

## РАЗРАБОТКА МЕТОДИК КАЧЕСТВЕННОГО И КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ФТОРИДОВ В ГЕЛЕ РЕМИНЕРАЛИЗУЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ

Березина Е.С., Голованенко А.Л.

*ГБОУ ВПО «Пермская государственная фармацевтическая академия», Пермь, Россия (614990, г. Пермь, ул. Полевая, 2), perm@pfa.ru*

Поиск и апробация новых средств для проведения реминерализующей терапии не теряют свою актуальность и востребованность в практическом здравоохранении. В результате комплекса проведенных научно-экспериментальных исследований предложен состав геля для активной реминерализации эмали. Разработаны оптимальные методики качественного и количественного определения фторидов, входящих в состав геля реминерализующего действия. Апробированные и модифицированные методики позволяют провести качественное доказательство и количественное определение фторидов в многокомпонентном геле, содержащем минеральные соли и корригирующие компоненты, и могут быть рекомендованы для включения в нормативную документацию, регламентирующую его изготовление и контроль качества.

Ключевые слова: реминерализация, гель, качественное доказательство, количественное определение, фториды.

## DEVELOPMENT OF TECHNIQUES OF QUALITATIVE AND QUANTITATIVE DETERMINATION OF FLUORIDES IN REMINERALIZING GEL

Berezina E.S., Golovanenko A.L.

*Perm state pharmaceutical academy, Perm, Russia, (614990, Perm, Polevaya str., 2), perm@pfa.ru*

Search of new means for implementation of remineralizing therapy and their testing are still relevant and in demand in applied healthcare. As the result of the complex of scientific and experimental studies a composition of the gel for active enamel remineralizing was proposed. The techniques of optimal qualitative and quantitative determination of fluorides, entering in the remineralizing gel's composition, were developed. Tested and modified techniques allow to carry out a qualitative proof and quantitative determination of fluorides in multicomponent gel, containing mineral salts and corrective components, and they can be recommended for inclusion in normative documentation, regulating it's production and quality control.

Keywords: remineralization, gel, fluorides, optimal qualitative, quantitative determination.

Новым направлением в реминерализующей терапии эмали является моделирование свойств слюны в ремсредствах. Реминерализующая терапия – одно из перспективных направлений профилактики кариеса зубов, которая основывается на использовании эффекта реминерализации для повышения резистентности зубных тканей.

Реминерализующая терапия заключается в профессиональной обработке зубов специальными препаратами и направлена на нормализацию минерального состава зубной эмали. В основе процедуры лежит свойство полупроницаемости эмали, которую можно насытить ионами кальция, фосфора, фтора и др. Реминерализация позволяет устранить незначительные дефекты зубной эмали, вызванные процессом деминерализации, и одновременно является мощным профилактическим средством, позволяющим предотвратить поражение эмали, обусловленное вымыванием минеральных элементов из твердых тканей зубов.

Грамотное проведение реминерализующей терапии должно быть основано на знании состава и свойств эмали, механизмов потери и накопления в ней минеральных компонентов.

Зная химический состав и фазы реминерализации эмали, можно сформулировать требования к идеальному реминерализующему средству [1].

В настоящее время разработано и используется в стоматологической практике достаточно немногочисленная группа аппликационных фтористых гелей, поэтому поиск и апробация новых средств для проведения реминерализующей терапии не теряют свою актуальность и востребованность в практическом здравоохранении.

В результате комплекса проведенных научно-экспериментальных исследований на кафедре фармацевтической технологии совместно с кафедрой факультета усовершенствования врачей Пермской государственной медицинской академии разработан состав геля для активной реминерализации эмали [2; 5].

Практическая значимость геля обусловлена тем, что выбор состава осуществлен с учетом основных требований реминерализующей терапии, т.е.: перенасыщенность ионами кальция и фосфора, превалирование фосфатов над кальцием в соотношении 4:1, связь основной массы ионов кальция с белками слюны, препятствующая их химическому взаимодействию с фосфатами, нейтральная реакция слюны.

Целью данного исследования является разработка оптимальных методик качественного и количественного определения фторидов, входящих в состав геля реминерализующего действия.

Ввиду высокой химической активности натрия фторид первым из фторсодержащих соединений стал использоваться как антикариозный реагент направленного действия.

