

I. В. ЛИТВИНЧУК ¹ (<https://orcid.org/0000-0002-8523-5436>),

Н. С. ФІЗОР ¹ (<https://orcid.org/0000-0003-2204-9879>), канд. фарм. наук, доцент,

I. В. УЛІЗКО ¹ (<https://orcid.org/0000-0002-3029-9387>),

Л. М. ХРОМАГІНА ² (<https://orcid.org/0000-0002-8340-7329>) канд. біол. наук,

В. О. ГЕЛЬМБОЛЬДТ ¹ (<https://orcid.org/0000-0001-8492-964X>), д-р хім. наук, проф.

¹ *Одеський національний медичний університет*

² *ДУ «Інститут стоматології та щелепно-лицевої хірургії НАМН України», Одеса*

СИНТЕЗ, ФІЗИКО-ХІМІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ТА БІОЛОГІЧНА АКТИВНІСТЬ 3-(АМІНОФЕНІЛ)ПРОПІОНОВИХ ТА 2-АМІНО-2-ФЕНІЛМАСЛЯНОЇ КИСЛОТ ГЕКСАФТОРОСИЛКАТІВ

Ключові слова: антикарієсні агенти, гексафторосилікати амінокарбонових кислот, синтез, властивості, біологічна активність.

АНОТАЦІЯ

Відомо, що карієс зубів є серйозною проблемою для систем охорони здоров'я більшості країн світу, і пошук нових ефективних та безпечних засобів лікування та профілактики карієсу залишається актуальним завданням сучасної фармацевтики. При цьому фторидні препарати залишаються найбільш ефективними та широко використовуваними в сучасному арсеналі засобів боротьби з карієсом. Останніми роками як потенційні карієспрофілактичні агенти активно вивчають амонієві гексафторосилікати завдяки деяким перевагам порівняно з традиційними засобами фторидної терапії карієсу

Метою роботи, яка продовжує розпочаті раніше дослідження амонієвих гексафторосилікатів із катіонами ароматичних амінокислот, є синтез, встановлення фізико-хімічних властивостей та біологічної активності 3-(3-амінофеніл)пропіонової, 3-(4-амінофеніл)пропіонової, 2-аміно-2-фенілмасляної кислот гексафторосилікатів як потенційних карієспрофілактичних агентів.

3-(3-Амінофеніл)пропіонової, 3-(4-амінофеніл)пропіонової, 2-аміно-2-фенілмасляної кислот гексафторосилікати (I–III відповідно) було синтезовано з виходами, близькими до кількісних, шляхом взаємодії метанольних розчинів відповідних амінокислот із надлишком 45%-ї кремнійфтороводневої кислоти. Ізольовані комплекси було ідентифіковано з використанням методів елементного аналізу, ІЧ-, ЯМР ¹⁹F-, мас-спектроскопії. Встановлено розчинність I–III у воді, яка становить 0,11–0,32 мол. %.

Досліджувані сполуки I–III і референс-препарати – NaF та (NH₄)₂SiF₆ – вводили до складу гелів на основі Na-солі карбоксиметилцелюлози, які наносили на зуби та ясна шурів. В експерименті на моделі експериментального карієсу встановлено, що карієспрофілактична ефективність (КПЕ) NaF, (NH₄)₂SiF₆, I–III становить 30,3%, 44,7%, 23,7%, 38,5%, 26,3% відповідно, тобто лише КПЕ сполуки II перевищує відповідний показник для референс-препарату NaF у 1,27 раза, тоді як значення КПЕ сполук I і III поступаються обом референс-препаратам. Всі вивчені фторидні препарати ефективно нормалізують біохімічні показники пульпи зубів та слизової оболонки порожнини рота шурів (активності фосфатаз, еластази, уреазі і лізоциму, рівень малонового діальдегіду), які знаходилися на карієсогенній дієті, причому гексафторосилікати в деяких випадках виявляються більш ефективними порівняно з NaF.

I. V. LYTVYNCHUK ¹ (<https://orcid.org/0000-0002-8523-5436>),
N. S. FIZOR ¹ (<https://orcid.org/0000-0003-2204-9879>),
I. V. ULIZKO ¹ (<https://orcid.org/0000-0002-3029-9387>),
L.M. KHROMAGINA ² (<https://orcid.org/0000-0002-8340-7329>),
V. O. GELMBOLDT ¹ (<https://orcid.org/0000-0001-8492-964X>)

¹ Odesa National Medical University

² Institute of Stomatology and Maxillo-Facial Surgery National Academy of Medical Science of Ukraine, Odesa

SYNTHESIS, PHYSICO-CHEMICAL PROPERTIES AND BIOLOGICAL ACTIVITY OF 3-(AMINOPHENYL)PROPIONIC AND 2-AMINO-2-PHENYL BUTYRIC ACID HEXAFLUOSILICATES

Key words: anti-caries agents, hexafluorosilicates of amino carboxylic acids, synthesis, properties, biological activity

ABSTRACT

It is known that dental caries is a serious problem for the health care systems of most countries of the world, and the search for new effective and safe means of treatment and prevention of caries remains an urgent task of modern pharmaceutical science. At the same time, fluoride preparations remain the most effective and widely used in the modern arsenal of means for fighting caries. In recent years, ammonium hexafluorosilicates have been actively studied as potential caries preventive agents due to some advantages compared to traditional means of fluoride caries therapy.

The aim of the work, which continues the earlier research of ammonium hexafluorosilicates with aromatic amino acid cations, is the synthesis, establishment of physicochemical properties and biological activity of 3-(3-aminophenyl)propionic, 3-(4-aminophenyl)propionic, 2-amino-2-phenylbutyric acid hexafluorosilicates as potential caries preventive agents.

