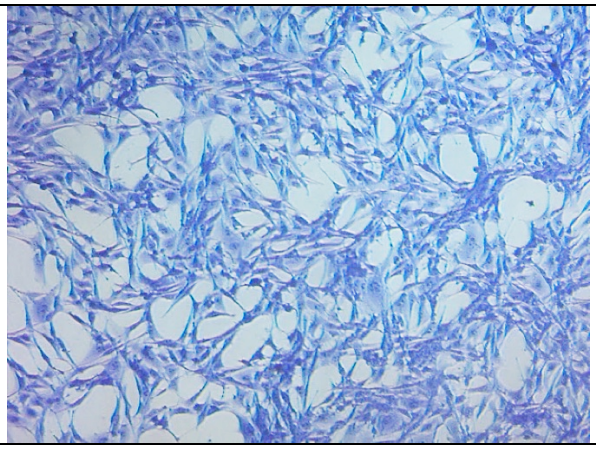
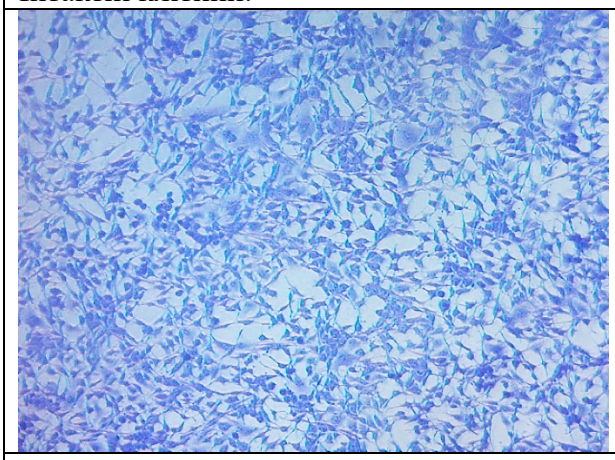
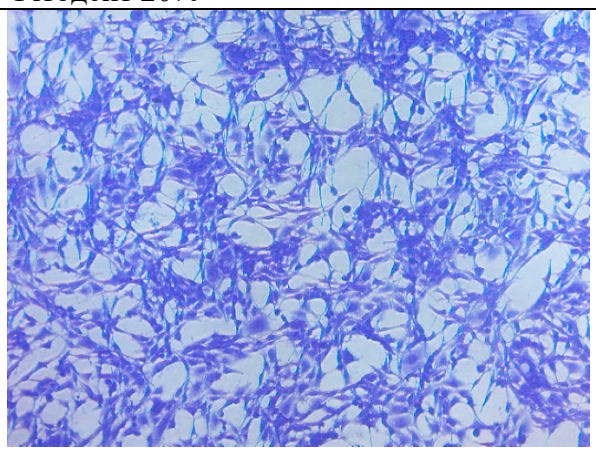
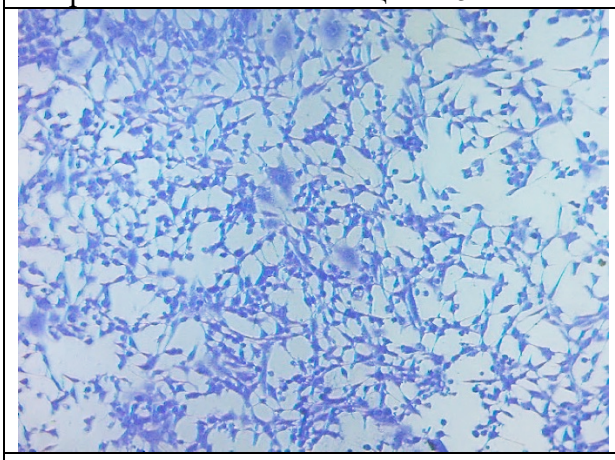
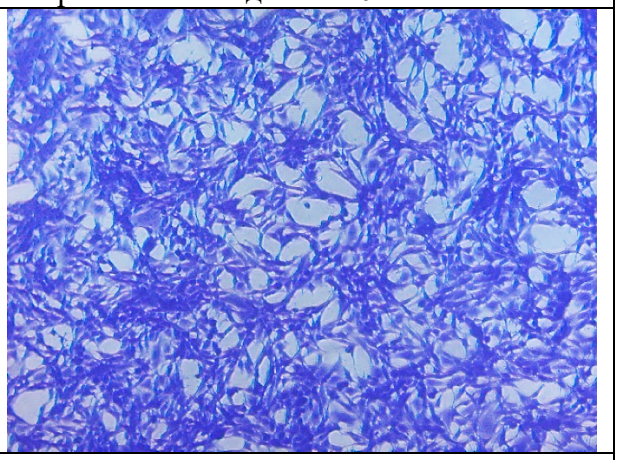
	
Інтактні клітини.	Фітодент 20%
	
Фібробласти + Холін саліцилат 5%	Фібробласти + Лідокаїн 10%.
	
Хлоргексидин 2,5%	Тест-зразок (стоматологічний гель) 2,5%

Рис. 3.11. Мікрофотографії нормальних клітин (фібробласти) після 24-годинної експозиції їх досліджуваними препаратами. Клітини зафіксовані і забарвлені кристалічним фіолетовим (об. х20)

Такі результати можуть свідчити про помірну дозозалежну цитотоксичність тест-зразка при перевищенні оптимальної концентрації, що характерно для більшості комбінованих препаратів із високим вмістом біологічно активних речовин. Водночас у нижчих концентраціях подібних негативних змін виявлено не було, що свідчить про безпечність гелю при терапевтичному використанні. Порівняно з хлоргексидином, тест-зразок виявив менш виражену цитотоксичність, що також підтверджує доцільність подальших досліджень його біосумісності. Отримані дані підкреслюють важливість вибору оптимальної концентрації гелю для клінічного застосування з метою збереження життєздатності клітин слизової оболонки ротової порожнини при тривалому використанні.

При цьому хлоргексидин у концентраціях 5 % та 2,5 % спричиняв більш суттєві зміни в кількості клітин та їх морфології відносно тест-зразку.

Відзначалась значно менша кількість живих клітин та більше число клітин з ознаками апоптичної та некротичної загибелі, із порушеною цілісністю мембран та великою кількістю вакуолей, що свідчить про значний цитотоксичний вплив препарату в досліджених дозах на культуру клітин фібробластів. Фітодент у концентраціях до 10 % практично не впливав як на число клітин, так і на їх морфологію.

Оцінка життєздатність клітин культури ФБ після 24-годинної експозиції діючих речовин стоматологічного гелю на показало, що фітодент чинив найменшу, а холіну саліцилат – найбільшу цитотоксичну дію (рис. 3.12). Концентрації IC50, які викликала загибель 50% клітин становили 19,47 [15,86; 26,69], 9,74 [8,10; 12,23] та 7,40 [5,22; 11,01] % відповідно для фітоденту, лідокаїну гідрохлориду та холіну саліцилату (табл. 3.7).

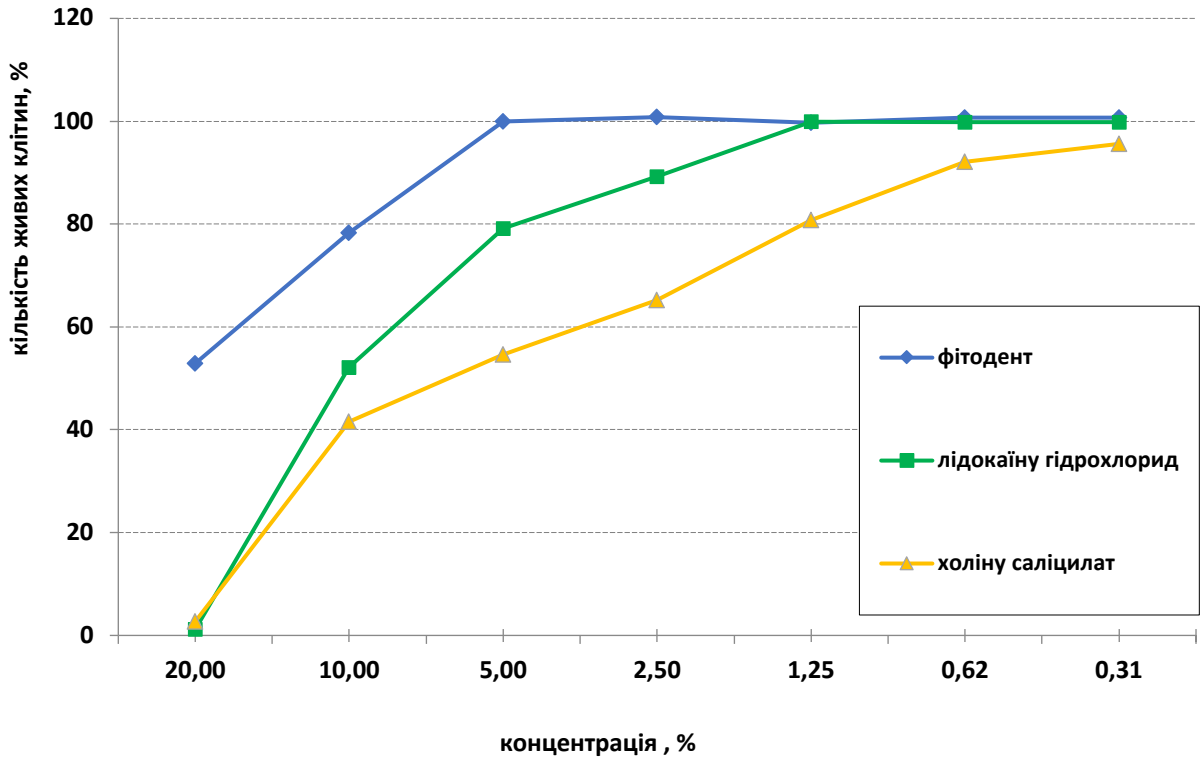


Рис. 3.12. Вплив діючих речовин стоматологічного гелю на життєздатність клітин культури фібробластів людини (колориметричний тест з кристалічним фіолетовим)

Стоматологічний гель на культуру клітин ФБ після 24-годинної інкубації проявляв меншу цитотоксичну дію порівняно із хлоргексидином лише у концентраціях 5% та 2,5 %, за дії решти концентрацій статистично значимих відмінностей у кількості живих клітин між цими препаратами не реєструвалося (рис. 3.13).

IC50 для стоматологічного гелю після 24-годинної інкубації становить 4,16 [2,38; 6,38] %, тоді як IC50 для хлоргексидину у 1,3 рази нижче – 3,20 [1,24; 5,42] % (табл. 3.5).

Таблиця 3.7

IC50 досліджуваних препаратів, концентрація, % [довірчий інтервал]

Досліджувані препарати	Культура клітин	
	КВ	ФБ
Фітодент	32,67 [20,02; 53,34]	19,47 [15,86; 26,69]
Лідокаїну гідрохлорид	7,49 [5,53; 10,22]	9,74 [8,10; 12,23]
Холіну саліцилат	4,59 [3,40; 6,22]	7,40 [5,22; 11,01]
Тест-зразок (стомат. гель)	2,80 [2,08; 3,77]	4,16 [2,38; 6,38]
Хлоргексидин	1,45 [1,10; 1,92]	3,20 [1,24; 5,42]
Негативний контроль (вода д.ін.)	41,00 [24,79; 72,05]	37,68 [32,01; 47,83]

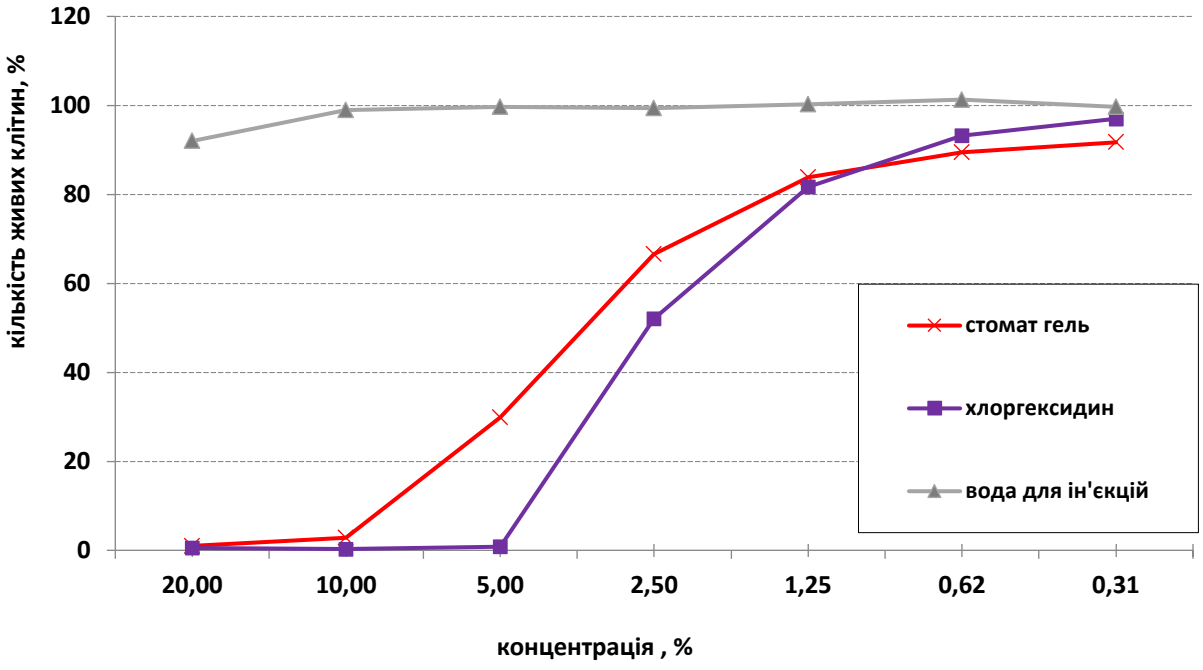


Рис. 3.13. Вплив стоматологічного гелю та препарату порівняння (хлоргексидину) на життєздатніть клітин культури фібробластів людини (колориметричний тест з кристалічним фіолетовим)

У результаті оцінки дії тест-зразку та його діючих речовин на нормальні (фібробласти людини) та злоякісно трансформовані клітини (лінія КВ), а також препарату порівняння (хлоргексидину) було виявлено їх однонаправлену дію. Показано, що у найбільшій протестованій концентрації (20 %) усі досліджувані препарати чинили значну (статистично значуща різниця, $p < 0,01$) цитотоксичну дію (до 1-3 % живих клітин спостерігалось після експозиції клітин з препаратами), крім фітоденту: в останньому фіксувалось від 52,9 до 83,2 % живих клітин в данній концентрації в залежності від лінії клітин та способу їх фарбування. При цьому вже за дії концентрації 5 % фітоденту не спостерігалось статистично значущої різниці в числі живих клітин відносно негативного контролю.

Враховуючи, що після експозиції лідокаїну гідрохлоридом та холіну саліцилатом з клітинами культур клітин КВ та фібробластів людини спостерігається цитотоксична дія, то можна припустити, що цитотоксична дія стоматологічного гелю обумовлена саме дією цих двох препаратів.

Надзвичайно цікавим виявилося порівняння дії тест-зразку з хоргексидином (ХГ): обидва препарати характеризувались високою цитотоксичною дією відносно досліджених нормальних та злоякісно трансформованих клітин у концентраціях 5 – 20 %. При цьому ХГ спричиняв навіть більш значні цитотоксичні / цитостатичні ефекти відносно злоякісно трансформованих клітин лінії КВ. Така подібність дії тест-зразку з ХГ є перспективним щодо подальших доклінічних та клінічних досліджень даного стоматологічного гелю, оскільки не дивлячись на токсичні властивості препарату порівняння у високих концентраціях в дослідженнях *in vitro* він широко застосовується в клінічній практиці при різних патологічних процесах. Крім того, в літературі існують дані щодо протипухлинної дії ХГ в модельних системах [113, 114], що може свідчити про потенційну можливість застосування і нового стоматологічного гелю (тест-зразку) в якості протипухлинного агенту.

