



УДК 616.31+612.084+546.161

В. Ю. Анисимов, А. П. Левицкий¹, В. О. Гельмбольдт

КАРИЕСПРОФИЛАКТИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ И БЕЗВРЕДНОСТЬ РАЗНЫХ ДОЗ ЦЕТИЛПИРИДИНИЯ ГЕКСАФТОРСИЛИКАТА

Одесский национальный медицинский университет, Одесса, Украина,

¹ ГУ «Институт стоматологии НАМН Украины», Одесса, Украина

УДК 616.31+612.084+546.161

В. Ю. Анисимов, А. П. Левицкий¹, В. О. Гельмбольдт

КАРИЕСПРОФИЛАКТИЧЕСКАЯ ЭФФЕКТИВНОСТЬ И БЕЗВРЕДНОСТЬ РАЗЛИЧНЫХ ДОЗ ЦЕТИЛПИРИДИНИЯ ГЕКСАФТОРСИЛИКАТА

Одесский национальный медицинский университет, Одесса, Украина,

¹ ГУ «Институт стоматологии НАМН Украины», Одесса, Украина

При содержании крыс на кариесогенном рационе в течение 35 дней оральные аппликации геля, содержащего цетилпиридиния гексафторсиликат, в дозе 7,5; 15 и 30 мг/кг осуществляют дозозависимое кариеспрофилактическое действие (на 31,4, 42,9 и 47,1 % соответственно). При этом достоверно повышается минерализующий индекс пульпы зубов. По данным исследования клеточного состава крови и печеночных маркеров в сыворотке крови, указанные дозы гексафторсиликата не выявляют токсического действия на организм. Таким образом, проведенные нами исследования показали высокую кариеспрофилактическую эффективность цетилпиридиния гексафторсиликата, зависящую от его дозы в пределах 7,5–30 мг/кг, причем в отмеченных дозировках препарат не оказывает токсического действия на организм. Возможно, это обусловлено тем, что действие комплекса фторида дополняет антимикробное и лизоцим-стимулирующее действие катиона цетилпиридиния. Кроме того, следует отметить, что использование гексафторсиликата в составе орального геля создает более эффективную локальную концентрацию действующих веществ.

Ключевые слова: цетилпиридиния гексафторсиликат, кариес, гели, пульпа зуба.

UDC 616.31+612.084+546.161

V. Yu. Anisimov, A. P. Levitsky¹, V. O. Gelmboldt

CARIES-PREVENTIVE EFFICACY AND SAFETY OF DIFFERENT DOSES OF CETYLPIRIDINIUM HEXAFLUOROSILICATE

The Odessa National Medical University, Odessa, Ukraine,

¹ SI "Institute of Stomatology NAMS of Ukraine", Odessa, Ukraine

Background. In our previous work, it was shown that the newly synthesized "onium" hexafluorosilicate has caries preventive effect significantly higher than a similar action of sodium fluoride. This study determined caries-preventive effect of different doses of cetylpyridinium hexafluorosilicate.

Methods. For 35 days rats were obtained Stephan cariogenic diet and different doses (7.5, 15 or 30 mg/kg) of the drug. We determined prevalence caries, activity in the pulp cutters alkaline and acid phosphatases (ALP and ACP, respectively), mineralized index (MI) pulp (ratio ALP/ACP), the content of leukocytes in the blood, leukocyte formula, the activity of serum ALT and ALP, and hemoglobin level in the blood.

Results. The study of drug was provided dose-dependent caries-preventive effect within 31.4–47.1%, increased MI and did not cause significant changes in overall state of the organism. Cetylpyridinium hexafluorosilicate has caries-preventive action and does not have a toxic effect on the body when used as an oral gel at a dose of 30 mg/kg.



