

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(21) **202192391** (13) **A1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**

(43) Дата публикации заявки  
2021.11.19

(51) Int. Cl. *A61K 8/04* (2006.01)  
*A61K 8/43* (2006.01)  
*A61K 8/60* (2006.01)  
*A61Q 11/00* (2006.01)

(22) Дата подачи заявки  
2020.02.27

---

(54) **ПРОДУКТ ДЛЯ УХОДА ЗА ПОЛОСТЬЮ РТА**

---

(31) 102019000003009

(72) Изобретатель:

(32) 2019.03.01

**Бойокки Лоренцо Эмильяно (IT)**

(33) IT

(74) Представитель:

(86) PCT/EP2020/055199

**Фелицына С.Б. (RU)**

(87) WO 2020/178148 2020.09.10

(71) Заявитель:

**КУРАСЕПТ А.Д.С. С.Р.Л. (IT)**

---

(57) Изобретение относится к продукту для ухода за полостью рта, такому как жидкость для полоскания рта, пародонтальный гель или зубная паста, содержащему хлоргексидин и ДНК натрия. Указанный продукт для ухода за полостью рта обладает антибактериальным действием, эффективным против гингивита, бактериального налета и пародонтита, в сочетании с заживляющей и противовоспалительной активностью, и который, кроме того, противодействует окислительному стрессу, таким образом ограничивает начало и прогрессирование раздражений слизистой оболочки полости рта и способствует их трофике.

**A1**

**202192391**

**202192391**

**A1**

## **ПРОДУКТ ДЛЯ УХОДА ЗА ПОЛОСТЬЮ РТА**

### Область техники, к которой относится изобретение

Настоящее изобретение относится к продукту для ухода за полостью рта на основе хлоргексидина и ДНК натрия, такому как, например, жидкость для полоскания рта, пародонтальный гель или зубная паста, который предотвращает образование зубного налета и в то же время ограничивает начало и прогрессирование раздражений слизистой оболочки полости рта, тем самым способствуя ее трофике.

### Сведения о предшествующем уровне техники

Продукты для ухода за полостью рта на основе хлоргексидина, такие как жидкости для полоскания рта, известны уже какое-то время, поскольку этот активный компонент является мощным антибактериальным средством благодаря своей способности проникать через внешнюю мембрану бактерий и коагулировать их внутренние белки. Хлоргексидин также обладает интенсивным действием против зубного налета. Растворы, содержащие хлоргексидин в различных концентрациях, также применяют для предотвращения послеоперационных осложнений.

Однако известно, что длительное применение продуктов для ухода за полостью рта на основе хлоргексидина может, например, вызывать раздражение слизистой оболочки полости рта, что в конечном итоге может ухудшить их правильную трофику.

Заявитель на самом деле обнаружил, что, хотя известны благоприятные эффекты хлоргексидина при лечении гингивита, бактериального налета и пародонтита, остаются сомнения относительно его применения для этих методов лечения, особенно длительного лечения, исходя из осведомленности о побочных эффектах, вызываемых указанным активным компонентом, на слизистую оболочку полости рта.

### Краткое описание изобретения

Таким образом, целью настоящего изобретения является обеспечение нового продукта для ухода за полостью рта, содержащего хлоргексидин, эффективного против гингивита, бактериального зубного налета и пародонтита, и обладающего заживляющей и противовоспалительной активностью, и который также противодействует окислительному стрессу, таким образом, ограничивает начало и прогрессирование раздражений и изменений клеточной структуры слизистой оболочки полости рта в результате применения хлоргексидина и тем самым способствует трофике самих слизистых оболочек полости рта.

В соответствии с настоящим изобретением заявитель неожиданно обнаружил, что эти желаемые характеристики могут быть достигнуты путем использования ДНК натрия в

комбинации с хлоргексидином.

Таким образом, настоящее изобретение относится к продукту для ухода за полостью рта, содержащему хлоргексидин и ДНК натрия.