Для деталізації механізму дії тест-зразку (стоматологічного гелю) було проведено порівняльне дослідження впливу препаратів на мітохондріальну активність, рівень продукції АФК, а також на клітинні процеси, що характеризують шляхи загибелі клітин.

3.4.3. Дослідження впливу препаратів на мітохондріальну активність клітин культури КВ

Дослідження мітохондріальної активності клітин лінії КВ проводили в МТТ-тесті за активністю мітоходріальних дегідрогеназ після їх інкубації у присутності різних концентрацій досліджуваних препаратів протягом 24 годин.

Результати експерименту показали, що серед діючих речовин стоматологічного гелю препарат фітодент чинив найменшу інгібуючу дію на активність мітохондрій, холіну саліцилат – найбільшу інгібуючу активність. Концентрації, які викликала пригнічення мітохондріальних дегідрогеназ на 50 % становили 20,71 [15,82; 26,33], 13,69 [9,29; 18,73], 9,02 [5,81; 13,08] відповідно для фітоденту, лідокаїну гідрохлориду та холіну саліцилату (рис. 3.14).

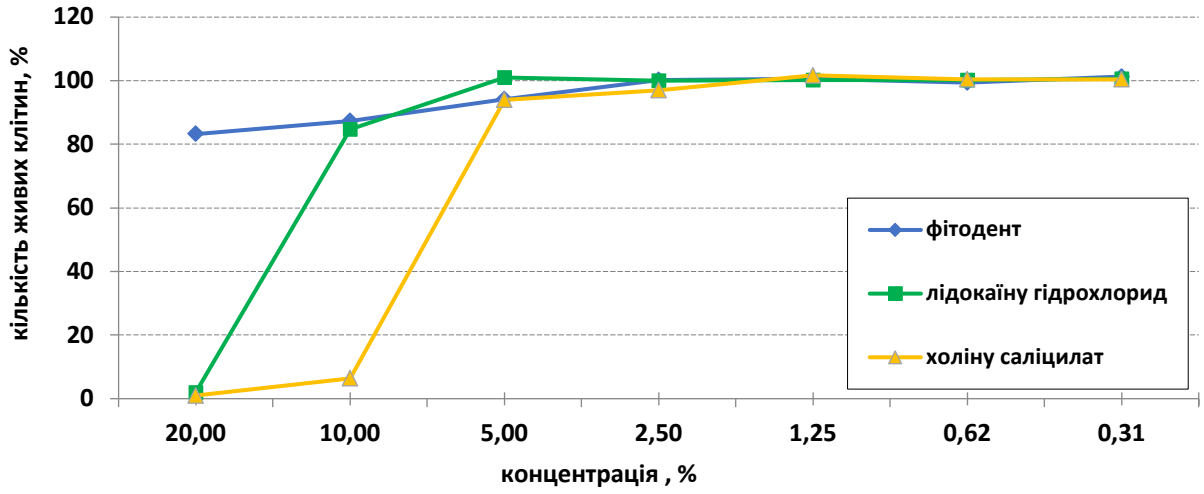


Рис. 3.14. Вплив досліджуваних препаратів
на мітохондріальну активність клітин культури КВ

Стоматологічний гель інгібував мітохондріальну активність на 50% у концентрації 5,91 [3,23; 9,12] %, що статистично значимо не відрізнялося від ефекту препарату порівняння – хлоргексидину, 50 % інгібуючою концентрацією останнього відповідно було 4,87 [2,27; 7,87] % (рис. 3.15).

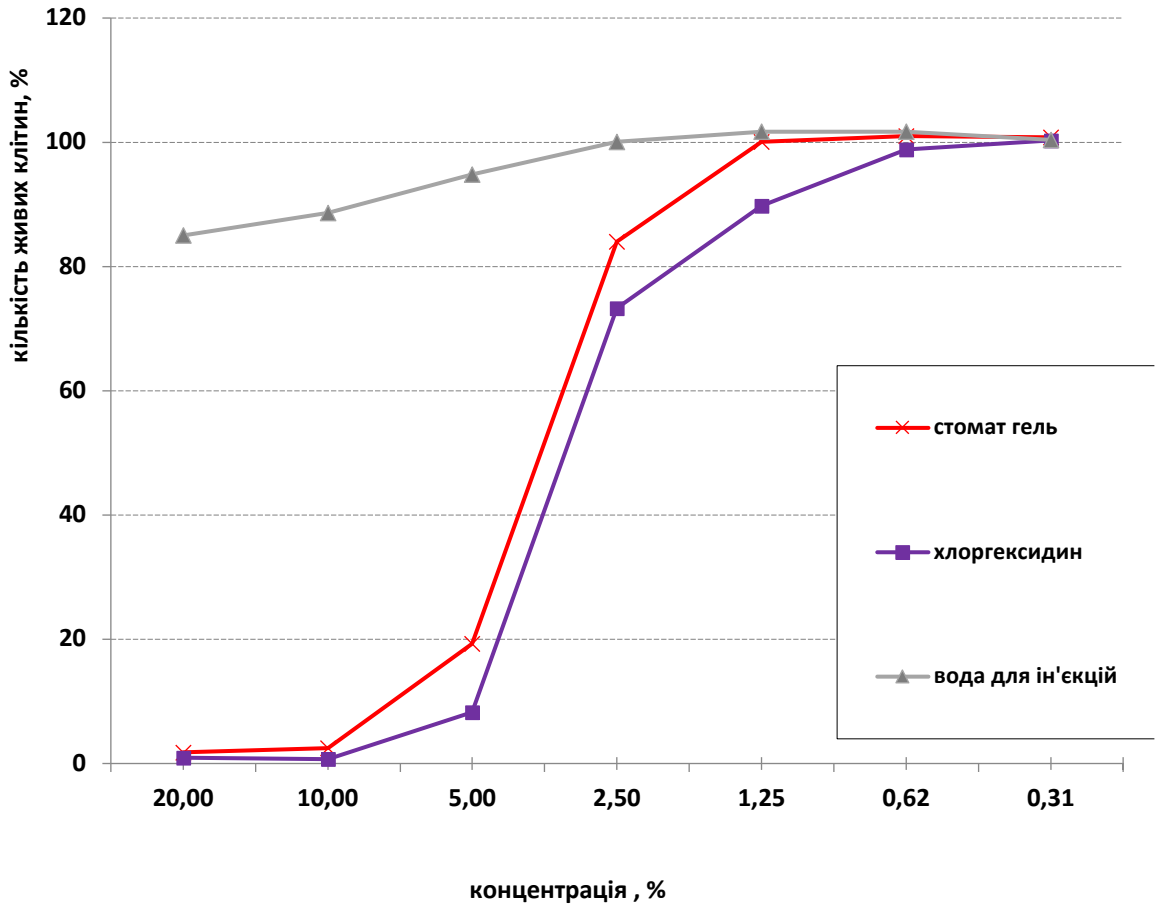


Рис. 3.15. Вплив стоматологічного гелю та препарату порівняння (хлоргексидину) на мітохондріальну активність клітин культури КВ

Це свідчить про їх однонаправлений механізм дії на функціональну активність мітохондрій.

3.4.4. Оцінка впливу досліджуваного стоматологічного гелю на рівень продукції активних форм кисню клітинами лінії КВ

У всіх організмах, що використовують кисень у процесах життєдіяльності, активні форми кисню (АФК) утворюються як результат нормального клітинного метаболізму або під впливом різноманітних зовнішніх і внутрішніх стимулів. У контрольованих (фізіологічних) концентраціях ці молекули виконують регуляторні функції — зокрема беруть участь у передачі внутрішньоклітинних сигналів та у захисних реакціях проти мікробних агентів.

Однак при надмірному накопиченні АФК або недостатній ефективності антиоксидантної системи виникає загроза структурного ушкодження клітинних компонентів та порушення обмінних процесів.

Надмірна активація процесів перекисного окиснення відображає дисфункцію захисних клітинних систем і свідчить про розвиток системного порушення гомеостазу. У таких умовах, що характеризуються окиснювальним стресом, під дією АФК зазнають ушкоджень як ліпіди клітинних мембран, так і білкові структури, зокрема плазматичні мембранні білки, які є одними з найуразливіших мішеней [115].

Для більш детального аналізу потенційного механізму дії тест-зразку в порівнянні з ХГ було проведено дослідження рівня продукції активних форм кисню клітинами лінії КВ. За результатами оцінки рівня продукції АФК в клітинах лінії КВ було показано подібність дії тест-зразку із препаратом порівняння (хлоргексидин) у більшій концентрації – 3%: рівень продукції АФК був оцінений в 100 балів після дії ХГ та 90-95 після дії тест-зразку (стоматологічного гелю). При цьому в меншій концентрації (0,5%) експозиція клітин лінії КВ з тест-зразком призводила до незначного підвищення рівня продукції активних форм кисню (30,0 балів), на відміну від ХГ, де рівень продукції АФК залишався високим (85,0 балів) (табл. 3.8, рис. 3.16).

Таблиця 3.8

Рівень продукції активних форм кисню в клітинах КВ
після їх обробки препаратами

Група	Рівень продукції АФК, бали
негативний контроль, нефарбовані клітини	0,0
контроль, фарбовані клітини	30,0
хлоргексидин 3%	100,0
хлоргексидин 0,5%	85,0
тест-препарат 3%	90,0 – 95,0
тест-препарат 0,5%	30,0

3.4.5. Визначення показників загибелі клітин лінії КВ після дії тест-агенту (стоматологічний гель)

Загибель клітини може реалізовуватись через декілька механізмів — апоптоз або некроз, кожен із яких характеризується специфічними морфологічними та біохімічними змінами. Апоптоз є контрольованим типом клітинної смерті, що не супроводжується руйнуванням клітини внаслідок лізису, а проявляється її послідовною дезінтеграцією. Цей процес включає конденсацію хроматину, розпад ядра, сегментацію ДНК, зміну форми клітини та її розщеплення на окремі мембранні фрагменти — апоптичні тільця.

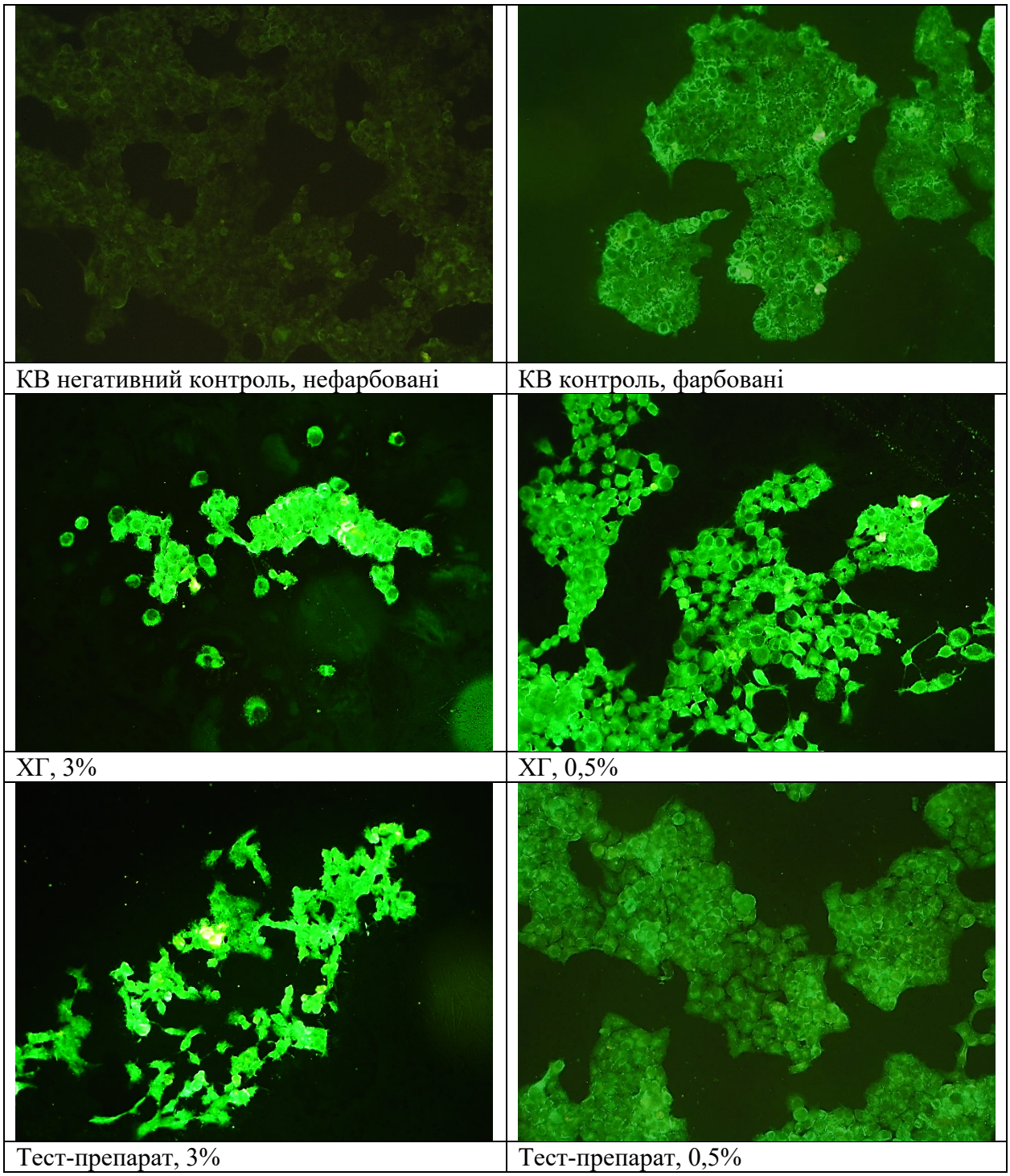


Рис. 3.16. Клітини лінії КВ після експозиції їх з тест-зразком (стоматологічним гелем) та хлоргексидином.
Фарбування флуоресцентним зондом 2',7'-DCFH (об’єктив, 20)

Відомо, що існує кілька внутрішньоклітинних сигналів, які можуть ініціювати апоптотичний каскад, і в людських клітинах переважно цей процес опосередкований активацією ферментів каспаз. Запуск цього каскаду можливий різними шляхами: через вивільнення сигнальних білків мітохондрій у разі порушення цілісності їх мембран, за участі специфічних рецепторів на поверхні клітини, через поєднання внутрішніх і зовнішніх механізмів, а також за залученням сигнальної функції ендоплазматичного ретикулуму.

На відміну від апоптозу, некроз є неконтрольованою та патологічною формою клітинної загибелі, що супроводжується передчасним руйнуванням клітинної структури. У процесі некрозу відбувається денатурація білків цитоплазми та активація внутрішньоклітинних ферментів, які спричиняють автоліз ушкоджених клітин. Порушення бар'єрної функції плазматичної мембрани призводить до виходу клітинного вмісту в міжтканинний простір, що, у свою чергу, стимулює розвиток запальної реакції в навколишніх, ще життєздатних, тканинах.

Необоротні дистрофічні зміни, що передують некрозу, називають некробіозом, а некробіоз, який перебігає протягом тривалого періоду, — патобіозом. Комплекс змін ядра і цитоплазми клітини, що характеризує стан парабіозу, називають паранекрозом.

Розуміння механізмів клітинної загибелі є надзвичайно важливим фактом на доклінічному етапі розробки нових лікарських засобів та виробів медичного призначення.