Conclusions. Thus, our studies showed a high caries preventive efficacy of cetylpyridinium hexafluorosilicate, depending on the dose in the range of 7.5–30 mg/kg, and in the indicated doses the drug has no toxic effect on the body. Perhaps this is due to the fact that the action of the complex is supplemented with fluoride and antimicrobial lysozyme stimulating effect of cetylpyridinium cation. Furthermore, it should be noted that use of hexafluorosilicate in oral gel composition creates a more effective local concentration of the active ingredients.

Key words: cetylpyridinium hexafluorosilicate, caries, gels, dental pulp.

Введение

В настоящее время фторидная терапия является наиболее эффективным инструментом в лечении и профилактике кариеса [1]. В нашей предыдущей работе [2] было показано, что недавно синтезированные «ониевые» гексафторсиликаты [3–5] обладают кариеспрофилактическим действием, существенно превышающим аналогичное действие фторида натрия. Из изученных препаратов гексафторсиликатов с различными биологически активными катионами (хлоргексидин, полигексаметиленгуанидин, пиридоксин, цетилпиридиний), а также гексафторсилката аммония наиболее эффективным оказался цетилпиридиния гексафторсиликат состава $(C_{21}H_{38}N)_2SiF_6$.

Отметим, что в работе [2] нами была использована только одна доза цетилпиридиния гексафторсилката, а именно 9 мг/кг (в пересчете на фтор 1,36 мг/кг), поэтому целью данной работы являлось определение кариеспрофилактической эффективности разных доз цетилпиридиния гексафторсилката у крыс с экспериментальным кариесом зубов. Одновременно решалась задача определения безвредности данного препарата по таким показателям крови, как уровень гемоглобина, лейкоцитов, лейкоцитарная формула, активность печеночных ферментов (аланинтрансаминаза, щелочная фосфатаза) и активность лизоцима (мар-

кер неспецифического иммунитета).

Материалы и методы исследования

Эксперименты были проведены на 24 белых крысах линии Вистар (самцы, исходная масса (60 ± 5) г), получавших кариесогенный рацион (КГР) Стефана, содержащий 50 % сахара [6].

Крысы были распределены в 4 группы по 6 голов каждая: 1-я группа получала ежедневные аппликации «пустого» геля, содержащего 4 % карбоксиметилцеллюлозы (натриевой соли), в дозе 0,3 мл на крысу. Крысы 2, 3 и 4-й групп получали аппликации по 0,3 мл гелей, содержащих 1,5, 3,0 и 6,0 мг/мл лабораторного препарата цетилпиридиния гексафторсилката соответственно. Это давало следующие дозировки гексафторсилката: 7,5, 15 и 30 мг/кг живой массы (в пересчете на фтор 1,14, 2,27 и 4,55 мг/кг). Гель с цетилпиридинием гексафторсилката был приготовлен в соответствии с ТУ У 20. 4-13903778-032:2012 НПА «Одесская биотехнология».

Продолжительность эксперимента составила 35 дней. Эвтаназию животных осуществляли под тиопенталовым наркозом (20 мг/кг) путем тотального кровопускания из сердца [7].

В цельной крови определяли содержание гемоглобина [8], лейкоцитов и лейкоцитарную формулу [9], в сыворотке крови — активность ферментов: аланинтрансаминазы (АЛТ)

[8], щелочной фосфатазы (ЩФ) [9] и лизоцима [10]. Из резцов извлекали пульпу, в гомогенате которой определяли активность щелочной и кислой фосфатаз (ЩФ и КФ) и по их соотношению рассчитывали минерализующий индекс (МИ) [11] пульпы. Вычленяли нижнюю челюсть и подсчитывали число кариозных поражений и их глубину [6]. Результаты исследований подвергали стандартной статобработке, рассчитывали среднее арифметическое (M), ошибку среднеарифметического ($\pm m$). Сравнение показателей в группах проводили по t -критерию Стьюдента. За достоверные различия принимали данные с $p < 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

В табл. 1 представлены результаты определения в крови содержания лейкоцитов и показатели лейкоцитарной формулы, из которых видно, что ни один из исследованных показателей достоверно не отличается от контроля. Это свидетельствует о том, что данный препарат не оказывает существенного влияния на состояние крови.