Действительно, неожиданно было обнаружено, что ассоциация ДНК натрия с хлоргексидином не только противодействует раздражающему действию последнего на слизистые оболочки полости рта, оказывая защитное действие на последние и заживляющее действие на возможные раны в полости рта, но также позволяет ограничить побочные эффекты длительного применения продуктов для ухода за полостью рта на основе хлоргексидина, которые включают изменения клеточной структуры, включая вакуолизацию, дегенерацию ядра клетки и расширение межклеточных пространств.

Таким образом, благодаря особой комбинации ДНК натрия и хлоргексидина, продукт для ухода за полостью рта в соответствии с настоящим изобретением обладает рядом свойств, способных преодолеть связанные с применением и функциональные ограничения на продукты для ухода за полостью рта на основе только хлоргексидина, расширяя возможности применения и устраняя некоторые побочные эффекты при их длительном применении.

Продукт для ухода за полостью рта в соответствии с настоящим изобретением действительно способен связывать эффективное защитное действие на клеточном уровне против побочных эффектов хлоргексидина, таким образом, ограничивать начало и прогрессирование изменений клеточной структуры слизистой оболочки полости рта, с антибактериальным действием, эффективным против гингивита, бактериального зубного налета и пародонтита, в сочетании с заживляющей и противовоспалительной активностью, способной противодействовать окислительному стрессу, и ограничивать начало и прогрессирование раздражений слизистой оболочки полости рта, тем самым способствуя их трофике. Эти характеристики делают его применение особенно предпочтительным, даже на длительной основе, без возникновения раздражающего действия и побочных эффектов хлоргексидина на клеточном уровне на слизистую оболочку полости рта.

Заявитель, в частности, отметил, что одно из связанных с применением и функциональных ограничений на применение продуктов для ухода за полостью рта на основе хлоргексидина состоит в возникновении - особенно в случае длительного применения - побочных эффектов, которые влекут за собой, помимо раздражения слизистой оболочки полости рта, также изменения на уровне клеточной структуры указанных слизистых оболочек, включая вакуолизацию, дегенерацию ядра клетки и расширение межклеточных пространств.

Таким образом, заявитель неожиданно обнаружил, что ассоциация ДНК натрия с хлоргексидином не только противодействует его раздражающему эффекту на слизистую оболочку полости рта, оказывая на нее защитное действие и заживляющее действие на возможные раны в полости рта, но также позволяет ограничить побочные эффекты длительного применения указанного активного компонента, которые включают изменения клеточной структуры, включая вакуолизацию, дегенерацию ядра клетки и расширение межклеточных пространств.

Это позволило заявителю определить и разработать новый продукт для ухода за полостью рта, содержащий хлоргексидин, таким образом, эффективный против гингивита, бактериального зубного налета и пародонтита, который в то же время не вызывает или серьезно ограничивает побочные эффекты длительного применения указанного активного компонента, которые включают раздражения и даже изменения клеточной структуры слизистой оболочки полости рта, включая вакуолизацию, дегенерацию ядра клетки и расширение межклеточных пространств.

В предпочтительном варианте осуществления указанный продукт для ухода за полостью рта выбирают из группы, состоящей из: жидкости для полоскания рта, пародонтального геля и зубной пасты.

В предпочтительном варианте осуществления продукт для ухода за полостью рта в соответствии с настоящим изобретением представляет собой жидкость для полоскания рта, содержащую от 0,01% до 0,30% по массе хлоргексидина, от 0,01% до 0,2% по массе натриевой ДНК натрия, от 0,1% до 0,5% по массе по меньшей мере одной метабисульфитной соли щелочного или щелочноземельного металла, от 0,1% до 1,0% по массе аскорбиновой кислоты, от 0,05% до 1% по массе по меньшей мере одного сополимера поливинилпирролидона-винилацетата по отношению к общему объему жидкости для полоскания рта.