Оцінка показників загибелі пухлинних клітин лінії КВ після дії тест-агенту (стоматологічний гель) та препарату порівняння ХГ проводилась з використанням одночасного забарвлення клітин кон'югатом аннексину V з FITC та пропідіум йодидом. Як зазначалося раніше у розділі 2, при аналізі даних проточної цитометрії використовують гейт типу чотирьох квадрантів, який дозволяє підрахувати:

1) клітини, які не демонструють забарвлення аннексином та пропідіум йодидом – живі клітини;

2) клітини, які демонструють забарвлення тільки аннексином – так званий ранній апоптоз;

3) клітини, які одночасно забарвлені і аннексином і пропідіум йодидом – так званий пізній апоптоз;

4) клітини, які забарвлені тільки пропідіум йодидом – так звані некротичні клітини.

На рис. 3.17 представлено репрезентативні псевдокольорові плоти контрольних клітин та клітин після впливу тест-агенту та препарату порівняння ХГ в двох концентраціях.

В табл. 3.9 наведено результати статистичного аналізу відсотка живих клітин та клітин на стадії раннього апоптозу та результати статистичного аналізу відсотка клітин на стадії пізнього апоптозу та некрозу.

Таблиця 3.9

Живі клітини та клітини на стадії раннього апоптозу після дії тест-агенту та препарату порівняння, %

	Живі клітини (%), M±m	Ранній апоптоз (%), M±m	Пізній апоптоз (%)	Некроз (%)
Інтактні клітини	85,02±0,41	5,33±0,17	7,88±0,25	1,75±0,08
ХГ, 0,5%	80,89±0,29**	6,77±0,11*	10,14±0,17**	2,19±0,21
ХГ, 3,0%	63,01±1,27**	20,80±1,1**	14,50±0,48**	1,67±0,25
тест-препарат, 0,5%	85,71±0,08	4,86±0,35	7,82±0,31	1,59±0,20
тест-препарат, 3,0%	73,65±0,51**	13,74±0,32**	11,28±0,60**	1,32±0,17

Примітка: *$p<0,05$, **$p<0,01$ – статистично достовірне відхилення в порівнянні з відповідним показником контрольної групи.

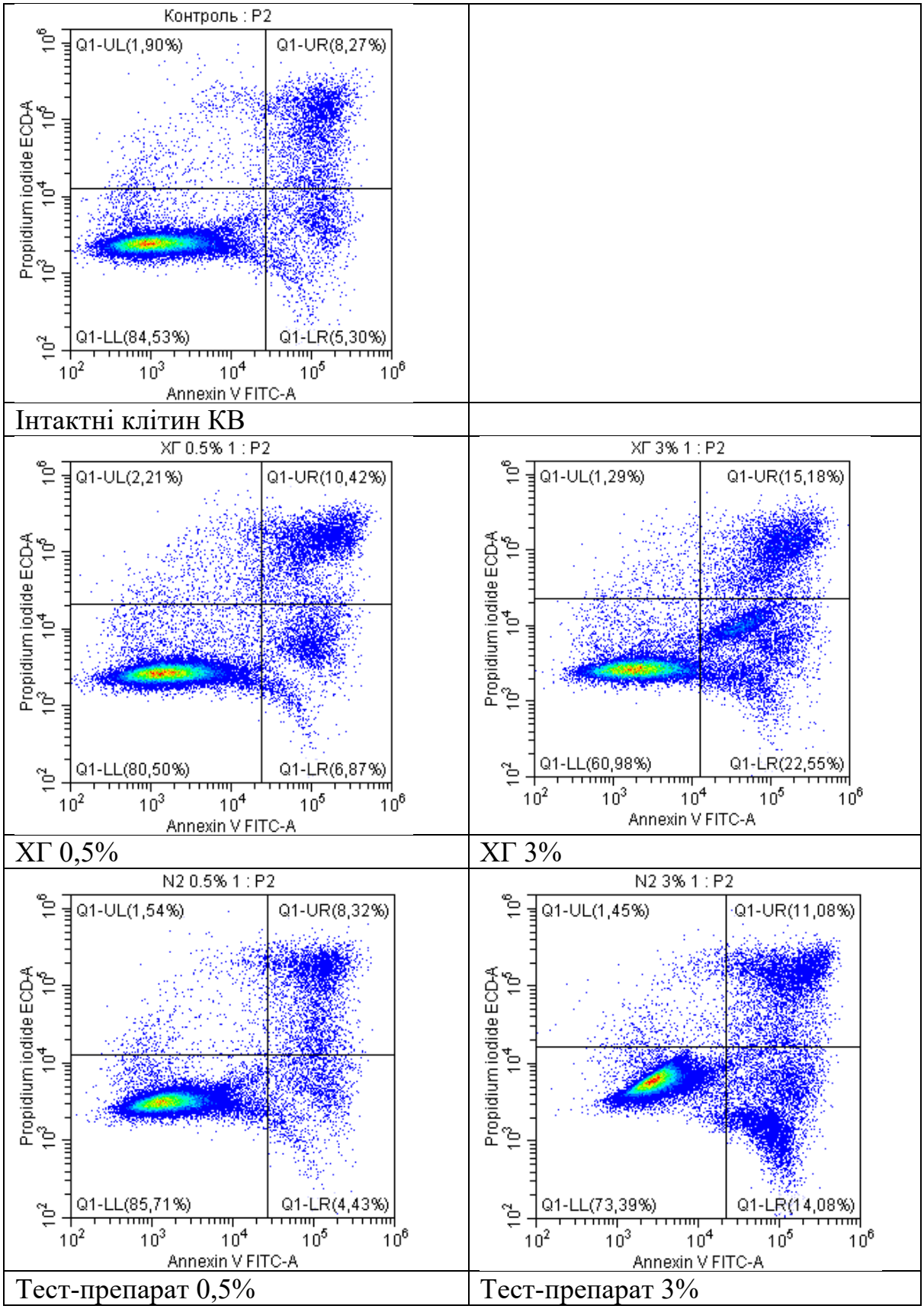


Рис. 3.17. Параметри клітинної загибелі клітин КВ після дії тест-агенту та препарату порівняння. Репрезентативні псевдокольорові плоти

В результаті проведених досліджень було показано, що тест-зразок (стоматологічний гель) спричиняє подібні до препарату порівняння (ХГ) ефекти при оцінці показників клітинної загибелі (див. табл. 3.9), але у випадку ХГ наслідки дії препарату були більш виражені.

Більша концентрація препаратів ХГ та тест-зразку (3 %) викликала збільшення % клітин в ранньому апоптозі на 15 та 8 %, відповідно (p<0,01), тоді як в концентрації 0,5 % незначне, але статистично значуще підвищення відсотку пухлинних клітин в ранньому апоптозі відносно контролю спостерігалось тільки при експозиції з ХГ (див. табл. 3.9). Така ж тенденція спостерігалась і щодо % клітин, що знаходились в пізньому апоптозі: реєструвалось незначне, але статистично значуще підвищення % клітин при дії тест-зразку на 3,4 %, а при дії ХГ – на 6,6 % відносно контролю при експозиції клітин з 3 % концентрацією препарату (див. табл.3.9). Тоді як дія препарату в концентрації 0,5 % викликало незначне (менше 3 %), але статистично значуще підвищення відсотку клітин в пізньому апоптозі тільки у випадку дії ХГ.

При оцінці відсотку клітин в некрозі не було відмічено статистично значущих відмінностей між досліджуваними групами (див. табл. 3.9).

Висновки до розділу 3

Дослідили на моделі карагенінового набряку антиноцицептивну активність тест-зразків з метою визначення оптимальної концентрації лідокаїну гідрохлориду в складі нового гелю. Отримані результати свідчать про відсутність статистично значущих відмінностей у ступені вираженості знеболювального ефекту між тест-зразками № 1 та № 2. Такий результат дає підстави для вибору 1,5 % концентрації лідокаїну гідрохлориду як раціональної для включення до складу розроблюваного стоматологічного

гелю, оскільки вона забезпечує анальгетичний ефект, співмірний із вищою концентрацією, але потенційно знижує ризик побічних реакцій.

Порівняли анальгетичну активність тест-зразка лідера з референтим препаратом. Показано, що запропонований оромукозальний гель з 1,5 % лідокаїну гідрохлориду за виразністю антиноцицептивного ефекту перевершує референтний препарат «Камістад®» (через 15 хв. на 3 % та через 30 хв після нанесення на 16 % відповідно), але за тривалістю анальгетичної дещо йому поступався.

Дослідили антиексудативну активність на моделі каолінового набряку. Результати дослідження показали, що гель «Холідент» чинить виражений протизапальний ефект, достовірно знижуючи інтенсивність локальної запальної відповіді. Антиексудативна активність препарату проявлялася вже через 30 хвилин після аплікації, що свідчить про швидкий початок дії. Для порівняння, референтний засіб продемонстрував аналогічний ефект лише після однієї години, що підкреслює перевагу «Холіденту» за швидкістю реалізації фармакологічної дії.

Дослідили репаративну активність нового гелю на моделі термічного опіку шкіри спинки щурів. Підтверджено здатність гелю “Холідент” стимулювати репаративні процеси та зменшувати місцеву запальну реакцію, що проявлялися зменшенням інфільтрації макрофагів, збільшенням мітозів та посиленням ангіогенезу у зоні ураження, у порівнянні з групою контрольної патології.

Показники безпеки нового гелю дослідили в експерментальних моделях in vitro. Дослідження впливу 24-годинної експозиції діючих речовин, що входять до складу оромукозального гелю на життєздатність клітин культури фібробластів та пухлинних клітин лінії КВ показало, що новий гель «Холідент» не погіршував стан клітин і не викликав загибелі фібробластів, фітодент і лідокаїну гідрохлорид чинили незначну цитотоксичну дію, а холіну саліцилат – найбільшу цитотоксичну дію.

Показано, що стоматологічний гель «Холідент» проявляв меншу цитотоксичну дію, ніж препарат порівняння – хлоргексидин.

За результатами оцінки показників загибелі клітин під впливом гелю «Холідент» було показано, що в малій концентрації рівень живих клітин статистично значуще не відрізнявся від ІК, найменша кількість живих клітин і найбільший відсоток клітин на стадіях раннього та пізнього апоптозу виявляли під дією високої концентрації хлоргексидину (3 %). Обидва препарати не посилювати некроз клітин.

Оромукозальний гель «Холідент», що містить фітоекстракти, в концентрації 0,5 % викликав в 2,8 раза менше підвищення рівня продукції АФК клітинами, ніж синтетичний препарат хлоргексидин в тій самій концентрації.

Усе вищезазначене дає змогу сформулювати можливий механізм дії нового гелю та перспективи його застосування в стоматологічній практиці.

РОЗДІЛ 4
ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ТА ВИСНОВКИ

В останні десятиліття у світі спостерігається стійка тенденція до зростання поширеності стоматологічних захворювань, серед яких провідне місце займають патології пародонта, запальні ураження слизової оболонки порожнини рота, постекстракційні ускладнення, а також запалення, що виникають при користуванні знімними або незнімними ортопедичними конструкціями. Ці стани суттєво знижують якість життя пацієнтів, порушують естетику, жувальну функцію та провокують розвиток системних ускладнень. Особливої уваги потребує те, що такі ураження часто мають рецидивуючий або хронічний характер, потребуючи тривалого і комплексного лікування.

Згідно з інформацією, оприлюдненою Всесвітньою організацією охорони здоров'я (ВООЗ), до 95 % дорослих та приблизно 80 % дітей у світі мають різного ступеня вираженості ознаки стоматологічних захворювань. Така висока поширеність зумовлена комплексною дією як ендогенних, так і екзогенних чинників, що впливають на стан порожнини рота.

До них належать несприятливі кліматичні умови, особливості харчування, недостатній рівень гігієни, вплив шкідливих звичок, професійні ризики, соціальні чинники та генетична схильність. Така епідеміологічна ситуація зумовлює потребу в удосконаленні підходів до лікування запальних захворювань порожнини рота, зокрема шляхом створення ефективних лікарських засобів місцевої дії з комплексним механізмом дії.

Не дивлячись на вдосконалення консервативних методів лікування та профілактики карієсу, серед операцій у щелепно-лицевій ділянці провідне місце посідає операція видалення зубу. Разом зі збільшенням кількості проведених операцій амбулаторного видалення зубів, зберігається тенденція до збільшення запальних ускладнень після екстракції зубів, зокрема, альвеоліту. Водночас, залишається актуальною проблема лікування таких

уражень слизової оболонки порожнини рота, як локальні гінгівіти, локальні стоматити в ділянці оро-антрального сполучення, післяопераційні ускладнення лоскутних операцій при пародонтиті та інші.

Неефективне лікування запальних захворювань призводить до розповсюдження запалення, а разом з тим і збільшується тяжкість патології – розвиваються флегмони, абсцеси, остеомієліти, що тягне за собою стаціонарне лікування хворих, залучення економічних, людських ресурсів тощо. Отже, розробка нових ефективних методів та засобів для профілактики та лікування запальних патологій слизової оболонки порожнини рота залишається актуальним науковим завданням сучасної стоматології.

Для лікування запальних патологій ротової порожнини найчастіше застосовують лікарські засоби місцевої дії. Основна вимога, що висувається до стоматологічних лікарських препаратів для лікування та профілактики вищенаведених патологічних станів є мультимодальна дія – здатність впливати на мікробний, запальний, больовий компонент патології, тобто на всі ланки патогенезу запального процесу.

За даними аналізу фармацевтичного ринку останніх років та опитувань лікарів-стоматологів, відмічено високий рівень попиту у пацієнтів, щорічне збільшення продажів з аптек стоматологічних гелей, а також високий ступінь зацікавленості лікарів-стоматологів у застосуванні цих лікарських форм в щоденній практиці. На жаль, фармацевтичний ринок України налічує лише 9 стоматологічних гелей, з яких лише 4 гелі вітчизняного виробництва.

Все вищезазначене відкриває простір і необхідність для створення нових фармацевтичних композицій мультинаправленої дії для лікування запальних захворювань порожнини рота.

Останніми роками вітчизняними науковцями ведеться активний пошук і розробка нових формул стоматологічних гелей, всебічне дослідження їх властивостей та обговорюються перспективи застосування в стоматологічній практиці.

Зокрема, колективом авторів було запропоновано стоматологічний гель, що містить в якості АФІ метронідазол, гіалуронову кислоту та мірамістин [116]. Для даного засобу було досліджено антимікробну активність і описано перспективи його застосування для лікування інфекційно-запальних уражень пародонту.

З'являються дані про розробку нового гелю з вмістом холіну гідрохлориду та цеталконію хлориду, в експерименті було продемонстровано антимікробну активність даної композиції, здатність зменшувати запальний процес, зменшувати індекс кровоточивості ясен [117].

Досі актуальним є дослідження фармакологічних властивостей фітокомпозицій, зокрема, на моделі експериментального гінгівіту у щурів було доведено протизапальну та антиексудативну активність настойки Касдент [118]. Розробляється новий гель на основі прополісу, воску, кедрової олії, аргініну натрію, в експерименті було доведено, що дана композиція сприяє зменшенню маркерів запалення, підвищує регенераторну здатність слизової оболонки і запропоновано до застосування при травматичному стоматиті [120, 121].

Колективом авторів було запропоновано стоматологічний гель, що містить такі компоненти: екстракт кореня солодки, ефірні олії м'яти перцевої та шавлії [122], дана композиція володіє противірусною, антимікробною та регенеруючою здатністю.

На етапі клінічних досліджень знаходиться стоматологічний гель, що має в своєму складі фітоекстракт коренів живокосту, фітин, рутин, аскорбінову кислоту, ефірну олію м'яти перцевої, при дослідженнях у хворих з катаральними гінгівітами досліджуваний гель сприяв скороченню терміну лікування [123].

На етапі розробки вітчизняними науковцями знаходиться гель на основі триклозану та ротокану, що має антибактеріальну та протизапальну активність [124]. Водночас іншим колективом вчених розробляється фармацевтична

композиція на основі триклозану, амінокапронової кислоти та ефірної олії лаванди у вигляді гелю, що має доведену експериментально антибактеріальну, гемостатичну та протизапальну активність [125, 126].