В табл. 2 представлены результаты определения содержания гемоглобина в крови и активности маркерных ферментов в сыворотке крови. Из этих данных видно, что исследуемый препарат не оказал негативного влияния на уровень гемоглобина и активность печеночных маркеров — АЛТ и ЩФ. Точно также не изменяется существенно и актив-



ность лизоцима, отражающего состояние неспецифического иммунитета.

На рис. 1 представлены результаты определения кариес-профилактического действия разных доз препарата, демонстрирующие четкую зависимость от дозы цетилпиридиния гексафторсиликата.

Кариеспрофилактическую эффективность (КПЭ) рассчитывали по формуле:

$$\text{КПЭ} = [(K - O) / K] \cdot 100 \%,$$

где K — число кариозных поражений в среднем на 1 крысу, находящуюся на КГР; O — число кариозных поражений в среднем на 1 крысу, получающую КГВ + фторпрепарат.

Для дозы 7,5 мг/кг получили значение (31,4±3,0) %, для дозы 15 мг/кг — (42,9±3,5) % и для дозы 30 мг/кг — (47,1±3,9) %.

В табл. 3 представлены результаты определения активности фосфатаз в пульпе зубов крыс, получавших КГР и аппликации разных доз цетилпиридиния гексафторсиликата. Из этих данных видно, что все испытанные дозы препарата повышают в пульпе активность ЩФ (маркер остеобластов) и снижают активность КФ (маркер остеокластов).

На рис. 2 представлены результаты определения минерализующего индекса в пульпе зубов. Из этих данных видно, что все испытанные дозировки препарата достоверно повышают этот показатель, причем в наибольшей степени доза 15 мг/кг.

Таким образом, проведенные нами исследования показали высокую кариеспрофилактическую эффективность цетилпиридиния гексафторсиликата, зависящую от его дозы в пределах 7,5–30 мг/кг, при-

Таблица 1

Влияние разных доз цетилпиридиния гексафторсиликата на цитологические показатели крови крыс, получавших кариесогенный рацион, M±m, n=6

Показатель	Гр. 1, контроль	Гр. 2, 7,5 мг/кг	Гр. 3, 15,0 мг/кг	Гр. 4, 30,0 мг/кг
Лейкоциты, Г/л	33,3±3,6	28,8±2,4 p>0,3	29,4±1,5 p>0,1	29,8±2,4 p>0,3
Нейтрофилы, %	19,8±3,0	22,6±3,1 p>0,3	19,0±2,8 p>0,5	22,6±1,1 p>0,05
Лимфоциты, %	76,6±4,8	74,8±6,1 p>0,5	77,4±3,6 p>0,6	73,0±0,9 p>0,05
Моноциты, %	1,6±0,2	1,4±0,2 p>0,3	1,0±0,2 p>0,05	1,6±0,4 p=1,0
Эозинофилы, %	2,0±1,0	0,8±0,3 p>0,05	2,8±0,6 p>0,3	2,4±0,7 p>0,3

Таблица 2

Влияние разных доз цетилпиридиния гексафторсиликата на биохимические показатели крови крыс, получавших кариесогенный рацион, M±m, n=6

Показатель	Гр. 1, контроль	Гр. 2, 7,5 мг/кг	Гр. 3, 15,0 мг/кг	Гр. 4, 30,0 мг/кг
Гемоглобин крови, г/л	176,0±1,9	175,6±7,5 p>0,5	170,2±12,5 p>0,3	170,2±5,7 p>0,3
АЛТ сыворотки крови, мк-кат/л	0,49±0,10	0,42±0,11 p>0,3	0,38±0,02 p>0,05	0,39±0,02 p>0,05
ЩФ сыворотки крови, ед/л	5,60±0,41	7,72±0,60 p<0,05	6,08±0,58 p>0,3	5,11±0,02 p>0,1
Лизоцим, ед/л	111±4	112±5 p>0,8	120±4 p>0,05	108±6 p>0,3