3-(3-Aminophenyl)propionic, 3-(4-aminophenyl)propionic, 2-amino-2-phenylbutyric acid hexafluorosilicates (**I–III**, respectively) were synthesized in near-quantitative yields by reacting methanolic solutions of the corresponding amino acids with excess 45% silicon hydrofluoric acid. The isolated complexes were identified using the methods of elemental analysis, IR, NMR, ¹⁹F and mass spectroscopy. The solubility of **I–III** in water was established, which is 0.11–0.32 mol. %.

The researched compounds **I–III** and reference drugs – NaF and (NH₄)₂SiF₆ – were introduced into gels based on the Na-salt of carboxymethylcellulose, which were applied to the teeth and gums of rats. In an experiment on an experimental caries model, it was established that the caries preventive efficiency (CPE) of NaF, (NH₄)₂SiF₆, **I–III** is 30.3%, 44.7%, 23.7%, 38.5%, 26.3%, respectively, that is, only the CPE of compound **II** exceeds the corresponding indicator for the reference preparation NaF by 1.27 times, while the CPE values of compounds **I** and **III** are inferior to both reference preparations. All studied fluoride preparations effectively normalize the biochemical indicators of dental pulp and homogenate of the oral mucosa of rats (phosphatase, elastase, urease and lysozyme activities, malondialdehyde level) that were on a cariogenic diet, and hexafluorosilicates in some cases are more effective compared to NaF.

Вступ

Амонієві гексафторосилікати (АГФС) є популярним у технологічній практиці та лабораторних дослідженнях класом неорганічних сполук [1, 2]. Останніми роками АГФС активно вивчають як потенційні карієспрофілактичні агенти [1, 3]: вони мають деякі переваги порівняно з традиційними засобами фторидної терапії карієсу, зокрема завдяки можливості використання фармакологічних ефектів амонієвих катіонів для посилення антикарієсної дії фторовмісного аніона. На-

гадаємо, що карієс зубів є серйозною проблемою для систем охорони здоров'я більшості країн світу [4, 5], і пошук нових ефективних та безпечних засобів лікування та профілактики карієсу є актуальним завданням сучасної фармацевтики. При цьому фторидні препарати залишаються найбільш затребуваними в сучасному арсеналі засобів боротьби з карієсом [6].

Раніше було опубліковано результати синтезу та дослідження АГФС із катіонами – протонованими формами амінокислот гетероциклічного ряду [1], які продемонстрували приклади високої карієспрофілактичної ефективності сполук, що перевищують аналогічні показники референс-препаратів.

Метою цієї роботи, яка продовжує розпочаті раніше дослідження АГФС із катіонами ароматичних амінокислот [7], є синтез, встановлення фізико-хімічних властивостей та біологічної активності 3-(3-) і 3-(4-амінофеніл)пропіонових та 2-аміно-2-фенілмасляної кислот гексафторосилікатів як потенційних карієспрофілактичних агентів.

Матеріали та методи дослідження

У роботі використовували 3-(3-амінофеніл)пропіонову, 3-(4-амінофеніл)пропіонову (Sigma Aldrich, 97%) та 2-аміно-2-фенілмасляну кислоту (Sigma Aldrich, 96%), кремнійфтороводневу кислоту (КФК, 45%, «ч.д.а.», Реахім).

Вміст азоту в продуктах синтезу визначали за методом К'ельдаля [8], кремнію – фотоколориметричним методом [9] шляхом фотометрування жовтого кремнемолібденового комплексу (довжина хвилі 380 нм) із використанням спектрофотометра КФК-3.

Мас-спектри з електронною іонізацією (ЕІ) реєстрували на спектрометрі МХ-1321 (РФ, пряме введення зразка в джерело, енергія іонізуючих електронів 70 еВ).

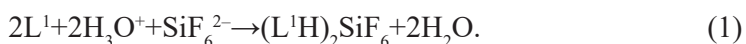
Інфрачервоні (ІЧ) спектри поглинання реєстрували на спектрофотометрі Spectrum BX II FT-IR System (Perkin-Elmer, США), область 4 000–350 см⁻¹, зразки – у вигляді таблеток із калію бромідом).

Спектри ядерного магнітного резонансу (ЯМР) ¹⁹F записували на спектрометрі Varian Mercury Plus (США, 188,14 МГц, розчинники – D₂O, диметилсульфоксид (ДМСО)-d₆, внутрішній стандарт – C₆F₆).

Визначення розчинності у воді здійснювали згідно з вимогами ДФУ [10].

Синтез 3-(3-амінофеніл)пропіонової кислоти гексафторосилікату (I).

3-(3-Амінофеніл)пропіонову кислоту (L¹, 0,144 г, ~ 0,0009 моль) розчиняли в гарячому метанолі (30 мл) і до отриманого розчину додавали розчин 45%-ї КФК (1,0 мл, 0,0054 моль, мольне співвідношення L²:КФК = 1:6). Реакційну суміш залишали під тягою для мимовільного випару розчинників за кімнатної температури. Виділено 0,198 г світло-коричневого продукту, вихід 95,9%:



Склад комплексу **I** встановлено за даними елементного аналізу.

Знайдено, %: N – 6,08; Si – 6,05. Розраховано для $(C_9H_{12}NO_2)_2SiF_6$, %: N – 5,90; Si – 5,92.

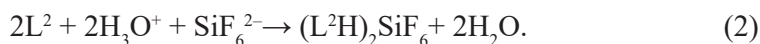
Мас-спектр EI **I**: $[ML^1]^+$ ($m/z = 165$, $I = 64\%$), $[ML^1-CO_2-H]^+$ ($m/z = 120$, $I = 100\%$), $[ML^1-59]^+$ ($m/z = 106$, $I = 45\%$), $[C_6H_5]^+$ ($m/z = 77$, $I = 13\%$), $[SiF_3]^+$ ($m/z = 85$, $I = 27\%$).