Останніми роками з'являються повідомлення про дослідження стоматологічного гелю, що містить у своєму складі декаметоксин та лідокаїну гідрохлорид, що розробляється з метою використання для профілактики та лікування захворювань пародонтиту [119].

Розробляється гель на основі метронідазолу і німесуліду, що забезпечує протизапальну та антибактеріальну активність [127].

Перспективними є гелі з пробіотиком, що володіють протизапальною та антиоксидантною властивістю і пропонуються до застосування при генералізованому пародонтиті [128].

Отже, широка поширеність запальних захворювань слизової оболонки порожнини рота (СОПР), високий попит на ефективні засоби місцевої дії серед пацієнтів, а також прихильність лікарів до топічних лікарських форм, зокрема у вигляді гелів – створюють об'єктивну потребу у розробці нових лікарських препаратів із комплексною дією.

Незважаючи на наявність окремих стоматологічних гелів на фармацевтичному ринку України, їх асортимент залишається обмеженим, а терапевтична ефективність – недостатньою, особливо в умовах ускладненого перебігу хронічних чи рецидивуючих запальних процесів.

Аналіз наявних розробок і композицій, що перебувають на стадії доклінічних або клінічних досліджень, дозволяє зробити висновок про їхню обмеженість. У жодному з представлених зразків не досягнуто повної реалізації мультимодального підходу: препарати або впливають лише на окремі ланки патогенезу (запалення, біль, мікрофлора), або не забезпечують достатнього знеболення чи не проявляють антимікробної активності.

Враховуючи це, нами було поставлено завдання створити фармацевтичну композицію нового покоління – оромукозальний гель комбінованого складу з

мультинаправленою дією, що поєднує анальгетичну, протизапальну, репаративну та антиоксидантну активність, а також здатність до тривалої адгезії на слизовій оболонці. Такий підхід дозволяє більш комплексно впливати на всі ключові механізми розвитку та перебігу запального процесу, що в перспективі має покращити клінічні результати лікування.

Перевага нашої ЛФ полягає в забезпеченні локального терапевтичного ефекту за рахунок місцевого нанесення і утримання лікарського засобу на поверхні слизової оболонки, фіксації за рахунок покращених біоадгезивних властивостей, мінімізації вимивання слиною та більш тривалого контакту компонентів препарату з тканинами, створення відносно високої концентрації активних фармацевтичних інгредієнтів і їх швидкого проникнення крізь слизові оболонки у капіляри, що значно підвищує біодоступність діючих речовин.

До складу розробленого засобу було включено комбінацію активних фармацевтичних речовин як рослинного, так і синтетичного генезу. Зокрема, використовували настойку «Фітодент», холіну саліцилат, а також лідокаїну гідрохлорид. Дані складові забезпечують необхідну комплексну дію на уражені тканини ротової порожнини. З метою покращення біодоступності гелю, що розробляється, забезпечення йому гарних біофармацевтичних характеристик і, відповідно, пролонгованої дії була запропонована полімерна основа, сформована шляхом поєднання карбомеру Polacril 40P з гелевим компонентом OraRez® W-100L16.

В експерименті було досліджено анальгетичну (місцевоанестезуючу), протизапальну (антиексудативну), репаративну активність, а також окремі параметри безпеки та антиоксидантну властивість.

Для визначення антиексудативної активності на моделі карагенінового набряку стопи у щурів досліджуваний гель “Холідент” достовірно зменшував місцеву запальну реакцію, виявляв помірну антиексудативну дію, що

реалізувалася вже через 30 хв після нанесення, на відміну від препарату порівняння (початок дії – через 1 год).

Під час дослідження з використанням моделі каолінового набряку стопи у щурів встановлено, що тестовий зразок гелю № 3, у якому концентрація лідокаїну гідрохлориду становила 1,0 %, виявляв лише незначну анальгетичну активність. Така динаміка свідчить про зниження ефективності знеболювального ефекту при надто низькому вмісті діючої речовини, що, своєю чергою, є підставою для підвищення її концентрації до 1,5 %.

Водночас результати порівняння зразків № 1 (2,0 %) і № 2 (1,5 %) не показали достовірних статистичних відмінностей у вираженості аналгетичного ефекту, що дає змогу вважати 1,5 % концентрацію лідокаїну достатньою для досягнення терапевтичного ефекту. Такий підхід дозволяє зменшити ризик потенційних побічних ефектів при збереженні належної клінічної ефективності.

Запропонований оромукозальний гель з 1,5 % лідокаїну гідрохлориду за виразністю антиноцицептивного ефекту перевершує референтний препарат (через 15 хв на 3% та через 30 хв після нанесення на 16% відповідно), але за тривалістю анальгетичної дещо йому поступався.

На моделі опікової рани підтверджена здатність гелю “Холідент” стимулювати репаративні процеси та зменшувати місцеву запальну реакцію, що проявлялися збільшенням мітозів та посиленням ангіогенезу у зоні ураження, у порівнянні з групою контрольної патології.

Важливим аспектом проведеного дослідження стало вивчення впливу нового стоматологічного гелю на рівень продукції активних форм кисню (АФК), оскільки саме АФК відіграють ключову роль у формуванні оксидативного стресу — одного з основних патогенетичних чинників хронічного запалення слизової оболонки порожнини рота. Надмірна генерація АФК призводить до пошкодження клітинних структур, ініціації апоптозу, посилення запальної реакції та гальмування процесів репарації. Саме тому

здатність ЛЗ знижувати продукцію АФК може свідчити про його потенційний антиоксидантний ефект і доповнювати протизапальну дію.

За результатами дослідження було встановлено, що тест-зразок стоматологічного гелю у концентрації 3% за здатністю знижувати рівень продукції АФК є порівнюваним з препаратом порівняння (ХГ): рівень продукції активних форм кисню становив 90–95 балів після дії тест-зразка проти 100 балів після дії ХГ. Натомість при меншій концентрації (0,5%) гель викликав у 2,8 раза менше підвищення рівня АФК порівняно з ХГ, що свідчить про дозозалежний характер антиоксидантної активності. Отримані результати дозволяють припустити, що новий стоматологічний гель може зменшувати прояви оксидативного стресу в уражених тканинах, сприяючи не лише зниженню інтенсивності запалення, а й створюючи сприятливі умови для епітелізації та регенерації.

Наступним етапом дослідження стала оцінка цитотоксичної дії нового стоматологічного гелю шляхом аналізу кількості клітин, що переходять у стадію апоптозу або некрозу після його застосування.

Цей показник є надзвичайно важливим з точки зору безпечності препарату, оскільки надмірна індукція апоптозу може свідчити про потенційну токсичність або здатність засобу сприяти хронізації запального процесу, порушуючи баланс між ушкодженням і регенерацією тканин. З іншого боку, помірна активація апоптозу в умовах патології може мати позитивне значення, пов’язане з очищенням уражених тканин від ушкоджених клітин.

За результатами проведених досліджень встановлено, що статистично значуще підвищення частки клітин, які перебувають на стадії раннього та пізнього апоптозу, порівняно з контролем, спостерігалося лише при дії гелю у більшій концентрації – 3 %. Застосування гелю в концентрації 0,5 % не призводило до зростання рівня апоптозу порівняно з контролем, що вказує на відсутність вираженої токсичності при такому дозуванні. Це дозволяє вважати досліджуваний засіб безпечним для клітин у межах терапевтично релевантної

концентрації. Таким чином, отримані результати дають підстави зробити висновок, що новий гель є безпечним для клітин у низьких концентраціях і виявляє помірну апоптогенну активність лише при перевищенні певного дозового порогу, що має враховуватись при розробці лікарської форми та виборі оптимальної дози для клінічного застосування.

Отже, підсумовуючи результати проведеного експериментального дослідження щодо фармакологічної активності нового стоматологічного гелю, можна з упевненістю стверджувати, що розроблена фармацевтична композиція володіє вираженою мультинаправленою дією. Комплексний склад гелю забезпечує широкий спектр фармакологічних ефектів, які реалізуються за рахунок поєднання активних інгредієнтів із різними механізмами дії, зокрема:

• ***Анальгетична (місцевоанестезуюча) дія*** – спрямована на швидке усунення больового синдрому, характерного для запальних процесів у слизовій оболонці порожнини рота. Завдяки цьому зменшуються неприємні суб'єктивні відчуття, що суттєво покращує якість життя пацієнта під час лікування.

• ***Протизапальна (антиексудативна) дія*** – виявляється у зниженні набряку, гіперемії та ексудації в зоні ураження, що свідчить про позитивний вплив гелю на ключові ланки патогенезу запального процесу. Це дозволяє скоротити тривалість запального періоду та запобігти ускладненням.

• ***Репаративна дія*** – полягає у стимуляції процесів відновлення пошкоджених тканин, зокрема слизової оболонки порожнини рота, що забезпечує прискорення загоєння ерозій, виразок та інших дефектів.

• ***Антиоксидантна дія*** – сприяє зниженню оксидативного стресу, який супроводжує більшість хронічних запальних захворювань, завдяки чому досягається додатковий захисний ефект на клітинному рівні.

Завдяки такому різноспрямованому терапевтичному потенціалу, новий стоматологічний гель може бути ефективно використаний у різноманітних

напрямках сучасної стоматології. Його застосування доцільне при лікуванні таких патологічних станів, як генералізований пародонтит, інфекційно-запальні ураження СОПР, хронічний рецидивний афтозний стоматит (ХРАС), локальні гінгівіти, гострі та хронічні стоматити, протезні стоматити, а також у перед- та післяопераційному періоді при проведенні лоскутних операцій, лікуванні альвеоліту, при закритті ороантрального співустя тощо.Також можливо застосування його при запальних станах шкіри, наприклад при бешисі, адже на моделі опікової рани шкіри щурів було доведено, що досліджуваний гель зменшує місцеву запальну реакцію.

Більше того, перспективним є використання досліджуваного гелю, зокрема, при запальних ураженнях шкіри. Наприклад, на моделі термічного ураження шкіри щурів було продемонстровано, що застосування гелю призводить до зниження інтенсивності місцевої запальної реакції. Це відкриває потенціал для його використання при бешисі та інших інфекційно-запальних дерматозах.

Отримані результати доводять необхідність подальших доклінічних та клінічних досліджень нового стоматологічного гелю та впровадження його в практику лікування запальних захворювань порожнини рота. На основі проведених досліджень буде розширено асортимент топічних лікарських засобів, що застосовуються при лікуванні запальних захворювань порожнини рота, це дозволить здійснити імпортозаміщення в даній фармакологічно-терапевтичній групі ліків, підвищити ефективність лікування.

ВИСНОВКИ

Проаналізувавши фармацевтичний ринок топічних форм для застосування в стоматології і, зокрема, стоматологічних гелей, виявлено високий попит у пацієнтів і високу прихильність у лікарів-стоматологів до даної лікарської форми, водночас виявлено невелику кількість гелів вітчизняного виробництва, а також недосконаліть складу існуючих гелів, що не забезпечує мультимодальність дії в аспекті лікування запального процесу.

1. На моделі каолінового набряку стопи щурів при скринінговому дослідженні для визначення оптимальної концентрації лідокаїну гідрохлориду тест-зразок гелю № 3 виявив слабку тенденцію до прояву анальгетичної активності, що може свідчити про втрату анальгетичної активності зі зменшенням вмісту лідокаїну до 1,0 % і служити обґрунтуванням збільшення концентрації лідокаїну гідрохлориду до 1,5 %. Враховуючи той факт, що достовірних статистичних відмінностей вираженості анальгетичної активності між тест-зразками гелю № 1 і № 2 не виявлено, можна стверджувати про можливість використання меншої – 1,5 % концентрації лідокаїну у складі препарату, що розробляється. Запропонований оромукозальний гель з 1,5 % лідокаїну гідрохлориду за виразністю антиноцицептивного ефекту перевершує референтний препарат (через 15 хв. на 3 % та через 30 хв. після нанесення на 16 % відповідно), але за тривалістю анальгетичної дещо йому поступався.
2. У дослідженні на моделі карагенін-індукованого набряку задньої лапи у щурів встановлено, що гель «Холідент» достовірно знижував інтенсивність локального запалення, проявляючи помірну антиексудативну (протизапальну) активність. Ефект спостерігався вже через 30 хвилин після аплікації, що суттєво відрізняє його від референтного препарату, дія якого розпочиналася лише через годину після нанесення.

3. На моделі опікової рани підтверджена здатність гелю “Холідент” стимулювати репаративні процеси та зменшувати місцеву запальну реакцію, що проявлялися збільшенням мітозів та посиленням ангіогенезу у зоні ураження, у порівнянні з групою контрольної патології.
4. За результатами оцінки дії тест-зразку (стоматологічного гелю) на фібробласти людини та клітини епідермоїдної карциноми ротової порожнини людини лінії КВ, а також його діючих речовин (лідокаїну гідрохлорид, холіну саліцилату, фітоденту) та препарату порівняння (хлоргексидину) відносно негативного контролю було показано подібність їх дії на життєздатність нормальних та пухлинних клітин. Дослідження впливу 24-годинної експозиції діючих речовин стоматологічного гелю на життєздатність клітин культури КВ та фібробластів показало, що препарат фітодент чинив найменшу, а холіну саліцилат – найбільшу цитотоксичну дію. Стоматологічний гель проявляв меншу цитотоксичну дію порівняно із препаратом порівняння – хлоргексидином.
5. За результатами оцінки рівня продукції активних форм кисню в пухлинних клітинах після експозиції їх з препаратами було показано подібність дії тест-зразку із препаратом порівняння хлоргексидином тільки в більшій з досліджених доз – 3 %: рівень продукції активних форм кисню був оцінений в 100 балів після дії хлоргексидину та 90 – 95 після дії тест-зразку (стоматологічного гелю), тоді як в концентрації препарату 0,5 % тест-зразок викликав в 2,8 раза менше підвищення рівня продукції активних форм кисню клітинами в порівнянні з хлоргексидином. При оцінці показників загибелі клітин внаслідок дії тест-зразку було показано статистично значуще підвищення відсотка клітин на стадіях раннього та пізнього апоптозу відносно контролю тільки у більшій концентрації препарату (3 %).
6. Встановлена подібність дії тест-зразку з хлоргексидином є перспективною щодо подальших доклінічних та клінічних досліджень даного

стоматологічного гелю, оскільки не дивлячись на токсичні властивості препарату порівняння у високих концентраціях в дослідженнях *in vitro* він широко застосовується в клінічній практиці при різних патологічних процесах. Крім того, результати щодо токсичності тест-зразку відносно пухлинних клітин показують потенційну можливість подальших досліджень стоматологічного гелю як протипухлинного засобу в майбутніх перспективах.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. World Health Organization. (2022). Global oral health status report. WHO. https://www.who.int/publications/i/item/9789240061484 (дата доступу 18.02.2025)
2. Kolenko Yu., Syn'ko A. (2023). Impact of chronic oral mucosal disease on the patients' quality of life. *Modern Dentistry*, (4), 4–9. https://doi.org/10.33295/1992-576X-2023-4-4
3. Feng, J., Zhou, Z., Shen, X., Wang, Y., Shi, L., Wang, Y., Hu, Y., Sun, H., & Liu, W. (2015). Prevalence and distribution of oral mucosal lesions: a cross-sectional study in Shanghai, China. *Journal of oral pathology & medicine : official publication of the International Association of Oral Pathologists and the American Academy of Oral Pathology*, *44*(7), 490–494. https://doi.org/10.1111/jop.12264
4. Robledo-Sierra, J., Mattsson, U., Svedensten, T., & Jontell, M. (2013). The morbidity of oral mucosal lesions in an adult Swedish population. *Medicina oral, patologia oral y cirugia bucal*, *18*(5), e766–e772. https://doi.org/10.4317/medoral.19286
5. Kansky, A. A., Didanovic, V., Dovsak, T., Brzak, B. L., Pelivan, I., & Terlevic, D. (2018). Epidemiology of oral mucosal lesions in Slovenia. *Radiology and oncology*, *52*(3), 263–266. https://doi.org/10.2478/raon-2018-0031
6. Do, L. G., Spencer, A. J., Dost, F., & Farah, C. S. (2014). Oral mucosal lesions: findings from the Australian National Survey of Adult Oral Health. *Australian dental journal*, *59*(1), 114–120. https://doi.org/10.1111/adj.12143
7. Holm-Pedersen, P., Muller, F., & Lang, N. (2015). Pathology and treatment of gingivitis in the aging individual. In *Textbook of Geriatric Dentistry* (3rd ed., pp. 211–223). John Wiley & Sons.