Рис. 1. Влияние дозы цетилпиридиния гексафторсиликата на число и глубину кариозных поражений. На рис. 1, 2: * — различие с контролем достоверно

чем в указанных дозировках препарат не оказывает токсического действия на организм. Возможно, это обусловлено

тем, что действие фторидного комплекса дополняется антимикробным и лизоцимстимулирующим действием катиона



Таблица 3

Влияние разных доз цетилпиридиния гексафторсиликата на активность фосфатаз пульпы зубов крыс, получавших кариесогенный рацион, мк-кат/кг, $M \pm m$, $n=6$

Доза препарата	Щелочная фосфатаза	Кислая фосфатаза
Контроль	1910±130	54±1
7,5 мг/кг (F=1,14 мг/кг)	2650±170 $p < 0,05$	48±2 $p < 0,05$
15 мг/кг (F=2,27 мг/кг)	2820±210 $p < 0,01$	45±4 $p < 0,05$
30 мг/кг (F=4,54 мг/кг)	2200±190 $p > 0,05$	42±1 $p < 0,01$

Минерализующий индекс пульпы

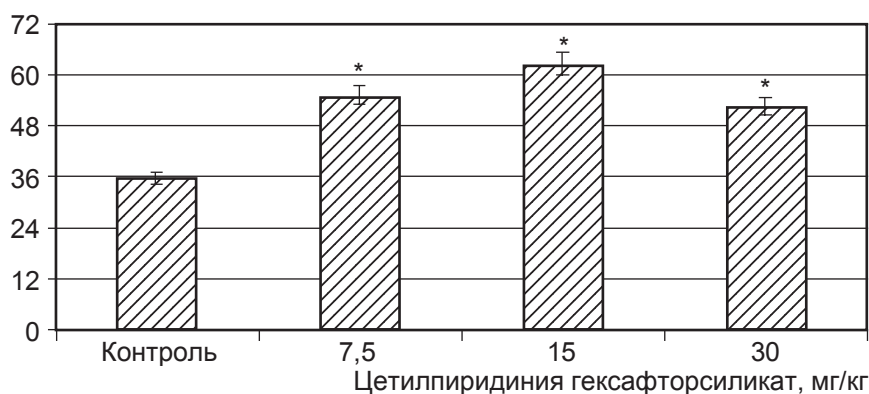


Рис. 2. Влияние дозы цетилпиридиния гексафторсиликата на минерализующий индекс пульпы зубов

цетилпиридиния [10]. Кроме того, следует отметить, что использование гексафторсиликата в составе орального геля создает более эффективную локальную концентрацию действующих веществ.

Как показано в нашей предыдущей работе [2], при одинаковой дозировке по фтору цетилпиридиния гексафторсиликат в 1,4 раза более эффективен, чем NaF.

Использование цетилпиридиния гексафторсиликата вместо фторида натрия более перспективно не только в силу его более высокой кариеспрофилактической активности, но и вследствие практически полной безвредности для организма, тогда как фторид натрия обладает гепатотоксическим действием [12].

Выводы

1. Цетилпиридиния гексафторсиликат обладает высокой кариеспрофилактической эффективностью, зависящей от его дозы в пределах 7,5–30 мг/кг.

2. Исследуемый препарат в указанных дозировках не оказывает негативного влияния на лейкоциты, уровень гемоглобина и на активность печеночных маркеров (АЛТ и ЩФ), а также существенно не изменяет активность лизоцима, что свидетельствует о его безвредности.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ten Cate J. M. Contemporary perspective on the use of fluoride products in caries prevention / J. M. ten Cate // *British Dental J.* – 2013. – Vol. 214, N 4. – P. 161–167.
2. Экспериментальная оценка кариеспрофилактической эффективно-

сти «ониевых» гексафторсиликатов / В. В. Лепский, В. Ю. Анисимов, О. В. Продан, В. О. Гельмбольдт // *Вісник стоматології.* – 2015. – № 2. – С. 5–8.