В еще одном аспекте настоящее изобретение относится к ДНК натрия для применения в способе лечения патологии слизистой оболочки полости рта, где указанная патология влечет за собой изменение клеточной структуры указанной слизистой оболочки полости рта, при этом указанное изменение клеточной структуры выбрано из группы, состоящей из: вакуолизации, дегенерации ядра клетки, расширения межклеточных пространств.

Фактически, неожиданно было обнаружено, что ДНК натрия оказывает защитное действие на клеточную структуру слизистой оболочки полости рта, способна противодействовать началу и прогрессированию ее изменений, включая вакуолизацию, дегенерацию ядра клетки и расширение межклеточных пространств.

Это позволяет терапевтически воздействовать на клеточные изменения слизистой оболочки полости рта любой этиологии, например, путем ограничения побочных эффектов методов лечения активными компонентами, которые являются особенно агрессивными в отношении клеточной структуры слизистой оболочки полости рта, такими как хлоргексидин.

Заявитель обнаружил, что лечение побочных эффектов хлоргексидина представляет собой инновационный аспект, имеющий особую ценность в свете вышеупомянутых связанных с применением и функциональных ограничений на применение продуктов для ухода за полостью рта на основе хлоргексидина.

Таким образом, в еще одном своем аспекте настоящее изобретение также относится к ДНК натрия для использования в способе лечения побочных эффектов хлоргексидина у пациента, получающего лечение хлоргексидином, где указанные побочные эффекты влекут за собой изменение клеточной структуры слизистой оболочки полости рта указанного пациента, при этом указанное изменение клеточной структуры выбирают из группы, состоящей из вакуолизации, дегенерации ядра клетки, расширения межклеточных пространств.

#### **Краткое описание чертежей**

На чертежах:

- на фигуре 1 показан не в масштабе схематический вид в поперечном сечении системы, используемой для экспериментов в соответствии с примером 1;
- на фигуре 2 показаны результаты МТТ-теста на жизнеспособность на клетках ROE при разных временах обработки растворами А, В, С и D в соответствии с примером 1;
- на фигуре 3 показаны результаты МТТ-теста на жизнеспособность на клетках ROE после 1 минуты обработки 3%-ным по объему раствором  $H_2O_2$ , и через последующие разные времена обработки растворами А, В, С и D в соответствии с примером 1;
- на фигуре 4 показаны визуализированные 3D-реконструкции наблюдений CLSM и проекции максимальной интенсивности образцов ROE после 30 минут обработки, соответственно, растворами А, В, С и D в соответствии с примером 1;
- на фигуре 5 показаны визуализированные 3D-реконструкции наблюдений CLSM и проекции максимальной интенсивности образцов ROE после 1 минуты обработки 3%-ным по объему раствором  $H_2O_2$  и через последующие 30 минут обработки, соответственно, растворами А, В, С и D в соответствии с примером 1;
- на фигуре 6 показаны срезы образцов ROE после 30 минут обработки, соответственно, растворами А, В, С и D в соответствии с примером 1; и

- на фигуре 7 показаны срезы образцов ROE после 1 минуты обработки 3%-ным по объему раствором  $H_2O_2$  и через последующие 30 минут обработки, соответственно, растворами А, В, С и D в соответствии с примером 1.

#### Подробное описание изобретения

Настоящее изобретение может быть представлено в одном или нескольких аспектах, или одной или несколькими предпочтительными характеристиками, указанными ниже, которые могут быть объединены друг с другом в соответствии с требованиями заявки.

В контексте настоящего описания и следующей формулы изобретения все числовые величины, указывающие количества, параметры, проценты и так далее, следует во всех обстоятельствах рассматривать как сопровождаемые термином «около», если не указано иное. Кроме того, все диапазоны числовых величин включают все возможные комбинации максимальных и минимальных числовых значений, и все возможные промежуточные диапазоны, в дополнение к тем, которые указаны ниже.