8. Aimetti, M., Perotto, S., Castiglione, A., Mariani, G. M., Ferrarotti, F., & Romano, F. (2015). Prevalence of periodontitis in an adult population from an urban area in North Italy: Findings from a cross-sectional population-based epidemiological survey. *Journal of Clinical Periodontology, 42*(7), 622–631.
9. Holde, G. E., Oscarson, N., Trovik, T. A., Tillberg, A., & Jönsson, B. (2017). Periodontitis prevalence and severity in adults: A cross-sectional study in Norwegian circumpolar communities. *Journal of Periodontology, 88*(10), 1012–1022
10. Kiencało, A., Jamka-Kasprzyk, M., Panaś, M., & Wyszyńska-Pawelec, G. (2021). Analysis of complications after the removal of 339 third molars. *Dental and medical problems*, *58*(1), 75–80. https://doi.org/10.17219/dmp/127028
11. Rakhshan, V. (2018). Common risk factors of dry socket (alveolitis osteitis) following dental extraction: A brief narrative review. *J Stomatol Oral Maxillofac Surg*, *119*(5), 407-411. https://doi.org/10.1016/j.jormas.2018.04.011
12. Lee, C. T., Zhang, S., Leung, Y. Y., Li, S. K., Tsang, C. C., & Chu, C. H. (2015). Patients' satisfaction and prevalence of complications on surgical extraction of third molar. *Patient preference and adherence*, *9*, 257–263. https://doi.org/10.2147/PPA.S76236
13. Маслій, Ю. С., Рубан, О. А., Грудницька, О. О., & Зайченко, Г. В. (2019). Патент на корисну модель № 135187. Фармацевтична композиція багатоспрямованої дії у формі стоматологічного гелю. Опубліковано 25 червня 2019 р., Бюл. № 12.
14. Маслій, Ю. С., Рубан, О. А., Зайченко, Г. В., & Грудницька, О. О. (2020). Патент на винахід № 122021. Фармацевтична композиція багатоспрямованої дії у формі стоматологічного гелю. Опубліковано 25 серпня 2020 р., Бюл. № 12.

15. Maslii, Y. S., Hrudnytska, O. O., Ruban, O. A., & Zaychenko, G. V. (2019). Justification of local anesthetic and choice of its concentration in composition of dental gel. Farm Zhurnal, (3), 49–55. https://doi.org/10.32352/0367-3057.3.19.06
16. Hrudnytska, O. O., Maslii, Y. S., Ruban, O. A., & Zaychenko, G. V. (2020). Pharmacological studies of the dental gel of combined composition. Achievements of Clinical and Experimental Medicine, 3(43), 13–19. https://doi.org/10.11603/1811-2471.2020.v.i3.11577
17. Hrudnytska, O., Zaychenko, G., Malanchuk, V., Apykhtina, O., Maslii, Y., & Ruban, O. (2024). Evaluation of the effectiveness and safety of a new dental gel in experimental in vitro model systems. Prosthodontics, 74(2), 116–128. https://doi.org/10.5114/ps/189407
18. Грудницька, О. О., Маслій, Ю. С., Зайченко, Г. В., & Рубан, О. А. (2019, 21 листопада). Дослідження протизапальної активності нового стоматологічного гелю комбінованого складу. *Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція: тези доповідей II науково-практичної інтернет-конференції з міжнародною участю* (с. 126). Харків: Видавництво НФаУ.
19. Грудницька, О. О., Маслій, Ю. С., Зайченко, Г. В., & Рубан, О. А. (2019, 22–23 жовтня). Дослідження репаративної активності нового стоматологічного гелю комбінованого складу. *Актуальні питання клінічної фармакології та фармації: матеріали наук.-практ. інтернет-конференції* (с. 293). Харків: НФаУ.
20. Грудницька, О. О., & Маланчук, В. О. (2023, 12 травня). Обґрунтування використання нового стоматологічного гелю комбінованого складу. У *Збірник тез VIII З'їзду Української Асоціації черепно-щелепно-лицевих хірургів* (м. Київ).

21. Bouloux, G. F., Steed, M. B., & Perciaccante, V. J. (2007). Complications of third molar surgery. *Oral and maxillofacial surgery clinics of North America*, *19*(1), 117–vii. https://doi.org/10.1016/j.coms.2006.11.013
22. Kwon, T., et al. (2021). Current concepts in the management of periodontitis. *International Dental Journal, 71*(6), 462–476. https://doi.org/10.1111/idj.12630
23. Papadopoulou, E., Kouri, M., Andreou, A., Diamanti, S., Georgaki, M., Katoumas, K., Damaskos, S., Vardas, E., Piperi, E., & Nikitakis, N. G. (2024). Challenges in Differential Diagnosis of Diffuse Gingival Enlargement: Report of Two Representative Cases and Literature Review. *Dentistry journal*, *12*(12), 403. https://doi.org/10.3390/dj12120403
24. Beaty, C. S., Short, A. G., & Mewar, P. (2023). Oral Mucosal Lesions, Immunologic Diseases. In *StatPearls*. StatPearls Publishing.
25. Boukssim, S., & Chbicheb, S. (2024). Oral manifestations of vitamin B12 deficiency associated with pernicious anemia: A case report. *International journal of surgery case reports*, *121*, 109931. https://doi.org/10.1016/j.ijscr.2024.109931
26. Hartanto, F. K., & Sufiawati, I. (2024). Oral lesions in adult- and juvenile-onset systemic lupus erythematosus patients: A case series report. *Dental and medical problems*, *61*(1), 145–152. https://doi.org/10.17219/dmp/132242
27. Gacon, I., & Wieczorek, A. (2020). Coexistence of lack of clinical manifestation of oral mycosis and systemic diseases in edentulous patients using removable prosthetic restorations. *International Journal of Environmental Research and Public Health,17(17),* 6348. https://doi.org/10.3390/ijerph17176348
28. Dakka, A., Nazir, Z., Shamim, H., Jean, M., Umair, M., Muddaloor, P., Farinango, M., Ansary, A., & Khan, S. (2022). Ill effects and complications

associated with removable dentures with improper use and poor oral hygiene: A systematic review. *Cureus, 14(8),* e28144. https://doi.org/10.7759/cureus.28144

29. Poberezhna, H. M., Kulygina, V. M., Gadzhula, N. G., Povsheniuk, A. V., Gorai, M. A., & Kurdysh, L. F. (2023). Dental diseases in patients with pathology of the gastrointestinal tract: a literature review. *Reports of Vinnytsia National Medical University*, *27*(2), 323-330. https://doi.org/10.31393/reports-vnmedical-2023-27(2)-25
30. Смоляр, Н. І., & Шило, М. М. (2022). Поширеність та структура запальних захворювань пародонта при туберкульозі у дітей шкільного віку. *Туберкульоз, легеневі хвороби, ВІЛ-інфекція, 3*(50). https://doi.org/10.30978/TB-2022-3-39
31. Trentin, M. S., Verardi, G., Ferreira, M. D. C., de Carli, J. P., Da Silva, S. O., Lima, I. F. P., & Paranhos, L. R. (2017). Most frequent oral lesions in patients with type 2 diabetes mellitus. *Journal of Contemporary Dental Practice, 18(2),* 107 - 111. https://doi.org/10.5005/jp-journals-10024-1999
32. Carneiro-Neto, J. N., Dreyer-da-Silva de Menezes, J., Moura, L. B., Massucato, E. M. S., & de Andrade, C. R. (2017). Protocols for management of oral complications of chemotherapy and/or radiotherapy for oral cancer: Systematic review and meta-analysis. *Medicina Oral, Patología Oral y Cirugía Bucal, 22*(1), 15-23. https://doi.org/10.4317/medoral.21314
33. Шманько, В. В., Котик, М. І., & Микитів, М. В. (2015). Сучасні підходи до лікування хвороб пародонта і слизової оболонки порожнини рота. *Вісник наукових досліджень, (4)*, 71–74. Retrieved from http://nbuv.gov.ua/UJRN/vndt_2015_4_21
34. Мазур, І. П., Передрій, В. А., Дулько, С. В., та ін. (2010). Фармакологічні засоби для місцевого лікування тканин пародонту. *Современная стоматология, (5)*, 47–52.

35. Devi, S. (2012). Antimicrobial studies of extended release amoxicillin trihydrate dental gels. *Der Pharmacia Letter, 4*, 275–286.

36. Kaci, G., Goudercourt, D., Dennin, V., Pot, B., Doré, J., Ehrlich, S. D., Renault, P., Blottière, H. M., Daniel, C., & Delorme, C. (2014). Anti-inflammatory properties of *Streptococcus salivarius*, a commensal bacterium of the oral cavity and digestive tract. *Applied and Environmental Microbiology, 80*(3), 928–934. https://doi.org/10.1128/AEM.03133-13

37. Caso, A., Hung, L. K., & Beirne, O. R. (2005). Prevention of alveolar osteitis with chlorhexidine: a meta-analytic review. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics*, *99*(2), 155–159. https://doi.org/10.1016/j.tripleo.2004.05.009

38. Sáez-Alcaide, L. M., Molinero-Mourelle, P., González-Serrano, J., Rubio-Alonso, L., Bornstein, M. M., & López-Quiles, J. (2020). Efficacy of a topical gel containing chitosan, chlorhexidine, allantoin, and dexpanthenol for pain and inflammation control after third molar surgery: A randomized and placebo-controlled clinical trial. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*, *25*(5), e644-e651. https://doi.org/10.4317/medoral.23661

39. Zhou, J., Hu, B., Liu, Y., Yang, Z., & Song, J. (2017). The efficacy of intra-alveolar 0.2% chlorhexidine gel on alveolar osteitis: a meta-analysis. *Oral diseases*, *23*(5), 598–608. https://doi.org/10.1111/odi.12553

40. Torres-Lagares, D., Infante-Cossio, P., Gutierrez-Perez, J. L., Romero-Ruiz, M. M., Garcia-Calderon, M., & Serrera-Figallo, M. A. (2006). Intra-alveolar chlorhexidine gel for the prevention of dry socket in mandibular third molar surgery. A pilot study. *Medicina oral, patologia oral y cirugia bucal*, *11*(2), 179 – 184.

41. Piacentini, M., Borghetti, R. L., de Figueiredo, M. A. Z., Cherubini, K., & Salum, F. G. (2019). Doxycycline: An option in the treatment of ulcerated oral lesions? *J Clin Pharm Ther*, *44*(6), 838-843. https://doi.org/10.1111/jcpt.13022
42. Lee, X., Vergara, C., & Lozano, C. P. (2019). Severity of Candida-associated denture stomatitis is improved in institutionalized elders who consume *Lactobacillus rhamnosus* SP1. *Aust Dent J*, *64*(3), 229-236. https://doi.org/10.1111/adj.12692
43. Garaicoa, J. L., Fischer, C. L., Bates, A. M., Holloway, J., Avila-Ortiz, G., Guthmiller, J. M., Johnson, G. K., Stanford, C., & Brogden, K. A. (2018). Promise of combining antifungal agents in denture adhesives to fight Candida species infections. *J Prosthodont*, *27*(8), 755-762. https://doi.org/10.1111/jopr.12565
44. Schwach-Abdellaoui, K., Vivien-Castioni, N., & Gurny, R. (2000). Local delivery of antimicrobial agents for the treatment of periodontal diseases. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, 50*(1), 83–99. https://doi.org/10.1016/S0939-6411(00)00086-2
45. Huang, J. M., Ting, C. C., Chen, Y. C., Yuan, K., & Lin, W. C. (2021). The first study to detect co-infection of *Entamoeba gingivalis* and periodontitis-associated bacteria in dental patients in Taiwan. *Journal of Microbiology, Immunology and Infection, 54(4),* 745–747. https://doi.org/10.1016/j.jmii.2020.08.002
46. Drais, H. K. (2016). Design and evaluation of nystatin gel-based emulsion for oromucosal fungal infection. *World Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, 5*(6), 297-307.
47. Cekici, A., Kantarci, A., Hasturk, H., & Van Dyke, T. E. (2014). Inflammatory and immune pathways in the pathogenesis of periodontal disease. *Periodontology 2000, 64*(1), 57–80. https://doi.org/10.1111/prd.12002

48. Roda, R. P., Bagan, J. V., Soriano, Y. J., & Romero, L. G. (2007). Use of nonsteroidal anti-inflammatory drugs in dental practice: A review. *Medicina Oral, Patología Oral y Cirugía Bucal, 12*(1), 10–18.
49. Виноградова, О. М. (2013). Використання сучасних антимікробних і протизапальних препаратів місцевої дії в лікуванні запальних захворювань пародонту. *Здобутки клінічної і експериментальної медицини*, (2), 47–49.
50. Мазур І.П., Левченко А.-О.Ю., Слободяник М.В., Мазур П.В. (2022). Сучасні підходи до лікування захворювань пародонта з використанням препарату місцевої дії з протизапальними та антибактеріальними властивостями. Oral and General Health, 3(3), 47–51. https://doi.org/10.22141/ogh.3.3.2022.124
51. Abdelbary, G. A., & Aburahma, M. H. (2015). Oro-dental mucoadhesive proniosomal gel formulation loaded with lornoxicam for management of dental pain. *J Liposome Res*, *25*(2), 107-121.
52. Kassem, A., Refai, H., El-Nabarawi, M. A., & Abdellatif, M. M. (2023). Formulation and evaluation of prednisolone sodium metazoate-loaded mucoadhesive quatsomal gel for local treatment of recurrent aphthous ulcers: Optimization, in vitro, ex vivo, and in vivo studies. *Pharmaceutics,15(7),* 1947. https://doi.org/10.3390/pharmaceutics15071947
53. Khaitovich, M.V.. (2021). Протизапальна системна терапія захворювань пародонту (огляд літератури). Oral and General Health. 2. 17-24. https://doi.org/10.22141/ogh.2.1.2021.227061.
54. Moghaddam, A. V., Mortazavi, S. A., Kobarfard, F., Bafkary, R., & Darbasizadeh, B. (2023). Synthesis and functionalization of mucoadhesive mesoporous silica particles containing diphenhydramine for treatment of

aphthous ulcers. *Bioimpacts, 13(6),* 456–466. https://doi.org/10.34172/bi.2023.27548