ІЧ-спектр **I**, ν , cm^{-1} : 3034, 3014, 2964, 2919 [$\nu(NH_3^+)$, $\nu(CH)$], 1695 [$\nu(CO)$], 1625, 1602 [$\delta(NH_3^+)$], 1283 [$\nu(CN)$], 745 [$\nu(SiF)$, $\rho(CH_2)$, $\delta(CCH)$], 483, 438, 422 [$\delta(SiF_2)$].

Спектр ^{19}F ЯМР **I**, δ , м. ч.: –129,81 [с, 6F, $J(SiF) = 107,29$ Гц] (D_2O); –138,03 [с, 6F] (ДМСО).

Синтез 3-(4-амінофеніл)пропіонової кислоти гексафторосилікату (II).

3-(4-Амінофеніл)пропіонову кислоту (L^2 , 1,056 г, ~ 0,0064 моль) розчиняли в гарячому метанолі (50 мл) і до отриманого розчину додавали розчин 45%-ї КФК (4,0 мл, 0,022 моль, мольне співвідношення $L^2:КФК \approx 1:3,44$). Реакційну суміш залишали під тягою для мимовільного випару розчинників за кімнатної температури. Виділено 1,463 г світло-коричневого продукту, вихід 96,5%:



Склад комплексу **II** встановлено за даними елементного аналізу.

Знайдено, %: N – 5,81; Si – 6,02. Розраховано для $(C_9H_{12}NO_2)_2SiF_6$, %: N – 5,90; Si – 5,92.

Мас-спектр EI **II**: $[ML^2]^+$ ($m/z = 165$, $I = 25\%$), $[ML^2-59]^+$ ($m/z = 106$, $I = 100\%$), $[C_6H_5]^+$ ($m/z = 77$, $I = 7\%$), $[SiF_3]^+$ ($m/z = 85$, $I = 16\%$).

ІЧ-спектр **II**, ν , cm^{-1} : 3386, 3051, 3022, 2960 [$\nu(NH_3^+)$, $\nu(CH)$], 1716, 1697 [$\nu(CO)$], 1639, 1612 [$\delta(NH_3^+)$], 1277 [$\nu(CN)$], 743 [$\nu(SiF)$, $\rho(CH_2)$, $\delta(CCH)$], 483, 418 [$\delta(SiF_2)$].

Спектр ^{19}F ЯМР **II**, δ , м. ч.: –129,77 [с, 6F, $J(SiF) = 107,29$ Гц] (D_2O); –138,81 [с, 6F] (ДМСО).

Синтез 2-аміно-2-фенілмасляної кислоти гексафторосилікату (III).

2-Аміно-2-фенілмасляну кислоту (L^3 , 1,074 г, ~0,006 моль) розчиняли у гарячому метанолі (50 мл) та до отриманого розчину додавали розчин 45%-ї КФК (4 мл, 0,022 моль, мольне співвідношення $L^3:КФК \approx 1:3,67$). Реакційну суміш залишали під тягою для мимовільного випару розчинників за кімнатної температури. Виділено 1,468 г світло-коричневого продукту, вихід 97,5%:



Склад комплексу **III** встановлено за даними елементного аналізу.

Знайдено, %: N – 5,68; Si – 5,85. Розраховано для $(C_{10}H_{14}NO_2)_2SiF_6$, %: N – 5,57; Si – 5,59.

Мас-спектр EI III: $[ML^3-CO_2-H]^+$ ($m/z = 134$, $I = 100\%$), $[C_6H_5]^+$ ($m/z = 77$, $I = 18\%$), $[SiF_3]^+$ ($m/z = 85$, $I = 3\%$).

ІЧ-спектр III, ν , cm^{-1} : 2960, 2842, 2649 [$\nu(NH_3^+)$], 1716, 1699 [$\nu(CO)$], 1638, 1613 [$\delta(NH_3^+)$], 744 [$\nu(SiF)$, $\rho(CH_2)$, $\delta(CCH)$], 483, 414 [$\delta(SiF_2)$].

Спектр ЯМР ^{19}F III, δ , м. ч.: $-129,77$ [с, 6F, $J(SiF) = 107,29$ Гц] (D_2O); $-139,03$ [с, 6F] (ДМСО).

Солі I–III та референс-препарати – натрію фторид NaF і амонію гексафторосилікат $(NH_4)_2SiF_6$ – використовували у складі фітогелів на основі гелю карбоксиметилцелюлози (натрієва сіль). Концентрація препаратів в гелі відповідала дозі фтору 1,00 мг/кг.

Дослідження на тваринах здійснювали з дотриманням положень «Європейської конвенції про захист хребетних тварин, яких використовують для експериментальних та інших наукових цілей» (Страсбург, 1986) та Закону України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (Україна, 2006).

Дослідження було виконано на 70 білих щурах лінії Вістар (самці, 1 місяць, середня жива маса 50 г), розподілених на 7 рівних груп. Щури 2–7 груп отримували карієсогенний раціон (КГР) (сухарі – 18,5%, цукор – 57%, сир – 18,5%, олія – 5%, сіль – 1%, Ундевіт – 5 драже на 1 кг корму) [11]. Усім щурам груп 2–7 упродовж 35 діб (за винятком неділь) наносили на зуби та ясна фітогелі в дозі 0,15 мл на щура. Після аплікації щурів не годували і не поїли упродовж 1 год.

Евтаназію тварин здійснювали на 36-й день експерименту під тіопенталовим наркозом (20 мг/кг) шляхом тотального кровопускання з серця. Витягували з різців пульпу, в гомогенаті якої визначали активність лужної і кислої фосфатаз (ЛФ, КФ) [12].