В рамках настоящего изобретения была идентифицирована комбинация двух веществ, хлоргексидина и ДНК натрия, чьи объединенные антибактериальные, заживляющие, противовоспалительные и противодействующие окислительному стрессу характеристики делают их применение в качестве активных компонентов продукта для ухода за полостью рта особенно эффективным против гингивита, бактериального зубного налета и пародонтита, которые, в то же время, ограничивают начало и прогрессирование раздражений и изменений клеточной структуры слизистой оболочки полости рта в результате применения хлоргексидина и, таким образом, способствуют трофике самой слизистой оболочки полости рта.

Более конкретно, настоящее изобретение относится к продукту для ухода за полостью рта, содержащему хлоргексидин и ДНК натрия.

В настоящем изобретении при использовании выражения:

- «% по массе по отношению к общему объему жидкости для полоскания рта» означает количество в граммах данного компонента, присутствующего в 100 миллилитрах (мл) жидкости для полоскания рта;

- «хлоргексидин» означает, если не указано иное, соединение 1,1'-гексаметиленбис-[5-(п-хлорфенил)бигуанид], его соль или комплекс;

- «ДНК натрия» означает натриевую соль дезоксирибонуклеиновой кислоты, например, получаемую путем экстракции нативной дезоксирибонуклеиновой кислоты из ткани гонад самцов осетровых рыб с последующей очисткой, деполимеризацией и нейтрализацией ионами натрия.

Не желая быть привязанным к конкретной теории, считается, что ассоциация ДНК натрия с хлоргексидином не только противодействует раздражающему эффекту последнего на слизистую оболочку полости рта, оказывая на нее защитное действие и заживляющее действие на возможные раны в полости рта, но также позволяет ограничить побочные эффекты длительного применения средств по уходу за полостью рта на основе хлоргексидина, которые включают изменения клеточной структуры, включая вакуолизацию, дегенерацию ядра клетки и расширение межклеточных пространств.

Заявитель, в частности, отмечает, что одно из связанных с применением и функциональных ограничений на применение продуктов для ухода за полостью рта на основе хлоргексидина заключается в возникновении - особенно в случае длительного применения - побочных эффектов, которые влекут за собой, помимо раздражения слизистой оболочки полости рта, также изменения на уровне клеточной структуры указанных слизистых оболочек, включая вакуолизацию, дегенерацию ядра клетки и расширение межклеточных пространств.

Таким образом, заявитель неожиданно обнаружил, что ассоциация ДНК натрия с хлоргексидином не только противодействует его раздражающему эффекту на слизистую оболочку полости рта, оказывая на нее защитное действие и заживляющее действие на возможные раны в полости рта, но также позволяет ограничить побочные эффекты длительного применения указанного активного компонента, которые включают изменения клеточной структуры, включая вакуолизацию, дегенерацию ядра клетки и расширение межклеточных пространств.

Это позволило заявителю определить и разработать новый продукт для ухода за полостью рта, содержащий хлоргексидин, следовательно, эффективный против гингивита, бактериального зубного налета и пародонтита, который в то же время не вызывает или серьезно ограничивает побочные эффекты длительного применения указанного активного компонента, которые включают раздражения и даже изменения клеточной структуры слизистой оболочки полости рта, включая вакуолизацию, дегенерацию ядра клетки и расширение межклеточных пространств.

Таким образом, благодаря особой комбинации ДНК натрия и хлоргексидина, продукт для ухода за полостью рта в соответствии с настоящим изобретением обладает рядом свойств, способных преодолеть связанные с применением и функциональные ограничения на продукты для ухода за полостью рта на основе только хлоргексидина, расширяя возможности применения и устраняя некоторые побочные эффекты их длительного применения.

Продукт для ухода за полостью рта в соответствии с настоящим изобретением

действительно способен связывать эффективное защитное действие на клеточном уровне в отношении побочных эффектов хлоргексидина, таким образом, ограничивая начало и прогрессирование изменений клеточной структуры слизистой оболочки полости рта, с антибактериальным действием, эффективным против гингивита, бактериального зубного налета и пародонтита, в сочетании с заживляющей и противовоспалительной активностью, способной противодействовать окислительному стрессу, и ограничивать начало и прогрессирование раздражений слизистой оболочки полости рта, тем самым способствуя их тропике. Эти характеристики делают его применение особенно предпочтительным, даже на длительной основе, без возникновения раздражающего действия и побочных эффектов хлоргексидина на клеточном уровне на слизистую оболочку полости рта.