Механизм местного антикариозного действия фтора до сих пор не изучен полностью. В настоящее время основными путями его воздействия в полости рта считаются следующие:

- образование более устойчивого к действию кислот фторапатита («стабильного фторида») путем замещения фтором гидроксильной группы гидроксиапатита;
- стимуляция реминерализации (катализ включения минеральных компонентов в эмаль, ускорение кристаллизации гидроксиапатита);
- образование на поверхности эмали малорастворимого фторида кальция («лабильный фторид»), который, медленно диссоциируя, поставляет в большом количестве ионы фтора для реакции замещения гидроксила в апатитах эмали;
- снижение выработки кислоты микроорганизмами (блокирование ферментов микробного гликолиза (энолазы, превращающей 2-фосфоглицерат в фосфоэнолпируват) с прерыванием процесса образования молочной кислоты);
- замедление процессов транспортировки глюкозы в бактериальные клетки;
- снижение адгезии бактерий на поверхности зуба вследствие замедления образования липотеихоновой кислоты;

- блокирование реакций синтеза микроорганизмами внеклеточных полисахаридов декстрана и левана, фиксирующих зубную бляшку к поверхности зуба;
- изменение электрического потенциала поверхности эмали и препятствие осаждению на ней микробных частиц;
- повышение функциональной активности слюнных желез (слюноотделения) за счет сосудорасширяющего действия фтора [7].

Фтористые гели для индивидуального и врачебного применения показаны при высокой интенсивности кариеса, у ортодонтических больных, присутствии на зубах очагов деминерализации эмали, гиперстезии зубов. В некоторых европейских странах фтористые гели используют в рамках программ обязательной чистки зубов (6-12 раз в год) лицам старше 8 лет, например Fluormexjel (Польша), FluocalGel (Франция), Stan-qard (США), Gthjrcbutkm (Россия) [7].

Фторид-ион вводится в гель в виде натриевой соли. Натрия фторид легко диссоциирует с выделением активного ионизированного фтора, хорошо фиксируется в зубном налете и в слизистой оболочке полости рта, он не имеет вкуса, не окрашивает пелликулу, по некоторым данным, образует слой фторида, который сравнительно легко смывается и быстро выводится из полости рта.

Описано немного способов качественного и количественного анализа фторид-ионов. Реакции доказательства подлинности основаны на использовании двух типов реакций: осаждения солями бария или кальция и разрушения комплексных соединений, например, в реакции с циркон-ализариновым комплексом образуется прочное бесцветное соединение фторид-ионов с циркониллом (IV), цирконил-ализариновый комплекс разрушается и выделяется свободный ализарин, наблюдается изменение окраски раствора от красной к желтой [4]. Аналогичная реакция протекает с окрашенным в красный цвет раствором роданида железа (III), образуется прочный бесцветный растворимый фторид железа, и красное окрашивание исчезает [6].

Количественное определение субстанции натрия фторида проводят методом ионно-обменной хроматографии. Раствор натрия фторида пропускают через колонку с катионитом и выделившуюся фтористоводородную кислоту определяют алкалиметрическим методом, используя в качестве титранта раствор натрия гидроксида, индикатор – фенолфталеин [3].

Для количественного определения натрия фторида в таблетках используют потенциометрический метод с применением фторселективного электрода.

Содержание натрия фторида рассчитывают по калибровочному графику, построенному по результатам определения электрохимического потенциала 6 стандартных растворов, с добавлением равных объемов ацетатного буфера (pH 5,4) [6].

Описан фотоэлектроколориметрический метод определения фторидов в воде минеральной питьевой лечебной на основе реакции с циркон-ализариновым комплексом [4].

В состав разработанного геля реминерализующего действия входят минеральные соли в высоких концентрациях, а также гидрофильная основа и корригирующие компоненты, затрудняющие определение фторид-ионов. Из описанных выше реакций для подтверждения подлинности фторид-иона наиболее чувствительной и селективной оказалась реакция с циркон-ализариновым комплексом. Реактив готовят в серной кислоте, в этом случае сильноокислая реакция препятствует связыванию фторидов ионами кальция, кроме того, реакция специфична для фторидов, и сопутствующие компоненты не мешают.

В результате проведенных исследований предложена следующая методика качественного доказательства фторид-иона: 2 г геля растворяют в 20 мл воды очищенной, к 1 мл полученного раствора прибавляют по 5 мл раствора кислого цирконила и раствора ализаринового красного С (0,075%-ный водный раствор), наблюдают изменение окраски от красно-фиолетовой к желтой [4].

Приготовление раствора кислого цирконила: в мерную колбу вместимостью 1000 мл помещают 0,354 г хлористого цирконила ( $ZrOCl_2 \times 8H_2O$ ), взвешенного с погрешностью не более 0,01 г, растворяют в 600 мл воды очищенной, приливают 33,3 мл концентрированной серной кислоты плотностью 1,84, содержимое перемешивают, охлаждают, добавляют 100 мл концентрированной хлористоводородной кислоты плотностью 1,19, снова перемешивают, охлаждают и доводят объем раствора водой очищенной до метки [4].

Для количественного определения натрия фторида апробирован фотоэлектроколориметрический метод, с использованием этой же реакции [4]. Метод основан на способности окрашенного раствора препарата поглощать монохроматическое излучение в видимой области спектра [8]. В данном случае наблюдают обратную зависимость оптической плотности исследуемого раствора от количества фторид-ионов.