За співвідношенням ЛФ/КФ розраховували мінералізуючий індекс (МІ) [13]. Відділяли щелепи і підраховували число і глибину каріозних уражень зубів [14]. Карієспрофілактичну ефективність (КПЕ) розраховували за формулою:

$$КПЕ = [A - B/A] \cdot 100\%,$$

де А – кількість каріозних уражень у щурів, які отримували КГР;

Б – кількість каріозних уражень у щурів, які отримували КГР + фторпрепарат.

Готували гомогенат альвеолярної кістки, у гомогенаті визначали концентрацію іонів кальцію [12]. У гомогенаті слизової оболонки порожнини рота визначали рівень малонового діальдегіду (МДА), активність еластази, уреазу і лізоциму [12].

Результати досліджень піддавали стандартному статистичному обробленню, розраховували середнє арифметичне (M), помилку середнього арифметичного ($\pm m$). Порівняння показників у групах робили за t -критерієм Стьюдента. За достовірні відмінності брали дані з $p < 0,05$.

Результати дослідження та обговорення

Дані ІЧ-спектроскопії узгоджуються з іонною будовою комплексів I–III. Геометрія аніонів SiF_6^{2-} у складі солей – перевернута октаедрична, на що вказує помітне розширення синглетної смуги валентних коливань $\nu(\text{SiF})$ (F_{1u}) у спектрах I–III близько 745 см^{-1} та розщеплення смуг деформаційних коливань $\delta(\text{SiF}_2)$ (F_{1u}) в області $480\text{--}400 \text{ см}^{-1}$ на три або два компоненти [1]. Широка асиметрична смуга коливань $\nu(\text{SiF})$ може включати також деформаційні коливання катіонів $\rho(\text{CH}_2)$, $\delta(\text{CCH})$ [15]. Коливання катіонів $\nu(\text{N}^+\text{H}_3)$ і $\delta(\text{NH}_3^+)$ виявляються в областях з $400\text{--}2950 \text{ см}^{-1}$ і $1650\text{--}1600 \text{ см}^{-1}$ відповідно; в області прояву коливань $\nu(\text{N}^+\text{H}_3)$ можуть реєструватися також малоінтенсивні смуги валентних коливань $\nu(\text{CH})$ фенільних фрагментів [15].

Спектри ЯМР ^{19}F насичених водних розчинів I–III є типовими для гексафторосилікатів: у спектрах фіксуються синглетні сигнали з характеристичними для аніонів SiF_6^{2-} значеннями хімічного зсуву $\delta(^{19}\text{F}) \approx -130$ м. ч. і констант ССВ $J(\text{Si}^{29}\text{--}^{19}\text{F}) = 107,29$ Гц [1]. Як і у разі спектрів 2-, 3-, 4-амінофенілоцтових кислот гексафторосилікатів [16], перехід від водних розчинів I–III до розчинів у ДМСО супроводжується зсувом сигналів ЯМР ^{19}F у область значень $\delta(^{19}\text{F})$ близько -138 м. ч., що може бути пов'язано з впливом ефектів сольватації і Н-зв'язування.

Результати визначення розчинності у воді (РВ) солей I–III і споріднених 2-, 3-, 4-амінофенілоцтових кислот гексафторосилікатів подано у табл. 1. Як свідчать дані табл. 1, значення РВ (С, мол. %) гексафторосилікатів I–III очікувано близькі до опублікованих у роботі [16] величин розчинності аналогічних за будовою солей 2-, 3-, 4-амінофенілоцтових кислот та укладаються в інтервал значень РВ АГФС із катіонами феніламонію, що містять у своєму складі групи з сильними Н-донорними властивостями [1].

Таблиця 1

Розчинність феніламонію та піридинію гексафторосилікатів у воді

Комплекс	Розчинність у воді, С, мол. %	Література
$[\text{3-HO(O)C(CH}_2)_2\text{C}_6\text{H}_4\text{NH}_3]_2\text{SiF}_6$ (I)	0,32	Ця робота
$[\text{4-HO(O)C(CH}_2)_2\text{C}_6\text{H}_4\text{NH}_3]_2\text{SiF}_6$ (II)	0,11	Ця робота
$[\text{C}_6\text{H}_5\text{C(C}_2\text{H}_5)(\text{NH}_3)\text{COOH}]_2\text{SiF}_6$ (III)	0,19	Ця робота
$[\text{2-HO(O)CCH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{NH}_3]_2\text{SiF}_6$	0,01	[16]
$[\text{3-HO(O)CCH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{NH}_3]_2\text{SiF}_6$	0,47	[16]
$[\text{4-HO(O)CCH}_2\text{C}_6\text{H}_4\text{NH}_3]_2\text{SiF}_6$	0,10	[16]

У табл. 2 наведено результати визначення впливу фторпрепаратів на ураженість карієсом зубів щурів та концентрацію кальцію в альвеолярній кістці щурів, які отримували КГР.

Судячи з даних табл. 2, карієсогенна дієта очікувано призводить до зростання кількості та глибини каріозних уражень зубів. Аплікації гелів із фторидними препаратами супроводжуються протикаріозним ефектом: КПЕ сполук I–III знаходиться в межах 23,7–38,5%, тобто лише КПЕ сполуки II (38,5%) перевищує відповідний показник для референс-препарату NaF у 1,27 раза, тоді як значення КПЕ сполук I і III поступаються обом референс-препаратам (рисунок).

Аплікації гелів із фторидними препаратами супроводжується суттєвими змінами концентрації кальцію в альвеолярній кістці (табл. 2): карієсогенна дієта спричиняє достовірне зниження концентрації кальцію, а дія фторвмісних гелів призводить до підвищення цього показника практично до рівня інтактної групи.