В предпочтительном варианте осуществления указанный продукт для ухода за полостью рта выбирают из группы, состоящей из жидкости для полоскания рта, пародонтального геля и зубной пасты.

В первом предпочтительном варианте осуществления продукт для ухода за полостью рта в соответствии с настоящим изобретением представляет собой жидкость для полоскания рта, содержащую хлоргексидин и ДНК натрия.

Жидкость для полоскания рта в соответствии с настоящим изобретением содержит хлоргексидин. Предпочтительно количество хлоргексидина в жидкости для полоскания рта находится в диапазоне от 0,01% до 0,30% по массе, более предпочтительно от 0,05% до 0,30% по массе, даже более предпочтительно от 0,09% до 0,20% по массе по отношению к общему количеству объем жидкости для полоскания рта.

В жидкости для полоскания рта в соответствии с настоящим изобретением хлоргексидин также может предпочтительно присутствовать в форме соли и комплекса. Предпочтительно жидкость для полоскания рта в соответствии с настоящим изобретением содержит хлоргексидин в форме соли или комплекса. В жидкости для полоскания рта в соответствии с настоящим изобретением в качестве соли хлоргексидина можно использовать, например, диглюконат хлоргексидина или диацетат хлоргексидина. Предпочтительно жидкость для полоскания рта в соответствии с настоящим изобретением содержит хлоргексидин в форме глюконата хлоргексидина.

Жидкость для полоскания рта в соответствии с настоящим изобретением содержит ДНК натрия.

Предпочтительно в жидкости для полоскания рта количество ДНК натрия находится в диапазоне от 0,01% до 0,2%, более предпочтительно от 0,05% до 0,1% по массе по отношению к общему объему жидкости для полоскания рта.



ДНК натрия, подходящая для целей настоящего изобретения, является коммерчески доступной, например, под торговым названием Kalinat aw Powder (Kalichem). Указанное количество ДНК натрия действительно оказалось оптимальным для противодействия раздражающему эффекту хлоргексидина на слизистую оболочку полости рта, оказывая на нее защитное действие и заживляющее действие на возможные раны в полости рта, тем самым способствуя также правильной трофике самой слизистой оболочки полости рта.

Предпочтительно жидкость для полоскания рта в соответствии с настоящим изобретением содержит по меньшей мере одну метабисульфитную соль щелочного или щелочноземельного металла.

Присутствие по меньшей мере одной метабисульфитной соли щелочного или щелочноземельного металла нейтрализует недостаток, заключающийся в темной пигментации на зубах, побочном эффекте хлоргексидина.

Предпочтительно по меньшей мере одну метабисульфитную соль щелочного или щелочноземельного металла выбирают из группы, состоящей из: метабисульфита натрия, метабисульфита калия, метабисульфита кальция. Более предпочтительно жидкость для полоскания рта в соответствии с настоящим изобретением содержит метабисульфит натрия.

Предпочтительно в жидкости для полоскания рта в соответствии с настоящим изобретением количество по меньшей мере одной метабисульфитной соли щелочного или щелочноземельного металла находится в диапазоне от 0,1% до 0,5%, более предпочтительно от 0,15% до 0,3% по массе по отношению к общему объему жидкости для полоскания рта.

Предпочтительно жидкость для полоскания рта в соответствии с настоящим изобретением содержит аскорбиновую кислоту.

Предпочтительно количество аскорбиновой кислоты в жидкости для полоскания рта в соответствии с настоящим изобретением находится в диапазоне от 0,1% до 1,0% по массе по отношению к общему объему жидкости для полоскания рта.

Присутствие аскорбиновой кислоты нейтрализует недостаток, заключающийся в темной пигментации на зубах, побочном эффекте хлоргексидина.