55. Cristina Cavallari, Adamo Fini, Francesca Ospitali,Mucoadhesive multiparticulate patch for the intrabuccal controlled delivery of lidocaine, European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, Volume 83, Issue 3, 2013,Pages 405-414, https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2012.10.004
56. Bender, L., Boostrom, H. M., Varricchio, C., Zuanon, M., Celiksoy, V., Sloan, A., Cowpe, J., & Heard, C. M. (2020). A novel dual action monolithic thermosetting hydrogel loaded with lidocaine and metronidazole as a potential treatment for alveolar osteitis. *European journal of pharmaceutics and biopharmaceutics : official journal of Arbeitsgemeinschaft fur Pharmazeutische Verfahrenstechnik e.V*, *149*, 85–94. https://doi.org/10.1016/j.ejpb.2020.01.007
57. U.S. Food and Drug Administration. (2014). FDA Drug Safety Communication: FDA recommends not using lidocaine to treat teething pain and requires new Boxed Warning. *U.S. Food and Drug Administration*. https://www.fda.gov/Drugs/DrugSafety/ucm402240.htm
58. Салюк, О. Д., Герасимчук, П. Г., Зайцев, Л. О., та ін. (2021). Фітопрепарати в комплексному лікуванні запальних захворювань пародонту. *Український журнал медицини, біології та спорту, 6*(5), 38–44. https://doi.org/10.26693/jmbs06.05.038
59. Wahyuni, I. S., Sufiawati, I., Nittayananta, W., Puspitasari, I. M., & Levita, J. (2021). Efficacy and safety of plant-based therapy on recurrent aphthous stomatitis and oral mucositis in the past decade: A systematic review. *J Herbmed Pharmacol*, *10*, 179-187. https://doi.org/10.34172/jhp.2021.19
60. Basilicata, M., Di Lauro, M., Campolattano, V., Marrone, G., Celotto, R., Mitterhofer, A. P., Bollero, P., Di Daniele, N., & Noce, A. (2022). Natural bioactive compounds in the management of oral diseases in nephropathic

patients. *International Journal of Environmental Research and Public Health, 19(3),* 1665. https://doi.org/10.3390/ijerph19031665

61. Chatzopoulos, G. S., Karakostas, P., Kavakloglou, S., Assimopoulou, A., Barmpalexis, P., & Tsalikis, L. (2022). Clinical effectiveness of herbal oral care products in periodontitis patients: A systematic review. *International Journal of Environmental Research and Public Health, 19(16),* 10061. https://doi.org/10.3390/ijerph191610061
62. Lee, X., Vergara, C., & Lozano, C. P. (2019). Severity of *Candida*-associated denture stomatitis is improved in institutionalized elders who consume *Lactobacillus rhamnosus* SP1. *Australian Dental Journal, 64(3),* 229–236. https://doi.org/10.1111/adj.12692
63. Cardoso, V. F. D. S., Roppa, R. H. A., Antunes, C., Moraes, A. N. S., Santi, L., & Konrath, E. L. (2021). Efficacy of medicinal plant extracts as dental and periodontal antibiofilm agents: A systematic review of randomized clinical trials. *Journal of Ethnopharmacology, 281*, 114541. https://doi.org/10.1016/j.jep.2021.114541
64. González-Serrano, J., López-Pintor, R. M., Cecilia-Murga, R., Torres, J., Hernández, G., & López-Quiles, J. (2021). Application of propolis extract, nanovitamin C and nanovitamin E to prevent alveolar osteitis after impacted lower third molar surgery: A randomized, double-blind, split-mouth, pilot study. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*, *26*(2), e118-e125. https://doi.org/10.4317/medoral.23915
65. Hrishi, T. S., Kundapur, P. P., Naha, A., Thomas, B. S., Kamath, S., & Bhat, G. S. (2016). Effect of adjunctive use of green tea dentifrice in periodontitis patients: A randomized controlled pilot study. *International Journal of Dental Hygiene, 14*(3), 178–183. https://doi.org/10.1111/idh.12131

66. Nugala, B., Namasi, A., Emmadi, P., & Krishna, P. M. (2012). Role of green tea as an antioxidant in periodontal disease: The Asian paradox. *Journal of Indian Society of Periodontology, 16*(3), 313–316. https://doi.org/10.4103/0972-124X.100902

67. Dalessandri, D., Zotti, F., Laffranchi, L., Migliorati, M., Isola, G., Bonetti, S., & Visconti, L. (2019). Treatment of recurrent aphthous stomatitis (RAS; aphthae; canker sores) with a barrier forming mouth rinse or topical gel formulation containing hyaluronic acid: A retrospective clinical study. *BMC Oral Health, 19*, 153. https://doi.org/10.1186/s12903-019-0850-1

68. Di Pierro, F., Giuberti, R., Bertuccioli, A., & Spada, C. (2022). Clinical outcomes in adults' subjects with aphthous stomatitis treated with an oral hyaluronic acid-based medical device. *Minerva Dent Oral Sci*, *71*(2), 101-106. https://doi.org/10.23736/S2724-6329.21.04585-X

69. Suchánek, J., Koberová Ivančaková, R., Mottl, R., Browne, K. Z., Pilneyová, K. C., Pilbauerová, N., Schmidt, J., & Kleplová, T. S. (2019). Hyaluronic acid-based medical device for treatment of alveolar osteitis-Clinical study. *Int J Environ Res Public Health*, *16*(19), 3698. https://doi.org/10.3390/ijerph16193698

70. Eeckhout, C., Ackerman, J., Glibert, M., & Cosyn, J. (2022). A randomized controlled trial evaluating hyaluronic acid gel as a wound healing agent in alveolar ridge preservation. *J Clin Periodontol*, *49*(3), 280-291. https://doi.org/10.1111/jcpe.13589

71. Darakhshan, S., Malmir, M., Bagheri, F., Mozaffari, H. R., & Tahvilian, R. (2019). The effects of pomegranate peel extract on recurrent aphthous stomatitis. *Current Issues in Pharmacy and Medical Sciences*, *32*(3), 115-120. https://doi.org/10.2478/cipms-2019-0021

72. Aslani, A., Zolfaghari, B., & Davoodvandi, F. (2016). Design, formulation and evaluation of an oral gel from *Punica granatum* flower extract for the treatment of recurrent aphthous stomatitis. *Adv Pharm Bull*, *6*(3), 391-398. https://doi.org/10.15171/apb.2016.051

73. Hambire, C., & Hambire, U. (2020). Comparative evaluation of 2% curcumin and 2% aloe vera gel in the management of chronic recurrent oral aphthous ulcers: A clinical study. *Toxicology International*, *27*(1-2), 28–33.

74. Raman, P., Pity, R., Krithika, C. L., Anand, S. N., & Subramani, G. P. (2020). Topical curcumin and triamcinolone acetonide in recurrent minor aphthous ulcers: A pilot trial. *Journal of Contemporary Dental Practice*, *21*(8), 884-890. https://doi.org/10.5005/jp-journals-10024-2901

75. Bakhshi, M., Mahboubi, A., Jaafari, M. R., Ebrahimi, F., Tofangchiha, M., & Alizadeh, A. (2022). Comparative efficacy of 1% curcumin nanomicelle gel and 2% curcumin gel for treatment of recurrent aphthous stomatitis: A double-blind randomized clinical trial. *Journal of Evidence-Based Dental Practice, 22(2),* 101708. https://doi.org/10.1016/j.jebdp.2022.101708

76. Метью, І. І., Хохленкова, Н. В., Палій, О. В., & Пащенко, К. В. (2016). Дослідження актуальності створення нового гелю для лікування стоматологічних захворювань. *Збірник наукових праць співробітників НМАПО ім. П. Л. Шупика, 26*, 194–200.

77. Alghanem, S., Dziurkowska, E., Ordyniec-Kwaśnica, I., & Sznitowska, M. (2023). Intraoral medical devices for sustained drug delivery. *Clinical Oral Investigations, 27*(12), 7157–7169. https://doi.org/10.1007/s00784-023-05377-5

78. Bastos, F., Pinto, A. C., Nunes, A., & Simões, S. (2022). Oromucosal products - Market landscape and innovative technologies: A review. *Journal of Controlled Release, 348*, 305-320. https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2022.05.053

79. Santos, M. S., Dos Santos, A. B., & Carvalho, M. S. (2023). New insights in hydrogels for periodontal regeneration. *Journal of Functional Biomaterials, 14(11),* 545. https://doi.org/10.3390/jfb14110545

80. Rawas-Qalaji, M., Thu, H. E., & Hussain, Z. (2022). Oromucosal delivery of macromolecules: Challenges and recent developments to improve bioavailability. *Journal of Controlled Release, 352*, 726-746. https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2022.10.059

81. Suharyani, I., Mohammed, A. F. A., Muchtaridi, M., Wathoni, N., & Abdassah, M. (2021). Evolution of drug delivery systems for recurrent aphthous stomatitis. *Drug Design, Development and Therapy, 15*, 4071–4089. https://doi.org/10.2147/DDDT.S328371

82. Alghanem, S., Dziurkowska, E., & Ordyniec-Kwaśnica, I. (2023). Intraoral medical devices for sustained drug delivery. *Clinical Oral Investigations, 27*(12), 7157-7169. https://doi.org/10.1007/s00784-023-05377-5

83. Дев'яткіна, Н. М., Важнича, О. М., Петрушанко, Т. О., & Дев'яткіна, Т. О. (2010). Стоматологічні гелі як сучасна лікарська форма для лікування й профілактики інфекційно-запальних захворювань порожнини рота**.** *Український стоматологічний альманах, (3)*, 3–7.

84. Компендіум – лікарські препарати. (n.d.). *Compendium.com.ua*. Отримано з https://compendium.com.ua/atc/a01a/

85. Державний реєстр лікарських засобів України. (n.d.). *Drlz.com.ua*. Отримано з http://www.drlz.com.ua/ibp/ddsite.nsf/all/shlist?opendocument&lpage=2&atscode=A01A

86. Трутаєв, С. І., Адрауі, М. А., & Трутаєва, Л. М. (2023). Аналіз лікарських засобів групи А01А «Засоби для застосування у стоматології». У *Сучасні досягнення фармацевтичної технології: Матеріали X міжнар. наук.-*

практ. конф., присвяч. 60-річчю з дня народж. д-ра фармацевт. наук, проф. Гладуха Євгенія Володимировича (с. 80–83). Харків: НФаУ.

87. Mazur, I. P., Levchenko, A.-O. Y., & Stadnyk, M. B. (2021). Pharmacotherapy in dentistry: Analysis of the use of drugs in dentistry in 2021. *Oral and General Health, 2*(2), 21–28. https://doi.org/10.22141/ogh.2.2.2021.237654
88. PharmExplorer: Proxima Research International**.** (2025). *Proxima Research International*. Отримано 9.01.2025 р.
89. Мазур І.П., Левченко А.-О.Ю., Слободяник М.В., Мазур П.В. (2022). Сучасні підходи до лікування захворювань пародонта з використанням препарату місцевої дії з протизапальними та антибактеріальними властивостями. Oral and General Health, 3(3), 47–51. https://doi.org/10.22141/ogh.3.3.2022.124
90. Компендіум OnLine. (2024). *Compendium.com.ua*. Отримано 29 січня 2024 р. з https://compendium.com.ua/
91. Ганчо, О. В., Мошель, Т. М., Бублій, Т. Д., & Ніколішина, Е. В. (2016). Можливості використання препаратів на основі лікарських рослин у практиці лікаря-стоматолога. *Питання експериментальної та клінічної стоматології: Збірник наукових праць, (12)*, 53–58. ХНМУ.
92. Пошук лікарського засобу за фармакотерапевтичними групами – нормативно-директивні документи МОЗ України. (2024). *Mozdocs.kiev.ua*. Отримано 29 січня 2024 р. з http://mozdocs.kiev.ua/liki.php?nav=2
93. European Parliament and Council of the European Union. (2010). Directive 2010/63/EU of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes**.** *Official Journal of the European Union, L276*, 33–79.
94. Deuis, J. R., Dvorakova, L. S., & Vetter, I. (2017). Methods used to evaluate pain behaviors in rodents. *Frontiers in Molecular Neuroscience, 10*, 284. https://doi.org/10.3389/fnmol.2017.00284

95. Attia, M. A., El-Gibaly, I., Shaltout, S. E., & Fetih, G. N. (2004). Transbuccal permeation, anti-inflammatory activity and clinical efficacy of piroxicam formulated in different gels. *International journal of pharmaceutics*, *276*(1-2), 11–28. https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2004.01.041

96. Posadas, I., Bucci, M., Roviezzo, F., Rossi, A., Parente, L., Sautebin, L., & Cirino, G. (2004). Carrageenan-induced mouse paw oedema is biphasic, age-weight dependent and displays differential nitric oxide cyclooxygenase-2 expression. *British journal of pharmacology*, *142*(2), 331–338. https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0705650

97. Winyard, P. G., & Willoughby, D. A. (Eds.). (2003). *Mouse.* In *Inflammation Protocols. Methods in Molecular Biology*(pp. 115–121). Humana Press Inc. https://doi.org/10.1385/1-59259-374-7:115

98. Stepanović-Petrović, R. M., Micov, A. M., Tomić, M. A., & Ugrešić, N. D. (2012). The local peripheral antihyperalgesic effect of levetiracetam and its mechanism of action in an inflammatory pain model. *Anesthesia and analgesia*, *115*(6), 1457 – 1466. https://doi.org/10.1213/ANE.0b013e31826c7fc2

99. Vidinský, B., Gál, P., Toporcer, T., Longauer, F., Lenhardt, Ľ., Bobrov, N., & Sabo, J. (2006). Histological study of the first seven days of skin wound healing in rats. *Acta Veterinaria Brno, 75*(2), 197–202. https://doi.org/10.2754/avb200675020197

100. Vega-Avila, E., & Pugsley, K. M. (2011). An overview of colorimetric assay methods used to assess survival or proliferation of mammalian cells. *Proceedings of the Western Pharmacology Society, 54*, 10–14.

101. Ozdemir, K. G., Yilmaz, H., & Yilmaz, S. (2009). In vitro evaluation of cytotoxicity of soft lining materials on L929 cells by MTT assay**.** *Journal of*

Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials, 90(1), 82–86. https://doi.org/10.1002/jbm.b.31263

102. Wu, D., & Yotnda, P. (2011). Production and detection of reactive oxygen species (ROS) in cancers**.** *Journal of Visualized Experiments, (57)*, 3357. https://doi.org/10.3791/3357

103. Pietkiewicz, S., Schmidt, J. H., & Lavrik, I. N. (2015). Quantification of apoptosis and necroptosis at the single-cell level by a combination of imaging flow cytometry with classical Annexin V/propidium iodide staining**.** *Journal of Immunological Methods, 423*, 99–103. https://doi.org/10.1016/j.jim.2015.04.025

104. Ito, M., Liu, Y., Yang, Z., Nguyen, J., Liang, F., Morris, R. J., & Cotsarelis, G. (2005). Stem cells in the hair follicle bulge contribute to wound repair but not to homeostasis of the epidermis. *Nature medicine*, *11*(12), 1351–1354. https://doi.org/10.1038/nm1328

105. Allen, D. D., Caviedes, R., Cárdenas, A. M., Shimahara, T., Segura-Aguilar, J., & Caviedes, P. A. (2005). Cell lines as in vitro models for drug screening and toxicity studies. *Drug Development and Industrial Pharmacy, 31*(8), 757–768. https://doi.org/10.1080/03639040500216246

106. Capula, M., Corno, C., El Hassouni, B., Li Petri, G., Aranđelović, S., & EORTC PAMM Group. (2019). A brief guide to performing pharmacological studies in vitro: Reflections from the EORTC-PAMM course «Preclinical and Early-phase Clinical Pharmacology». *Anticancer Research, 39*(7), 3413–3418. https://doi.org/10.21873/anticanres.13485

107. Killekar, K., Puranik, S. I., Akbar, A., et al. (2022). Overview of primary cell culture models in preclinical research of prostate and bladder cancer. *IntechOpen*. http://dx.doi.org/10.5772/intechopen

108. Noor, F. (2019). The changing paradigm in preclinical toxicology: In vitro and in silico methods in liver toxicity evaluations. In *Animal Experimentation: Working Towards a Paradigm Change* (pp. 610-638). Brill. https://doi.org/10.1163/9789004391192_026

109. Pamies, D., & Hartung, T. (2017). 21st century cell culture for 21st century toxicology. *Chemical Research in Toxicology, 30*(1), 43-52. https://doi.org/10.1021/acs.chemrestox.6b00269

110. Okuyama, N. C. M., Ribeiro, D. L., & Rocha, C. Q. da. (2023). Three-dimensional cell cultures as preclinical models to assess the biological activity of phytochemicals in breast cancer. *Toxicology and Applied* Pharmacology, 460, 116376. https://doi.org/10.1016/j.taap.2023.116376

111. Foglizzo, V., Cocco, E., & Marchiò, S. (2022). Advanced cellular models for preclinical drug testing: From 2D cultures to organ-on-a-chip technology. Cancers, 14(15), 3692. https://doi.org/10.3390/cancers14153692

112. Oleaga, C., Bernabini, C., Smith, A. S., et al. (2016). Multi-organ toxicity demonstration in a functional human in vitro system composed of four organs. Scientific Reports, 6, 20030. https://doi.org/10.1038/srep20030

113. Khairnar, M. R., Wadgave, U., Jadhav, H., & Naik, R. (2018). Anticancer activity of chlorhexidine and cranberry extract: An in-vitro study. Journal of Experimental Therapeutics and Oncology, 12(3), 201-205. PMID: 29790310

114. Martínez-Pérez, F., García-Cuellar, C. M., Hernandez-Delgadillo, R., Zaragoza-Magaña, V., Sánchez-Pérez, Y., et al. (2019). Comparative study of antitumor activity between lipophilic bismuth nanoparticles (BisBAL NPs) and chlorhexidine on human squamous cell carcinoma. Journal of Nanomaterials, 2019(1), 1-11. https://doi.org/10.1155/2019/8148219

115. Нетюхайло, Л. Г., & Харченко, С. В. (2014). Активні форми кисню (огляд літератури). *Young Scientist*, *9*(12), 131-135.