При увеличении количества фторид-ионов оптическая плотность раствора уменьшается. Расчет проводят относительно раствора рабочего стандартного образца натрия фторида.

Особенность данного определения состоит в том, что для приготовления раствора необходимо трехкратное разведение навески геля, т.е. определение проводят в водном растворе и возможно связывание фторидов ионами кальция, количество которых в геле значительно превышает количество фторидов. Для предотвращения этой реакции к навеске

геля добавляют раствор трилона Б и аммиачный буфер для связывания ионов кальция в устойчивый бесцветный комплекс.

В результате проведенных исследований предложена следующая методика количественного определения фторидов в геле: 1 г геля (точная навеска) вносят в мерную колбу вместимостью 100 мл, добавляют 10 мл раствора трилона Б 0,05 М и 10 мл аммиачного буфера, доводят объем водой очищенной до метки, 1 мл полученного раствора переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем водой очищенной до метки, 10 мл приготовленного разведения вносят в мерную колбу вместимостью 100 мл, в колбу добавляют по 5 мл раствора ализаринового красного С и раствора кислого цирконила. Раствор тщательно перемешивают и выдерживают в течение часа.

Измеряют оптическую плотность полученного раствора при длине волны 520 нм, в кювете с толщиной слоя 20 мм, раствор сравнения – вода очищенная.

Параллельно измеряют оптическую плотность раствора рабочего стандартного образца, приготовленного по следующей методике: 0,2 г субстанции натрия фторида (точная навеска) вносят в мерную колбу вместимостью 100 мл, добавляют 10 мл раствора трилона Б 0,05 М и 10 мл аммиачного буфера, доводят объем водой очищенной до метки, 1 мл полученного раствора переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем водой очищенной до метки, 10 мл полученного раствора вносят в мерную колбу вместимостью 100 мл, приливают по 5 мл раствора ализаринового красного и раствора кислого цирконила. Раствор тщательно перемешивают и выдерживают в течение часа.

Результаты количественного определения представлены в таблице 1.

**Таблица 1 – Результаты определения натрия фторида в геле реминерализующего действия фотоэлектроколориметрическим методом**

n	f	$\bar{X}$	$S^2$	S	P	t (P, f)	$\Delta X$	$\varepsilon, \%$
5	4	0,204	0,000025	0,005	95	2,78	0,007	3,43

Разработанная методика хорошо воспроизводима, однако можно отметить такие недостатки, как многократное разведение и необходимость точно соблюдать время выдерживания приготовленного раствора – 1 час. Тем не менее апробированные и модифицированные методики позволяют провести качественное доказательство и количественное определение фторидов в многокомпонентном геле, содержащем минеральные соли и корригирующие компоненты.

Предложенные методики могут быть рекомендованы для включения в нормативную документацию, регламентирующую изготовление и контроль качества геля реминерализующего действия.

### **Список литературы**

1. Бутвиловский А.В., Барковский Е., Кармалькова И.С. Химические основы деминерализации и реминерализации эмали зубов // Вестник ВГМУ. – 2011. – Т. 10. – № 1. – С. 138-144.
2. Голованенко А.Л. Березина Е.С., Павлова Г.А. Сандеровские чтения, посвящ. памяти выдающ. отечеств. ученого в области технологии лекарств Ю.К. Сандера : мат. Межд. науч. метод. конф. – СПб., 2012. – С. 75-77.
3. ГОСТ 4463 – 76 Натрий фтористый (Технические условия).
4. ГОСТ 23268.18 – 78 Воды минеральные питьевые лечебные, лечебно-столовые и природные столовые (Методы определения фторид-ионов).
5. Павлова Г.А. Сравнительная оценка методов лечения глубокого кариеса : автореф. дисс. ... канд. мед. н. – Пермь, 1989. – 23 с.
6. ФС 42-3146-95 Таблетки натрия фторида 0,0022 г для детей. Взамен ВФС 42-1532-85; введена с 28.06.1995 до 31.12.2000 / Министерство здравоохран. РФ. – М. – 4 с.
7. Хоменко Л.Л., Биденко Н.В. Современные средства экзогенной профилактики заболеваний полости рта. – Киев : Книга плюс, 2001. – 208 с.
8. Чекрышкина Л.А., Эвич Н.И. Инструментальные методы в фармацевтическом анализе : учеб-метод. пособие. – Пермь, 2006. – 211 с.

### **Рецензенты**

Яковлев Игорь Борисович, доктор фармацевтических наук, профессор, зав. кафедрой фармакологии, Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации, г. Пермь.

Чекрышкина Людмила Александровна, доктор фармацевтических наук, профессор, зав. кафедрой фармацевтической химии ФДПО и ФЗО, Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации, г. Пермь.