Предпочтительно жидкость для полоскания рта в соответствии с настоящим изобретением содержит аскорбиновую кислоту и по меньшей мере одну метабисульфитную соль щелочного или щелочноземельного металла, даже более предпочтительно от 0,1% до 0,5% по массе по меньшей мере одной метабисульфитной соли щелочного или щелочноземельного металла и от 0,1% до 1,0% по массе

аскорбиновой кислоты по отношению к общему объему жидкости для полоскания рта.

Указанная комбинация компонентов в указанных количествах оказалась оптимальной для нейтрализации побочного эффекта хлоргексидина, представляющего темную пигментацию на зубах.

Предпочтительно жидкость для полоскания рта в соответствии с настоящим изобретением содержит трехосновный цитрат натрия.

Предпочтительно в жидкости для полоскания рта в соответствии с настоящим изобретением количество трехосновного цитрата натрия находится в диапазоне от 0,8% до 2,0%, более предпочтительно от 0,8% до 1,2% по массе по отношению к общему объему жидкости для полоскания рта.

Присутствие трехосновного цитрата натрия в указанных количествах выгодным образом позволяет регулировать рН жидкости для полоскания рта до оптимальных значений для ее использования.

В предпочтительном варианте осуществления жидкость для полоскания рта в соответствии с настоящим изобретением содержит аскорбиновую кислоту и трехосновный цитрат натрия. Более предпочтительно жидкость для полоскания рта в соответствии с настоящим изобретением содержит от 0,1% до 1% по массе аскорбиновой кислоты по отношению к общему объему жидкости для полоскания рта и от 0,8% до 2,0% по массе трехосновного цитрата натрия по отношению к общему жидкости для полоскания рта.

Действительно, неожиданно было обнаружено, что указанная комбинация аскорбиновой кислоты и трехосновного цитрата натрия позволяет стабилизировать состав жидкости для полоскания рта в соответствии с настоящим изобретением.

Предпочтительно жидкость для полоскания рта в соответствии с настоящим изобретением содержит по меньшей мере один сополимер поливинилпирролидона и винилацетата. Сополимеры поливинилпирролидона и винилацетата, подходящие для целей настоящего изобретения, коммерчески доступны, например, под торговым названием Luviskol® (BASF SE).

По меньшей мере один сополимер поливинилпирролидона и винилацетата выгодным образом проявляет пленкообразующее и препятствующее образованию зубного налета действие в жидкости для полоскания рта в соответствии с настоящим изобретением.

Предпочтительно количество по меньшей мере одного сополимера поливинилпирролидона и винилацетата в жидкости для полоскания рта в соответствии с настоящим изобретением находится в диапазоне от 0,05% до 1%, более предпочтительно

от 0,3% до 1% по массе по отношению к общему объему жидкости для полоскания рта.

В предпочтительном варианте осуществления продукт для ухода за полостью рта в соответствии с настоящим изобретением представляет собой жидкость для полоскания рта, содержащую от 0,01% до 0,30% по массе хлоргексидина, от 0,01% до 0,2%, более предпочтительно от 0,01% до 0,1% по массе ДНК натрия, от 0,1% до 0,5% по массе по меньшей мере одной метабисульфитной соли щелочного или щелочноземельного металла, от 0,1% до 1,0% по массе аскорбиновой кислоты, от 0,05% до 1%, более предпочтительно от 0,3% до 1% по массе по меньшей мере одного сополимера поливинилпирролидона и винилацетата по отношению к общему объему жидкости для полоскания рта.

Жидкость для полоскания рта в соответствии с настоящим изобретением может содержать один или несколько других возможных ингредиентов, известных в данной области для растворов для ухода за полостью рта.

В частности, жидкость для полоскания рта в соответствии с настоящим изобретением может дополнительно содержать одну или несколько добавок, выбранных из группы, которая состоит из: подсластителей, ароматизаторов, смачивающих агентов, консервантов, эмульгаторов, регуляторов pH, пищевых красителей.