3. Preparation, structure and properties of pyridinium/bipyridinium hexafluorosilicates / V. O. Gelmboldt, E. V. Ganin, M. M. Botoshansky [et al.] // *J. Fluorine Chem.* – 2014, – Vol. 160, N 4. – P. 57–63.

4. Gelmboldt V. O. Hexafluorosilicates with antibacterial active guanidine containing cations / V. O. Gelmboldt, V. Yu. Anisimov, O. V. Prodan // *News of Pharmacy.* – 2014. – № 3 (79). – P. 42–45.

5. Gelmboldt V. O. Synthesis and characterization of cetylpyridinium hexafluorosilicate as new potential caries protecting agent / V. O. Gelmboldt, O. V. Prodan, V. Yu. Anisimov // *Am. J. PharmTech. Res.* – 2014, – Vol. 4, № 6. – P. 513–521.

6. Левицкий А. П. Лечебно-профилактические зубные эликсиры : учеб. пособие / А. П. Левицкий. – Одесса : КП ОГТ, 2010. – 246 с.

7. Экспериментальные методы исследования стимуляторов остеогенеза : метод. рекомендации / А. П. Левицкий, О. А. Макаренко, О. В. Деньга [и др.]. – К. : ГФЦ, 2005. – 50 с.

8. Горячковский А. М. Клиническая биохимия в лабораторной диагностике / А. М. Горячковский. – 3-е изд. – Одесса : Экология, 2005. – 616 с.

9. Базарнова М. А. Клиническое исследование крови / М. А. Базарнова, Т. Л. Сакун // *Руководство по клинической лабораторной диагностике.* Ч. 2. – К. : Вища школа, 1982. – С. 35–52.

10. Левицкий А. П. Лизоцим вместо антибиотиков / А. П. Левицкий. – Одесса : КП ОГТ, 2005. – 74 с.

11. Ферментативний метод оцінки стану кісткової тканини / А. П. Левицький, О. А. Макаренко, І. В. Ходаков [та ін.] // *Одеський медичний журнал.* – 2006. – № 3. – С. 17–21.

12. Левицкий А. П. Гепатотоксическое действие фторидов и роль кальцийсодержащих препаратов в его профилактике / А. П. Левицкий, В. Н. Гороховский, И. А. Селиванская // *Актуальные проблемы транспортной медицины.* – 2014. – № 3 (37). – С. 136–139.

REFERENCES

1. Ten Cate J.M. Contemporary perspective on the use of fluoride products in caries prevention. *British Dental J.* 2013; 214 (4): 161-167.
2. Lepskiy V.V., Anisimov V.Yu., Prodan O.V., Gelmboldt V.O. Experimen-



tal evaluation of caries preventive efficiency of "onium" hexafluorosilicates. *Visnyk stomatologiy* 2015; 2: 5-8.

3. Gelmboldt V.O., Ganin E.V., Botoshansky M.M. et al. Preparation, structure and properties of pyridinium/bipyridinium hexafluorosilicates. *J. Fluorine Chem.* 2014; 160 (4): 57-63.

4. Gelmboldt V.O., Anisimov V.Yu., Prodan O.V. Hexafluorosilicates with antibacterial active guanidine containing cations. *News of Pharmacy.* 2014; 3 (79): 42-45.

5. Gelmboldt V.O., Prodan O.V., Anisimov V.Yu. Synthesis and characterization of cetylpyridinium hexafluorosilicate as new potential caries protecting agent. *Am. J. PharmTech. Res.* 2014; 4 (6): 513-521.

6. Levitsky A. P. *Lechebno-profilakticheskie zubnye eliksiry* [The therapeutic and preventive dental waters: the manual]. Odessa, KP OGT, 2010, 246 p.