Т а б л и ц я 2

Вплив фторпохідних на ураженість карієсом зубів щурів та концентрацію кальцію в альвеолярній кістці щурів, які отримували карієсогенний раціон

№ з/п	Група	Кількість каріозних порожнин на 1-го щура	Глибина каріозного ураження в балах	Карієс-профілактична ефективність, %	Концентрація кальцію, ммоль/г
1	Інтактні	4,8 ± 0,4	4,8 ± 0,4	–	2,95 ± 0,21
2	КГР + гель-плацебо	7,6 ± 0,4	8,8 ± 0,4	–	2,42 ± 0,14 <i>p</i> < 0,05
3	КГР + гель-NaF	5,3 ± 0,4	6,8 ± 0,5	30,3 ± 1,7 <i>p</i> ₁ < 0,001	2,86 ± 0,11 <i>p</i> > 0,7 <i>p</i> ₁ < 0,02
4	КГР + гель-(NH ₄) ₂ SiF ₆	5,3 ± 0,4	6,8 ± 0,5	44,7 ± 2,5 <i>p</i> ₁ < 0,002 <i>p</i> ₂ < 0,001	2,82 ± 0,18 <i>p</i> > 0,7 <i>p</i> ₁ > 0,1 <i>p</i> ₂ > 0,8
5	КГР + гель-I	5,8 ± 0,6	6,5 ± 0,6	23,7 ± 1,2 <i>p</i> ₁ < 0,001 <i>p</i> ₂ < 0,02	2,80 ± 0,12 <i>p</i> > 0,5 <i>p</i> ₁ < 0,05 <i>p</i> ₂ > 0,7
6	КГР + гель-II	4,8 ± 0,4	4,8 ± 0,3	38,5 ± 1,4 <i>p</i> ₁ < 0,001 <i>p</i> ₂ < 0,02	2,86 ± 0,20 <i>p</i> > 0,5 <i>p</i> ₁ > 0,1 <i>p</i> ₂ > 0,8
7	КГР + гель-III	5,6 ± 0,4	7,1 ± 0,8	26,3 ± 1,4 <i>p</i> ₁ < 0,001 <i>p</i> ₂ > 0,1	2,64 ± 0,14 <i>p</i> > 0,7 <i>p</i> ₁ > 0,25 <i>p</i> ₂ > 0,25

Примітка: *p* – достовірність відмінностей стосовно групи № 1; *p*₁ – достовірність відмінностей стосовно групи № 2; *p*₂ – достовірність відмінностей стосовно групи № 3.

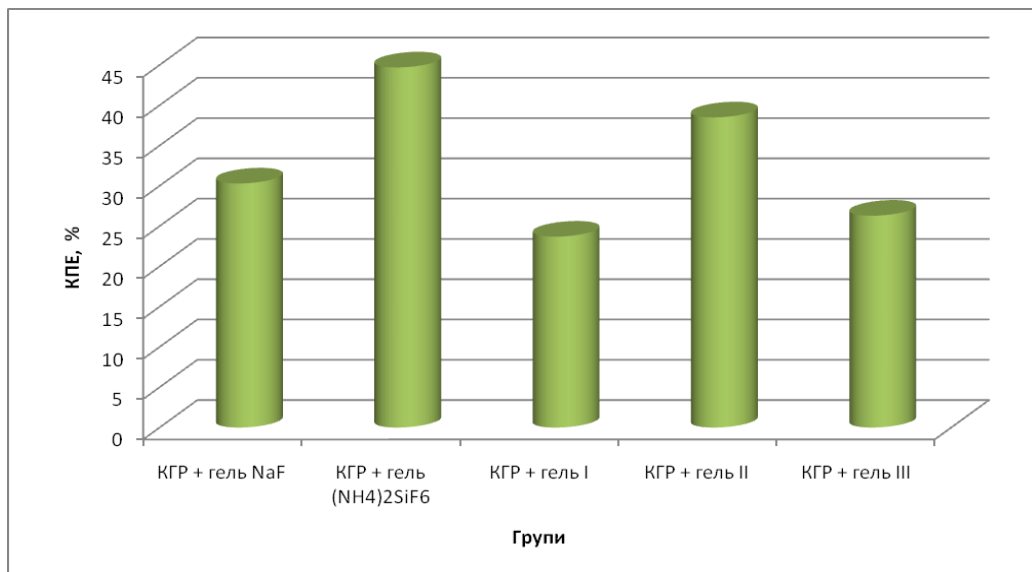


Рис. Вплив фторпохідних на ураженість карієсом зубів щурів, які отримували карієсогенний раціон

У табл. 3 подано результати визначення активності фосфатаз і розрахунків мінералізуючого індексу (МІ).

Таблиця 3

Вплив фторпохідних на активність фосфатаз і мінералізуючий індекс пульпи зубів щурів, які отримували карієсогенний раціон

№ з/п	Групи	Лужна фосфатаза, мк-кат/кг	Кисла фосфатаза, мк-кат/кг	Мінералізуючий індекс
1	2	3	4	5
1	Інтактні	28,41 ± 1,82	3,52 ± 0,14	8,06
2	КГР + гель-плацебо	53,82 ± 2,32 <i>p</i> < 0,001	4,94 ± 0,22 <i>p</i> < 0,001	10,89
3	КГР + гель-NaF	77,45 ± 4,36 <i>p</i> < 0,001 <i>p</i> ₁ < 0,001	4,40 ± 0,20 <i>p</i> < 0,002 0,05 < <i>p</i> ₁ < 0,1	17,59
4	КГР + гель-(NH ₄) ₂ SiF ₆	86,31 ± 5,12 <i>p</i> < 0,001 <i>p</i> ₁ < 0,002 <i>p</i> ₂ > 0,2	4,20 ± 0,21 <i>p</i> < 0,01 <i>p</i> ₁ < 0,02 <i>p</i> ₂ > 0,5	20,54