116. Орленко, Д. С., Яковенко, В. К., & Гранкіна, О. Ю. (2019). Дослідження антимікробної активності комбінованого гелю для лікування інфекційно-запальних захворювань порожнини рота. *Укр. біофармац. журнал*, № 4, 76–80.

117. Мазур, І. П., Левченко, А.-О. Ю., Слободяник, М. В., & Мазур, П. В. (2022). Сучасні підходи до лікування захворювань пародонта з використанням препарату місцевої дії з протизапальними та антибактеріальними властивостями. *Oral and General Health, 3*(3), 47–51. https://doi.org/10.22141/ogh.3.3.2022.124

118. Стефанів, І. В., Яковлєва, Л. В., Гращенкова, С. А., & Лар'яновська, Ю. Б. (2015). Вплив стоматологічної настойки «Касдент» на стан слизової оболонки у щурів на моделі гінгівіту. *Клінічна фармація, фармакотерапія та медична стандартизація*, № 3–4, 40–45. http://nbuv.gov.ua/UJRN/Kff_2015_3-4_9

119. Давтян, Л. Л., Рева, Д. В., Чубенко, О. В., & Трохимчук, В. В. (2016). Розроблення методики виявлення та визначення діючих речовин у складі стоматологічного гелю. *Фармацевтичний журнал*, № 2, 48–52. http://nbuv.gov.ua/UJRN/pharmazh_2016_2_10

120. Кравченко, Л. С., Щербаков, С. В., Бас, О. А., & Івченко, Н. А. (2011). Протизапальний і ранозагоювальний ефекти нового лікувального гелю при експериментальному стоматиті. *Досягнення біології та медицини*, № 2, 28–31.

121. Кравченко, Л. С., Солоденко, Г. М., Бас, Н. О., & Розуменко, О. П. (2012). Вплив розробленого лікувального гелю на стан слизової оболонки рота при стоматиті. *Укр. стоматол. альманах*, № 1, 36–39.

122. Рухмакова, О. А., & Ярних, Т. Г. (2014). Технологічні аспекти створення стоматологічного гелю «дентавір-фіто». *Фармацевтичний часопис*, № 3, 36–39. http://nbuv.gov.ua/UJRN/Phch_2014_3_10

123. Мінько, Л. Ю. (2014). Місцева терапія хронічного катарального гінгівіту з використанням лікувально-профілактичного гелю. *Клінічна стоматологія*, № 3, 42. http://nbuv.gov.ua/UJRN/klct_2014_3_27

124. Безпала, Ю. О., Баранова, І. І., & Стрілець, О. П. (2014). Розробка складу стоматологічного гелю «Ротрин-дента». *Проблеми екологічної та медичної генетики і клінічної імунології*, № 3, 115–124. http://nbuv.gov.ua/UJRN/pemgki_2014_3_15

125. Портянко, В. С., & Коваленко, С. М. (2013). Розробка технології гелю для лікування гінгівітів. *Проблеми екологічної та медичної генетики і клінічної імунології*, № 2, 237–244. http://nbuv.gov.ua/UJRN/pemgki_2013_2_31

126. Портянко, В. С., Коваленко, С. М., & Малоштан, Л. М. (2014). Доклінічне вивчення специфічної активності гелю для лікування гінгівітів. *Фармацевтичний журнал*, № 3, 83–88. http://nbuv.gov.ua/UJRN/pharmazh_2014_3_13

127. Власенко, І. О., Давтян, Л. Л., Дроздова, А. О., & Шматенко, О. П. (2011). Фармацевтична технологія стоматологічного гелю антимікробної та протизапальної дії. *Військова медицина України, 11*(1), 134–136. http://nbuv.gov.ua/UJRN/vmuk_2011_11_1_23

128. Воронкова, Г. В. (2017). Клініко-експериментальне обґрунтування профілактики і лікування хронічного катарального гінгівіту в осіб, що знаходяться на ортодонтичному лікуванні, з використанням мукозального гелю з пробіотиком (Автореферат дис. канд. мед. наук). Одеса.

ДОДАТКИ

Додаток А

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
Директор ТОВ «Алкалоід Київ»
_____ Артем Матвєєв
«__» _____ 2025 р.

АКТ ПРО ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Назва пропозиції для впровадження:** Результати дослідження, проведеного в рамках дисертаційної роботи «Розробка та обґрунтування застосування нового оромукозального гелю для лікування запальних захворювань порожнини рота».
2. **Установа, її адреса, виконавці:** кафедри фармакології Національного медичного університету імені О. О. Богомольця, 01601, м. Київ, бульвар Шевченка, 13, аспірантка Грудницька Олена Олегівна.
3. **Джерела інформації:** Фрагмент науково-дослідної роботи: «Розробка та клініко-фармакологічне дослідження стоматологічних лікарських форм з субстанціями природного та синтетичного походження» (номер державної реєстрації № 0121U107940)

- Маслій, Ю. С., Рубан, О. А., Зайченко, Г. В., & Грудницька, О. О. (2020). Патент на винахід № 122021. Фармацевтична композиція багатоспрямованої дії у формі стоматологічного гелю. Опубліковано 25 серпня 2020 р., Бюл. № 12.
- Hrudnytska, O., Zaychenko, G., Malanchuk, V., Apykhtina, O., Maslii, Y., & Ruban, O. (2024). Evaluation of the effectiveness and safety of a new dental gel in experimental in vitro model systems. Prosthodontics, 74(2), 116–128. https://doi.org/10.5114/ps/189407

4. **Де і коли впроваджено:** в науково-дослідний процес ТОВ «Алкалоід Київ» з «06» серпня 2025 р.
5. **Результат впровадження:** Результати дисертації були використані у діяльності науково-дослідного відділу ТОВ «Алкалоід Київ» при розробці фармацевтичної композиції місцевої дії. Дані увійшли до складу внутрішньої звітної документації (технологічний регламент, протокол досліджень) і стали основою для формування прототипу препарату та формування реєстраційного досьє. Встановлені дисертанткою наукові положення містять результати експериментального дослідження, що дозволяє розширити наукові уявлення про фармакологічні і фармацевтичні властивості, механізми дії нового стоматологічного гелю комбінованого складу, а також перспективи розробки нових м'яких лікарських форм для топічного застосування з покращеними фармакологічними та фармацевтичними властивостями для лікування запальних захворювань порожнини рота.
5. **Зауваження та пропозиції:** не вносилися.

Даний акт не є підставою для фінансових взаєморозрахунків.

Голова комісії
_____ Гавшина Л.Г. головний бухгалтер

Члени комісії
_____ Іванова Ю.С. бухгалтер
_____ Тимошенко І.О. менеджер з адміністративної діяльності

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
Перший проректор
Міжнародного гуманітарного університету,
доктор психологічних наук, професор
_____ Лефтеров В.О.
«__» _____ 2025 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Назва пропозиції для впровадження:** Результати дослідження, проведеного в рамках дисертаційної роботи «Розробка та обґрунтування застосування нового оромукозального гелю для лікування запальних захворювань порожнини рота».
2. **Установа, її адреса, виконавці:** кафедра фармакології Національного медичного університету імені О.О. Богомольця, 01601, м. Київ, бульвар Шевченка, 13, аспірантка Грудницька Олена Олегівна
3. **Джерела інформації:** Фрагмент науково-дослідної роботи: «Розробка та клініко-фармакологічне дослідження стоматологічних лікарських форм з субстанціями природного та синтетичного походження» (номер державної реєстрації № 0121U107940)
   - Маслій, Ю. С., Рубан, О. А., Зайченко, Г. В., & Грудницька, О. О. (2020). Патент на винахід № 122021. Фармацевтична композиція багатоспрямованої дії у формі стоматологічного гелю. Опубліковано 25 серпня 2020 р., Бюл. № 12.
   - Hrudnytska, O., Zaychenko, G., Malanchuk, V., Apykhtina, O., Maslii, Y., & Ruban, O. (2024). Evaluation of the effectiveness and safety of a new dental gel in experimental in vitro model systems. Prosthodontics, 74(2), 116-128. https://doi.org/10.5114/ps/189407
4. **Де і коли впроваджено:** в освітньо-науковий процес кафедри загальної стоматології Міжнародного гуманітарного університету з «1» вересня 2025 р.
5. **Результат впровадження:** Встановлені дисертанткою наукові положення містять результати експериментального дослідження, які дозволяють розширити уявлення про фармакологічні і токсикологічні властивості та механізм дії нового стоматологічного гелю комбінованого складу, а також перспективи розробки нових м'яких лікарських форм для місцевого застосування у ротовій порожнині з покращеними фармакологічними та фармацевтичними властивостями для лікування запальних захворювань слизової оболонки порожнини рота.
6. **Зауваження та пропозиції:** не вносилися.

Обговорено та затверджено на засіданні кафедри загальної стоматології Міжнародного гуманітарного університету, протокол № 5 від « 24 » січня 2025 р.

Відповідальний за впровадження:
Професор кафедри загальної стоматології,
д.мед.н., професор Ю.Г. Чумакова

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
Проректор з наукової роботи
Приватного вищого навчального закладу
«Київський медичний університет»
доктор медичних наук, доцент
Юрій П'ЯТНИЦЬКИЙ
«18» квітня 2025 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Назва пропозиції для впровадження:** Результати дослідження, проведеного в рамках дисертаційної роботи «Розробка та обґрунтування застосування нового оромукозального гелю для лікування запальних захворювань порожнини рота».
2. **Установа, її адреса, виконавці:** кафедри фармакології Національного медичного університету імені О. О. Богомольця, 01601, м. Київ, бульвар Шевченка, 13, аспірантка Грудницька Олена Олегівна.
2. **Джерела інформації:** Фрагмент науково-дослідної роботи: «Розробка та клініко-фармакологічне дослідження стоматологічних лікарських форм з субстанціями природного та синтетичного походження» (номер державної реєстрації № 0121U107940)

- Маслій, Ю. С., Рубан, О. А., Зайченко, Г. В., & Грудницька, О. О. (2020). Патент на винахід № 122021. Фармацевтична композиція багатоспрямованої дії у формі стоматологічного гелю. Опубліковано 25 серпня 2020 р., Бюл. № 12.
- Hrudnytska, O., Zaychenko, G., Malanchuk, V., Apykhtina, O., Maslii, Y., & Ruban, O. (2024). Evaluation of the effectiveness and safety of a new dental gel in experimental in vitro model systems. Prosthodontics, 74(2), 116–128. https://doi.org/10.5114/ps/189407

3. **Де і коли впроваджено:** в освітньо-науковий процес кафедри терапевтичної стоматології та пародонтології Приватного вищого навчального закладу «Київський медичний університет» з «17» квітня 2025 р.
4. **Результат впровадження:** Встановлені дисертанткою наукові положення містять результати експериментального дослідження, що дозволяє розширити наукові уявлення про фармакологічні і токсикологічні властивості, механізми дії нового стоматологічного гелю комбінованого складу, а також перспективи розробки нових м'яких лікарських форм для топічного застосування з покращеними фармакологічними та фармацевтичними властивостями для лікування запальних захворювань порожнини рота.
5. **Зауваження та пропозиції:** не вносилися.
   Обговорено та затверджено на засіданні кафедри терапевтичної стоматології та пародонтології Приватного вищого навчального закладу «Київський медичний університет», протокол №___ від «17» квітня 2025 р.

Відповідальний за впровадження:
Завідувачка кафедри терапевтичної стоматології
та пародонтології
д. мед. н., професор Оксана КОПЧАК

ВІДДІЛ КАДРІВ

Підпис Копчак засвідчую
Олег БАЗІЧЕВ
"__" _____ 20___ р.

«ЗАТВЕРДЖУЮ»
Проректор з наукової роботи та інновацій
Національного медичного університету
імені О.О.Богомольця,
доктор медичних наук, професор
Земсков С.В.
«25» 03 2025 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Назва пропозиції для впровадження:** Результати дослідження, проведеного в рамках дисертаційної роботи «Розробка та обґрунтування застосування нового оромукозального гелю для лікування запальних захворювань порожнини рота».
2. **Установа, її адреса, виконавці:** кафедри фармакології Національного медичного університету імені О. О. Богомольця, 01601, м. Київ, бульвар Шевченка, 13, аспірантка Грудницька Олена Олегівна.
2. **Джерела інформації:** Фрагмент науково-дослідної роботи: «Розробка та клініко-фармакологічне дослідження стоматологічних лікарських форм з субстанціями природного та синтетичного походження» (номер державної реєстрації № 0121U107940)

- Маслій, Ю. С., Рубан, О. А., Зайченко, Г. В., & Грудницька, О. О. (2020). Патент на винахід № 122021. Фармацевтична композиція багатоспрямованої дії у формі стоматологічного гелю. Опубліковано 25 серпня 2020 р., Бюл. № 12.
- Hrudnytska, O., Zaychenko, G., Malanchuk, V., Apykhtina, O., Maslii, Y., & Ruban, O. (2024). Evaluation of the effectiveness and safety of a new dental gel in experimental in vitro model systems. Prosthodontics, 74(2), 116–128. https://doi.org/10.5114/ps/189407

3. **Де і коли впроваджено:** в освітньо-науковий процес кафедри терапевтичної стоматології Національного медичного університету імені О.О.Богомольця з 18.03.2025 р.
4. **Результат впровадження:** Встановлені дисертанткою наукові положення містять результати експериментального дослідження, що дозволяє розширити наукові уявлення про фармакологічні і токсикологічні властивості, механізми дії нового стоматологічного гелю комбінованого складу, а також перспективи розробки нових м'яких лікарських форм для топічного застосування з покращеними фармакологічними та фармацевтичними властивостями для лікування запальних захворювань порожнини рота.
5. **Зауваження та пропозиції:** не вносилися.
   Обговорено та затверджено на засіданні кафедри терапевтичної стоматології Національного медичного університету імені О.О.Богомольця, протокол №13 від 17.03.2025 р.

Відповідальний за впровадження:
Завідувачка кафедри терапевтичної стоматології
НМУ імені О.О.Богомольця,
д. мед. н., професорка Ю.Г.Коленко

Додаток Б



УКРАЇНА

ПАТЕНТ

НА ВИНАХІД

№ 122021

ФАРМАЦЕВТИЧНА КОМПОЗИЦІЯ БАГАТОСПРЯМОВАНОЇ ДІЇ У ФОРМІ СТОМАТОЛОГІЧНОГО ГЕЛЮ

Видано відповідно до Закону України "Про охорону прав на винаходи і корисні моделі".