7. Levitsky A.P., Makarenko O.A., Denga O.V. et al. *Eksperymentalnye metody issledovaniya stimulyatorov osteogeneza: metodicheskie rekomendatsii* [The experimental methods of the study of osteogenesis stimulators]. Kiev, GFK, 2005, 50 p.

8. Goryachkovskiy A.M. *Klinicheskaya biokhimiya v laboratornoy diagnostike* [The clinical biochemistry in laboratorial diagnostics]. 3rd ed. Odessa, Ekologiya, 2005, 616 p.

9. Bazarnova M.A., Sakun T.L. *Klinicheskoe issledovanie krovi* [The clinical study of blood. In the book "The

Manual on Clinical Laboratorial Diagnostics. P. 2 (Bazarnova M.A. ed.)]. Kyiv, Vyshcha shkola, 1982, p. 35-52.

10. Levitsky A.P. *Lizotsym vmesto antibiotikov* [Lysozyme instead of antibiotics]. Odessa, KP OGT, 2005; 74 p.

11. Levitsky A.P., Makarenko O.A., Khodakov I.V. et al. The enzymatic method of the estimation of the state of osseous tissue. *Odeskyy medychnyy zhurnal* 2006; 3: 17-21.

12. Levitsky A.P., Gorokhivskiy V.N., Selivanskaya I.A. Hepatotoxic effect of fluorides and the role of calcium-containing preparations in its prevention. *Aktual'nye problemy transportnoy meditsyny* 2014; 3 (37): 136-139.

Поступила 9.11.2015

Рецензент д-р мед. наук,
проф. Ю. Г. Романова

УДК 615.256.4:547.816.3]:340.627

Л. І. Осипчук, І. Й. Галькевич

КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ ВАРДЕНАФІЛУ МЕТОДОМ ФЛУОРЕСЦЕНТНОЇ СПЕКТРОСКОПІЇ В ПЛАЗМІ ТА КРОВІ

Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького,
Львів, Україна

УДК 615.256.4:547.816.3]:340.627

Л. І. Осипчук, І. Й. Галькевич

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВАРДЕНАФИЛА МЕТОДОМ ФЛУОРЕСЦЕНТНОЙ СПЕКТРОСКОПИИ В ПЛАЗМЕ И КРОВИ

Львовский национальный медицинский университет им. Даниила Галицкого, Львов, Украина

Изучена зависимость интенсивности флуоресценции варденафила от природы растворителя. Разработаны оптимальные условия количественного определения варденафила методом флуоресцентной спектроскопии в плазме и крови. Для очистки биологических проб использован метод твердофазной экстракции.

Ключевые слова: варденафил, кровь, плазма, флуоресцентная спектроскопия, твердофазная экстракция.

UDC 615.256.4:547.816.3]:340.627

L. I. Osypchuk, I. Y. Halkevych

WARDENAFIL QUANTITY DETERMINATION BY FLUORESCENCE SPECTROSCOPY IN PLASMA AND BLOOD

Danylo Halytsky Lviv National Medical University, Lviv, Ukraine

Introduction. Vardenafil belongs to inhibitors of the 5th type phosphodiesterase and used in therapy of erectile dysfunction.

Objective. Study of the influence of the solvent nature on intensity of vardenafil fluorescence in solutions. Development of optimal conditions for the quantitative determination of preparation by fluorescence spectroscopy method in plasma and blood.

Materials and Methods. Fluorescence characteristics of vardenafil in water, ethanol, and acetonitrile solutions with a concentration of 10 mg/ml was studied.

The calibration curves were built for vardenafil concentrations in range 5–100 ng/ml and 0.1–5.0 mg/ml. The drug solutions were prepared in acetonitrile.

The optimal conditions of the vardenafil definition in plasma and blood by the fluorescence method were developed based on model mixtures, which made different amounts of the preparation (from 0.05 to 10 mcg per 1 ml sample).