1	2	3	4	5
5	КГР + гель-I	80,20 ± 3,52 $p < 0,001$ $p_1 < 0,002$ $p_2 > 0,2$	5,30 ± 0,23 $p < 0,001$ $p_1 > 0,5$ $p_2 < 0,02$	15,13
6	КГР + гель-II	78,73 ± 4,81 $p < 0,001$ $p_1 < 0,002$ $p_2 > 0,2$	4,98 ± 0,21 $p < 0,001$ $p_1 > 0,8$ $p_2 < 0,05$	15,43
7	КГР + гель-III	81,42 ± 4,32 $p < 0,001$ $p_1 < 0,002$ $p_2 > 0,2$	5,04 ± 0,26 $p < 0,001$ $p_1 > 0,5$ $p_2 < 0,05$	16,15

Примітка: p – достовірність відмінностей стосовно групи № 1; p_1 – достовірність відмінностей стосовно групи № 2; p_2 – достовірність відмінностей стосовно групи № 3.

Слід зазначити, що дія КГР супроводжується досить несподіваним зростанням значення МІ від 8,06 до 10,89; аплікації гелів із фторидними препаратами призводять до подальшого збільшення показника МІ, так що він перевищує значення для інтактної групи приблизно в 2 рази.

Результати визначення рівня маркерів запалення у гомогенаті слизової оболонки порожнини рота щурів, які отримували КГР, наведено в табл. 4.

Таблиця 4

Вплив фторпохідних на рівень маркерів запалення у гомогенаті слизової оболонки порожнини рота щурів, які отримували карісогенний раціон

№ з/п	Групи	МДА, ммоль/кг	Еластаза, мк-кат/кг
1	2	3	4
1	Інтактні	0,50 ± 0,04	243,35 ± 13,53
2	КГР + гель-плацебо	0,88 ± 0,06 $p < 0,001$	299,97 ± 16,27 $p < 0,01$
3	КГР + гель-NaF	0,55 ± 0,04 $p > 0,4$ $p_1 < 0,001$	217,21 ± 19,42 $p > 0,3$ $p_1 < 0,002$
4	КГР + гель-(NH ₄) ₂ SiF ₆	0,52 ± 0,04 $p > 0,7$ $p_1 < 0,001$ $p_2 > 0,7$	189,98 ± 12,40 $p < 0,01$ $p_1 < 0,001$ $p_2 > 0,25$

1	2	3	4
5	КГР + гель-I	0,50 ± 0,03 $p > 0,8$ $p_1 < 0,001$ $p_2 > 0,3$	200,04 ± 15,26 $p < 0,05$ $p_1 < 0,001$ $p_2 > 0,5$
6	КГР + гель-II	0,54 ± 0,04 $p > 0,4$ $p_1 < 0,001$ $p_2 > 0,7$	207,94 ± 14,26 $p > 0,1$ $p_1 < 0,001$ $p_2 > 0,7$
7	КГР + гель-III	0,53 ± 0,04 $p > 0,7$ $p_1 < 0,001$ $p_2 > 0,7$	195,23 ± 11,72 $p < 0,002$ $p_1 < 0,001$ $p_2 > 0,4$

Примітка: p – достовірність відмінностей стосовно групи № 1; p_1 – достовірність відмінностей стосовно групи № 2; p_2 – достовірність відмінностей стосовно групи № 3.

Як випливає з даних табл. 4, у щурів, які перебували на карієсогенній дієті, спостерігається значне підвищення рівня МДА (на 76%) та менш помітне підвищення активності еластази (на 23%). Аплікації гелів із фторидними препаратами супроводжуються ефективним зниженням рівня обох маркерів запалення, причому у разі МДА – практично до показника інтактної групи тварин.

У табл. 5 наведено результати встановлення активності уреазы і лізоциму у щурів, які отримували КГР.

Таблиця 5

Вплив фторпохідних на активність уреазы і лізоциму у гомогенаті слизової оболонки порожнини рота щурів, які отримували карієсогенний раціон

№ з/п	Групи	Уреазы, мк-кат/кг	Лізоцим, од/кг
1	2	3	4
1	Інтактні	0,350 ± 0,020	0,101 ± 0,007
2	КГР + гель-плацебо	0,720 ± 0,050 $p < 0,001$	0,062 ± 0,004 $p < 0,001$
3	КГР + гель-NaF	0,458 ± 0,032 $p < 0,001$ $p_1 < 0,02$	0,072 ± 0,005 $p < 0,002$ $p_1 > 0,2$
4	КГР + гель-(NH ₄) ₂ SiF ₆	0,288 ± 0,020 $p < 0,05$ $p_1 < 0,02$ $p_2 < 0,001$	0,092 ± 0,004 $p > 0,25$ $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,002$

1	2	3	4
5	КГР + гель-I	0,411 ± 0,028 $p > 0,1$ $p_1 < 0,001$ $p_2 > 0,25$	0,083 ± 0,004 $p < 0,05$ $p_1 < 0,002$ $p_2 > 0,1$
6	КГР + гель-II	0,336 ± 0,024 $p > 0,6$ $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,02$	0,099 ± 0,005 $p > 0,8$ $p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,001$
7	КГР + гель-III	0,546 ± 0,032 $p < 0,001$ $p_1 < 0,01$ $p_2 > 0,1$	0,082 ± 0,005 $p < 0,05$ $p_1 < 0,002$ $p_2 < 0,02$

Примітка: p – достовірність відмінностей стосовно групи № 1; p_1 – достовірність відмінностей стосовно групи № 2; p_2 – достовірність відмінностей стосовно групи № 3.