Зареєстровано в Державному реєстрі патентів України на винаходи **25.08.2020.**

Заступник Міністра розвитку економіки, торгівлі та сільського господарства України Д.О. Романович

МІНІСТЕРСТВО РОЗВИТКУ ЕКОНОМІКИ, ТОРГІВЛІ ТА СІЛЬСЬКОГО ГОСПОДАРСТВА УКРАЇНИ * Ідентифікаційний код 37508596

УКРАЇНА

ПАТЕНТ

НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

№ 135187

ФАРМАЦЕВТИЧНА КОМПОЗИЦІЯ БАГАТОСПРЯМОВАНОЇ ДІЇ У ФОРМІ СТОМАТОЛОГІЧНОГО ГЕЛЮ

Видано відповідно до Закону України "Про охорону прав на винаходи і корисні моделі".

Зареєстровано в Державному реєстрі патентів України на корисні моделі **25.06.2019.**

Заступник Міністра економічного розвитку і торгівлі України Ю.П. Бровченко

МІНІСТЕРСТВО ЕКОНОМІЧНОГО РОЗВИТКУ І ТОРГІВЛІ УКРАЇНИ ІДЕНТИФІКАЦІЙНИЙ КОД 37508596

Додаток В

УГОДА
про науково-практичне співробітництво

м.Київ «23» червня 2016 р.

Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології імені Р. Є. Кавецького НАН України (ІЕПОР) в особі директора доктора медичних наук, професора, академіка НАН України, Чехуна Василя Федоровича (Сторона 1) та Національний медичний університет імені О.О. Богомольця (НМУ) в особі ректора доктора медичних наук, професора, член-кореспондента НАМН України, д.мед.н., професора Амосової К.М. (Сторона 2) керуючись своїми Статутами уклали угоду про наукове співробітництво.

1. Предмет угоди

1.1. Предметом угоди є взаємовигідне використання наукового і практичного потенціалів Сторін з метою проведення науково-дослідних робіт, спрямованих на вивчення особливостей впливу різних фізичних та хімічних агентів на моделі злоякісних пухлин in vivo, експериментальну розробку та вдосконалення сучасних методів терапії хворих на злоякісні новоутворення підготовки та впровадження їх в клінічну практику, публікацію результатів спільних наукових досліджень.

1.2 Спільне забезпечення обміну досвідом, стажування, навчальних і виробничих практик, підготовки, перепідготовки та впровадження кваліфікацій фахівців медиків (магістрів, аспірантів, докторантів, працівників, викладачів) за пріоритетними напрямками медичних наук і технологій, що базуються на новітніх наукових знаннях, а також підвищення науково-методичного рівня і ефективності наукових досліджень.

1.3.Спільне забезпечення обміну науково-технічної інформації, проведення науково-організаційних заходів, спрямованих на висвітлення наукових здобутків в галузі онкології.

2. Принципи співробітництва

2.1. Сторони разом беруть на себе зобов`язання співробітництва у напрямках, визначених в п.1 даної угоди.

2.2. Сторони діють у рамках чинного законодавства України.

2.3. Сторони беруть на себе зобов`язання щодо дотримання конфіденціальності стосовно результатів дослідження, інформації, документів, знань досвіду тощо, отриманих одна від одної, які стали відомі в ході виконання спільних робіт, якщо встановлено, що вони носять конфіденційний характер.

2.4. Сторони на взаємовигідних засадах використовують можливості, наукову та матеріально технічну базу при виконанні спільних завдань у

межах своєї компетенції, обмінюються інформацією з питань співробітництва.

2.5. Усі питання, проблеми і розбіжності, які можуть виникнути у процесі співробітництва Сторони зобов`язуються вирішувати шляхом взаємних конструктивних переговорів, з врахуванням інтересів обох Сторін.

3. Основні напрямки співробітництва

3.1. З метою реалізації досягнутих домовленостей Сторони в межах своєї компетенції визначали наступні напрямки співробітництва:

3.1.1. Координація напрямків фундаментальних та прикладних наукових досліджень в області хірургії, онкології, фізики, хімії, цитології, гістології тощо;

3.1.2. Підготовка, рецензування і публікація статей, монографій, методичних рекомендацій тощо за вищезазначеними напрямками досліджень;

3.1.3. Взаємне сприяння в питаннях підготовки дисертаційних робіт із залученням професорсько-викладацького складу НМУ та науково-кадрового потенціалу ІЕПОР.

3.1.4.Організація та проведення наукових з'їздів, конференцій, симпозіумів, семінарів, круглих столів, освітньо-наукових шкіл з актуальних питань сучасної онкологічної науки і медицини.

3.1.5. Проведення спільних науково-дослідних робіт, консультаційна та практична взаємодія при проведенні окремих досліджень, якщо ці роботи не вимагають складання додаткового договору.

3.1.6. Надання співробітникам доступу до бібліотечних та інформаційно-довідкових фондів.

3.1.7. Спільне подання запитів на отримання міжнародних грантів.

4. Зобов`язання сторін.

4.1. Здійснювати консультаційний супровід з підбору адекватних клітинних моделей та ліній піддослідних тварин за предметом досліджень.

4.2. Надавати експериментальну базу для розробки методів діагностики та лікування хворих у порядку, встановленому чинним законодавством України.

4.3. Приймати участь в підготовці протоколів експериментального дослідження, інструкцій з апробації методів, що спільно розробляються.

4.4. Проводити клінічне вивчення та впровадження в практику розроблених в експерименті алгоритмів діагностики і терапії з метою поліпшення результатів хірургічного лікування онкологічних хворих.

4.5. Вважати результати досліджень, проведених співробітниками ІЕПОР та НМУ спільною інтелектуальною власністю. Їх публікація та оформлення патентів на винахід проводиться спільно та погоджується з проректором з наукової роботи НМУ.

5. Фінансові відношення

5.1. За цією Угодою сторони не несуть будь-яких фінансових зобов'язань.
5.2. Розрахунки по матеріальних затратах, які понесуть сторони при виконанні спільних досліджень в рамках цієї Угоди, будуть проводитись за рахунок позабюджетних коштів в рамках цільових програм, різних грантів і визначатимуться додатковими договорами.

6. Інші умови

6.1. Зміни та доповнення до цієї Угоди можуть бути внесені лише за взаємною згодою Сторін та вважаються дійсними за умов, якщо вони оформлені в письмовій формі, скріплені підписами уповноважених представників Сторін та становлять невід`ємну частину Угоди.
6.2. Всі суперечки, які виникли між Сторонами в рамки Угоди, вирішуються у порядку, встановленому чинним законодавством України.
6.3. Угода складена у двох примірниках українською мовою, які мають однакову юридичну силу, і зберігаються по одному у кожній із Сторін.

7. Строки дії угоди та умови дострокового її розірвання

7.1. Угода набуває чинності з моменту її підписання уповноваженими представниками обох Сторін і діє до 2020 року. Угода вважається автоматично продовженою на наступний п'ятирічний термін, якщо жодна із сторін не висловлює в письмовій формі свою незгоду з Угодою.

8. Юридичні адреси сторін

Директор Інституту експериментальної патології,онкології і радіобіології імені Р. Є. Кавецького НАН України	Ректор Національного медичного університету імені О. О. Богомольця
03022, Київ-22, вул. Васильківська, 45, Україна	02004, Київ МСП, бульвар Тараса Шевченка, 13, Україна
академік НАН України, доктор медичних наук, професор	член-кореспондент НАМН України, доктор медичних наук, професор
_____ В.Ф.Чехун	_____ К.М.Амосова

ДОДАТКОВА УГОДА
До угоди про науково-практичне співробітництво від 23.06.2016р.

м.Київ «__»_____ 2023 р.

Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології імені Р. Є. Кавецького НАН України (ІЕПОР) в особі директора доктора біологічних наук, професора, Бучинської Любові Георгіївни (Сторона 1) та Національний медичний університет імені О.О. Богомольця (НМУ) в особі проректора з наукової роботи та інновацій д.мед.н., професора Земскова С.В. (Сторона 2) керуючись своїми Статутами уклали цю додаткову угоду до угоди про наукове співробітництво від 23.06.2016 (далі – Додаткову угоду) про наступне:

Сторони дійшли згоди внести зміни до Угоди про науково-практичне співробітництво від 23.06.2016р., а саме:

1. Внести зміни до преамбули угоди та викласти її в наступній редакції:
«Інститут експериментальної патології, онкології і радіобіології імені Р. Є. Кавецького НАН України (ІЕПОР) в особі директора доктора біологічних наук, професора, Бучинської Любові Георгіївни (Сторона 1) та Національний медичний університет імені О.О. Богомольця (НМУ) в особі проректора з наукової роботи та інновацій д.мед.н., професора Земскова С.В. (Сторона 2) керуючись своїми Статутами уклали цю додаткову угоду до угоди про наукове співробітництво».

2. Внести зміни до п.п. 1.1. п.1 Угоди та викласти його в наступній редакції:
«1.1. Предметом угоди є взаємовигідне використання наукового і практичного потенціалів Сторін з метою проведення науково-дослідних робіт, спрямованих на вивчення особливостей впливу різних фізичних та хімічних агентів на моделі злоякісних пухлин in vivo, експериментальну розробку та вдосконалення сучасних методів терапії хворих на злоякісні новоутворення, підготовки та впровадження їх в клінічну практику; особливостей вивчення ефективності та безпеки лікарських засобів (ЛЗ), активних фармацевтичних інгредієнтів, фармакологічно активних речовин та розробки нових ЛЗ, публікацію результатів спільних наукових досліджень».

3. Внести зміни до п.п. 1.3. п.1 Угоди та викласти його в наступній редакції:
«1.3. Спільне забезпечення обміну науково-технічної інформації, проведення науково-організаційних заходів, спрямованих на висвітлення наукових здобутків в галузі онкології та фармакології».

4. Додати п.п. 1.4. п.1 Угоди та викласти його в наступній редакції:
«Відповідальним виконавцем науково-дослідної роботи за предметом угоди з боку кафедри фармакології Національного медичного університету імені О.О. Богомольця виступає – завідувач кафедри фармакології Національного медичного університету імені О.О. Богомольця – доктор медичних наук, професор Зайченко Г.В.

Відповідальним виконавцем науково-дослідної роботи за предметом угоди з боку Інституту експериментальної патології, онкології і радіобіології імені Р. Є. Кавецького НАН України виступає – науковий керівник Банку клітинних ліній з тканин людини та тварин, к.б.н. Лихова О.О.».

5. Внести зміни до п.3.1.1 Угоди та викласти його в наступній редакції:
«3.1.1. Координація напрямків фундаментальних та прикладних наукових досліджень в

області хірургії, онкології, фізики, хімії, цитології, гістології, тощо; фармакології та токсикології лікарських засобів тощо;».

6. Всі інші пункти угоди залишаються незмінними.

7. Додаткова угода складена у двох примірниках, що мають однакову юридичну силу, та є невід'ємною частиною Угоди

Юридичні адреси сторін

Директор Інституту експериментальної патології,онкології і радіобіології імені Р. Є. Кавецького НАН України

03022, Київ-22, вул. Васильківська, 45, Україна

доктор біологічних наук, професор

_____ Л.Г. Бучинська

Проректор з наукової роботи та інновацій Національного медичного університету імені О. О. Богомольця

02004, Київ МСП, бульвар Тараса Шевченка, 13, Україна

доктор медичних наук, професор

_____ С.В. Земсков

Завідувач кафедри фармакології Національного медичного університету імені О. О. Богомольця, д.мед.н., професор

_____ Г.В. Зайченко

«__»_____ 2023 р.

Додаток Г

СПИСОК ОСНОВНИХ ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Маслій, Ю. С., Рубан, О. А., Зайченко, Г. В., & Грудницька, О. О. (2020). Патент на винахід № 122021. Фармацевтична композиція багатоспрямованої дії у формі стоматологічного гелю. Опубліковано 25 серпня 2020 р., Бюл. № 12. *(Автором зібрано матеріал, проаналізовано літературні джерела, статистично оброблено отримані результати, спільно зі співавторами сформульовано висновки).*

2. Maslii, Y. S., Hrudnytska, O. O., Ruban, O. A., & Zaychenko, G. V. (2019). Justification of local anesthetic and choice of its concentration in composition of dental gel. Farm Zhurnal, (3), 49–55. https://doi.org/10.32352/0367-3057.3.19.06 *(Автором зібрано матеріал, проаналізовано літературні джерела, статистично оброблено отримані результати, спільно зі співавторами сформульовано висновки)*

3. Hrudnytska, O. O., Maslii, Y. S., Ruban, O. A., & Zaychenko, G. V. (2020). Pharmacological studies of the dental gel of combined composition. Achievements of Clinical and Experimental Medicine, 3(43), 13–19. https://doi.org/10.11603/1811-2471.2020.v.i3.11577 *(Автором зібрано матеріал, запропоновано дизайн дослідження, статистично оброблено отримані результати, спільно зі співавторами сформульовано висновки)*

4. Hrudnytska, O., Zaychenko, G., Malanchuk, V., Apykhtina, O., Maslii, Y., & Ruban, O. (2024). Evaluation of the effectiveness and safety of a new dental gel in experimental in vitro model systems. Prosthodontics, 74 (2), 116–128. https://doi.org/10.5114/ps/189407 *(Автором зібрано матеріал, проаналізовано літературні джерела, статистично оброблено отримані результати, спільно зі співавторами сформульовано висновки)*

НАУКОВІ ПРАЦІ, ЯКІ ЗАСВІДЧУЮТЬ АПРОБАЦІЮ МАТЕРІАЛІВ ДИСЕРТАЦІЇ

5. Грудницька, О. О., Маслій, Ю. С., Зайченко, Г. В., & Рубан, О. А. (2019). Дослідження протизапальної активності нового стоматологічного гелю комбінованого складу. *Тези доповідей II науково-практичної інтернет-конференції з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція»,* 21 листопада 2019 р., м. Харків, НФаУ. С. 126.

6. Грудницька, О. О., Маслій, Ю. С., Зайченко, Г. В., & Рубан, О. А. (2019). Дослідження репаративної активності нового стоматологічного гелю комбінованого складу. *Матеріали науково-практичної інтернет-конференції* «*Актуальні питання клінічної фармакології та фармації»,* 22–23 жовтня 2019 р., м. Харків, НФаУ. С. 293.

7. Грудницька, О. О., & Маланчук, В. О. (2023). Обґрунтування використання нового стоматологічного гелю комбінованого складу. *Збірник тез VIII З'їзду Української Асоціації черепно-щелепно-лицевих хірургів,* 12 травня 2023 р., м. Київ.

СПИСОК ДОДАТКОВИХ ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

8. Маслій, Ю. С., Рубан, О. А., Грудницька, О. О., & Зайченко, Г. В. (2019). Патент на корисну модель № 135187. Фармацевтична композиція багатоспрямованої дії у формі стоматологічного гелю. Опубліковано 25 червня 2019 р., Бюл. № 12. *(Автором зібрано матеріал, проаналізовано літературні джерела, статистично оброблено отримані результати, спільно зі співавторами сформульовано висновки)*

Відомості про апробацію результатів дисертації

1) ІІ науково-практична інтернет-конференція з міжнародною участю «Механізми розвитку патологічних процесів і хвороб та їхня фармакологічна корекція», (21 листопада 2019 р., м. Харків); Форма участі – дистанційно;

2) Науково-практична інтернет-конференція «Актуальні питання клінічної фармакології та фармації», (22–23 жовтня 2019 р., м. Харків); Форма участі – дистанційно.

3) VIII З'їзд Української Асоціації черепно-щелепно-лицевих хірургів, (12 травня 2023 р., м. Київ); Форма участі – дистанційно.