Судячи з даних табл. 5, у щурів, які отримували КГР, достовірно зростає активність уреаз, що свідчить про збільшення мікробного обміненія ротової порожнини [17]. Використані нами фторидні препарати знижують активність уреаз; найбільш ефективними виявляються сполуки $(\text{NH}_4)_2\text{SiF}_6$ **I** і **II**. У свою чергу, активність лізоциму (забезпечує антимікробний захист в порожнині рота [17]) суттєво знижується у щурів, які знаходилися на карієсогенній дієті, і збільшується після аплікації гелів із фторидними препаратами, причому більш ефективними також виявляються гексафторосилікати $(\text{NH}_4)_2\text{SiF}_6$ **I–III** порівняно з дією NaF.

Висновки

1. Синтезовано 3-(3)- і 3-(4-амінофеніл)пропіонових та 2-аміно-2-фенілмасляної кислот гексафторосилікати **I–III** із високими виходами шляхом взаємодії метанольних розчинів відповідних амінокислот із надлишком 45%-ї кремнійфтороводневої кислоти. Склад і іонну будову синтезованих гексафторосилікатів було встановлено за даними елементного аналізу, ІЧ-, ЯМР ^{19}F -, мас-спектроскопії.

2. Встановлено розчинність солей **I–III** у воді, яка становить 0,11–0,32 мол. %.

3. За результатами досліджень на щурах, карієспрофілактична ефективність синтезованих гексафторосилікатів амінокарбонових кислот знаходиться в межах 23,7–38,5%. Таким чином, лише КПЕ сполуки **II** (38,5%) перевищує відповідний показник для референс-препарату NaF у 1,27 раза, тоді як значення КПЕ сполук **I** і **III** поступаються обом референс-препаратам – NaF і $(\text{NH}_4)_2\text{SiF}_6$.

4. Всі використані в експерименті у складі оральних гелів фторидні препарати ефективно нормалізують біохімічні показники пульпи зубів та слизової оболонки порожнини рота щурів, які знаходилися на карієсогенній дієті, причому гексафторосилікати в деяких випадках виявляються більш ефективними порівняно з NaF.

Автори щиро вдячні мужнім воїнам Збройних Сил України, завдяки яким стало можливим виконання цих досліджень.

Список використаної літератури

1. *Gelmboldt V. O., Kravtsov V. Ch., Fonari M. S.* Ammonium hexafluoridosilicates: Synthesis, structures, properties, applications // *J. Fluorine Chem.* – 2019. – V. 221, N 5. – P. 91–102. <https://doi.org/10.1016/j.jfluchem.2019.04.005>
2. *Ouasri A., Rhandour A.* Structural, vibrational, thermal, phase transitions, and properties review of alkylammonium, alkylenediammonium, and aminoacid hexafluorosilicate salts // *Russ. J. Coord. Chem.* – 2021. – V. 47. – P. 502–517. <https://doi.org/10.1134/S1070328421070046>
3. *Politz A. R., Scott L., Montz H.* Ammonium hexafluorosilicate: A prospective alternative to silver diamine fluoride / Undergraduate Research Scholars Program. – 2020. – URL: <https://hdl.handle.net/1969.1/189278>
4. *Pitts N. B., Zero D. T., Marsh P. D. et al.* Dental caries // *Nat. Rev. Dis. Primers.* – 2017. – V. 3. – P. 17030.
5. *Peres M. A., Macpherson L. M. D., Weyant R. J. et al.* Oral diseases: a global public health challenge // *Lancet.* – 2019. – V. 394. – P. 249–260.
6. *Duffin S., Duffin M., Grootveld M.* Revisiting fluoride in the twenty-first century: Safety and efficacy considerations // *Front. Oral Health.* – 2022. – V. 3. – P. 873157. <https://doi.org/10.3389/froh.2022.873157>
7. *Гельмбольдт В. О., Литвинчук І. В., Хромагіна Л. М.* Карієспрофілактична ефективність 2-, 3-, 4-амінофенілоцтових кислот гексафторосилікатів // *Фарм. журн.* – 2023. – Т. 78, № 5. – С. 84–94. <https://doi.org/10.32352/0367-3057.5.23.09>
8. *Климова В. А.* Основные микрометоды анализа органических соединений. – М.: Химия, 1975. – 224 с.
9. *Мышляева Л. В., Краснощеков В. В.* Аналитическая химия кремния. – М.: Наука, 1972. – 212 с.
10. Державна фармакопея України / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 1-е вид., 4 допов. – Харків: ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2011. – 540 с.
11. *Ходаков І. В., Хромагіна Л. М., Макаренко О. А., Мудрик Л. М.* Модифікація казеїно-сахарозної дієти М. С. Бугайової та С. А. Нікітіна (1954) для моделювання карієсу зубів у щурів // *Вісник стоматології.* – 2023. – № 1 (122). – С. 71–76. <https://doi.org/10.35220/2078-8916-2023-47-1.12>
12. *Макаренко О. А., Хромагіна Л. М., Ходаков І. В. та ін.* Методи дослідження стану кишечника та кісток у лабораторних щурів. Довідник. – Одеса: Вид. С. Л. Назарчук, 2022. – 81 с.
13. *Левицький А. П., Макаренко О. А., Ходаков І. В., Зеленіна Ю. В.* Ферментативний метод оцінки стану кісткової тканини // *Одеський мед. журн.* – 2006. – № 3. – С. 17–21.
14. *Левицький А. П., Деньга О. В., Иванов В. С. и др.* Экспериментальный каріес зубов / Экспериментальная стоматология. Ч. I. Экспериментальные модели стоматологических заболеваний. – Одеса: КП ОГТ, 2017. – С. 59–67.
15. *Pretsch E., Bühlmann P., Badertscher M.* Structure determination of organic compounds: Tables of spectral data. – Berlin, Heidelberg: Springer, 2009.
16. *Литвинчук І. В., Грицюк А. Г., Гельмбольдт В. О.* Синтез, будова та деякі властивості 2-, 3-, 4-амінофенілоцтових кислот гексафторосилікатів // *Питання хімії та хім. технології.* – 2022. – № 5. – С. 63–68. <https://doi.org/10.32434/0321-4095-2022-144-5-63-68>
17. *Любченко О. В., Северин Л. В.* Біохімічні показники ротової рідини дітей раннього віку зі захворюваннями дихальної системи (ЗДС) // *Sci. J. «ScienceRise: Medical Science».* – 2019. – V. 2, N 29. – P. 41–44. <https://doi.org/10.15587/2519-4798.2019.16185>

References

1. *Gelmboldt V. O., Kravtsov V. Ch., Fonari M. S.* Ammonium hexafluoridosilicates: Synthesis, structures, properties, applications // *J. Fluorine Chem.* – 2019. – V. 221, N 5. – P. 91–102. <https://doi.org/10.1016/j.jfluchem.2019.04.005>
2. *Ouasri A., Rhandour A.* Structural, vibrational, thermal, phase transitions, and properties review of alkylammonium, alkylenediammonium, and aminoacid hexafluorosilicate salts // *Russ. J. Coord. Chem.* – 2021. – V. 47. – P. 502–517. <https://doi.org/10.1134/S1070328421070046>
3. *Politz A. R., Scott L., Montz H.* Ammonium hexafluorosilicate: A prospective alternative to silver diamine fluoride / Undergraduate Research Scholars Program. – 2020. – URL: <https://hdl.handle.net/1969.1/189278>
4. *Pitts N. B., Zero D. T., Marsh P. D. et al.* Dental caries // *Nat. Rev. Dis. Primers.* – 2017. – V. 3. – P. 17030.
5. *Peres M. A., Macpherson L. M. D., Weyant R. J. et al.* Oral diseases: a global public health challenge // *Lancet.* – 2019. – V. 394. – P. 249–260.
6. *Duffin S., Duffin M., Grootveld M.* Revisiting fluoride in the twenty-first century: Safety and efficacy considerations // *Front. Oral Health.* – 2022. – V. 3. – P. 873157. <https://doi.org/10.3389/froh.2022.873157>
7. *Helmboldt V. O., Lytvynchuk I. V., Khromahina L. M.* Kariiesprofilaktychna efektyvnist 2-, 3-, 4-aminofenilotstovykh kyslot heksaftorosylikativ // *Farm. zhurn.* – 2023. – T. 78, № 5. – S. 84–94. <https://doi.org/10.32352/0367-3057.5.23.09>
8. *Klimova V. A.* Osnovnyie mikromietody analiza organichieskikh soedinenii. – M.: Himiia, 1975. – 224 s.
9. *Myshliaieva L. V., Krasnoshiekov V. V.* Analitichieskaia himiia kriemniia. – M.: Nauka, 1972. – 212 s.
10. *Derzhavna farmakopeia Ukrainy / DP «Ukrainskyi naukovyi farmakopeinyi tsentr yakosti likarskykh zasobiv».* 1-e vyd., 4 dopov. – Kharkiv: DP «Ukrainskyi naukovyi farmakopeinyi tsentr yakosti likarskykh zasobiv», 2011. – 540 s.
11. *Khodakov I. V., Khromahina L. M., Makarenko O. A., Mudryk L. M.* Modyfikatsiia kazeino-sakharoznoi diiety M. S. Buhaiovoi ta S. A. Nikitina (1954) dlia modeliuvannia kariiesu zubiv u shchuriv // *Visnyk stomatolohii.* – 2023. – № 1 (122). – S. 71–76. <https://doi.org/10.35220/2078-8916-2023-47-1.12>
12. *Makarenko O. A., Khromahina L. M., Khodakov I. V. ta in.* Metody doslidzhennia stanu kyshechnyka ta kistok u laboratornykh shchuriv. Dovidnyk. – Odesa: Vyd. S. L. Nazarchuk, 2022. – 81 s.
13. *Levytskyi A. P., Makarenko O. A., Khodakov I. V., Zelenina Yu. V.* Fermentatyvnyi metod otsinky stanu kistkovoï tkanyny // *Odeskyi med. zhurn.* – 2006. – № 3. – S. 17–21.
14. *Levickij A. P., Denga O. V., Ivanov V. S. i dr.* Ekspierimentalni kariies zubov / Ekspierimentalnaia stomatologiiia. Ch. I. Ekspierimentalniie modeli stomatologichieskikh zabolievaniï. – Odessa: KP OGT, 2017. – S. 59–67.
15. *Pretsch E., Bühlmann P., Badertscher M.* Structure determination of organic compounds: Tables of spectral data. – Berlin, Heidelberg: Springer, 2009.
16. *Lytvynchuk I. V., Hrytsiuk A. H., Helmboldt V. O.* Syntez, budova ta deiaki vlastyvoli 2-, 3-, 4-aminofenilotstovykh kyslot heksaftorosylikativ // *Pytannia khimii ta khim. tekhnolohii.* – 2022. – № 5. – S. 63–68. <https://doi.org/10.32434/0321-4095-2022-144-5-63-68>
17. *Liubchenko O. V., Severyn L. V.* Biokhimichni pokaznyky rotovoï ridyny diteï rannoho viku zi zakhvoriuvanniamy dykhalnoi systemy (ZDS) // *Sci. J. «ScienceRise: Medical Science».* – 2019. – V. 2, N 29. – P. 41–44. <https://doi.org/10.15587/2519-4798.2019.16185>

Надійшла до редакції 20 лютого 2024 р.

Прийнято до друку 4 березня 2024 р.

Електронна адреса для листування з авторами: vgelmboldt@te.net.ua

(Гельмбольдт В. О.)