В качестве подсластителей жидкость для полоскания рта в соответствии с настоящим изобретением может, например, содержать ксилит, сахаринат натрия, ацесульфам калия, сукралозу, экстракт стевии.

В качестве ароматизаторов жидкость для полоскания рта в соответствии с настоящим изобретением может, например, содержать мяту перечную, ментол, анетол, мяту кудрявую, корицу, гвоздику, эвкалиптол.

В качестве смачивающих агентов жидкость для полоскания рта в соответствии с настоящим изобретением может, например, содержать пропиленгликоль, сорбит, глицерин.

В качестве консервантов жидкость для полоскания рта в соответствии с настоящим изобретением может, например, содержать бензоат натрия, метилизотиазолинон.

В качестве солюбилизирующих поверхностно-активных веществ жидкость для полоскания рта в соответствии с настоящим изобретением может, например, содержать: гидрогенизированное касторовое масло Peg 40, Poloxamer 407.

В качестве регуляторов pH жидкость для полоскания рта в соответствии с настоящим изобретением может, например, содержать цитрат натрия, лимонную кислоту.

В качестве красителей жидкость для полоскания рта в соответствии с настоящим изобретением может, например, содержать CI 19140, CIU 42090, CI 17200.

Жидкость для полоскания рта в соответствии с настоящим изобретением успешно

изготавливают известным способом в форме раствора или суспензии в подходящей среде растворителя, предпочтительно в воде.

В соответствии с предпочтительным вариантом осуществления жидкость для полоскания рта в соответствии с изобретением содержит следующие компоненты:

1. вода;
2. ксилит;
3. пропиленгликоль;
4. гидрогенизированное касторовое масло PEG 40;
5. аскорбиновую кислоту;
6. диглюконат хлоргексидина;
7. сополимер поливинилпирролидона и винилацетата;
8. ДНК натрия;
9. ароматизатор;
10. Poloxamer 407;
11. метабисульфит натрия;
12. цитрат натрия;
13. лимонная кислота;
14. С.І. 42090;
15. С.І. 17200.

В еще одном предпочтительном варианте осуществления продукт для ухода за полостью рта в соответствии с настоящим изобретением представляет собой пародонтальный гель, содержащий хлоргексидин и ДНК натрия.

В соответствии с предпочтительным вариантом осуществления пародонтальный гель в соответствии с изобретением содержит следующие компоненты:

1. вода;
2. пропиленгликоль;
3. гидроксиэтилцеллюлоза;
4. сополимер поливинилпирролидона и винилацетата;
5. гидрогенизированное касторовое масло PEG 40;
6. диглюконат хлоргексидина;
7. ацетат натрия;
8. ДНК натрия;
9. ментол;
10. масло перечной мяты;
11. уксусная кислота;

12. метабисульфит натрия;
13. аскорбиновая кислота.

Предпочтительно пародонтальный гель в соответствии с настоящим изобретением содержит от 0,5% по массе до 1,0% по массе хлоргексидина по отношению к общему объему пародонтального геля.

Предпочтительно пародонтальный гель в соответствии с настоящим изобретением содержит ДНК натрия в максимальном количестве, составляющем 0,3%, более предпочтительно от 0,01% до 0,3% по массе по отношению к общей массе пародонтального геля.

В еще одном предпочтительном варианте осуществления продукт для ухода за полостью рта в соответствии с настоящим изобретением представляет собой зубную пасту, содержащую хлоргексидин и ДНК натрия.

В соответствии с предпочтительным вариантом осуществления зубная паста в соответствии с изобретением содержит следующие компоненты:

1. сорбитол;
2. вода;
3. кремний (гидратированный кремний);
4. глицерин;
5. ксилит;
6. кокамидопропилбетаин;
7. сополимер поливинилпирролидона и винулацетата;
8. гидрогенизированное касторовое масло PEG 40;
9. ароматизатор;
10. диглюконат хлоргексидина;
11. карбоксиметилцеллюлоза;
12. аскорбиновая кислота;
13. метабисульфит натрия;
14. ДНК натрия;
15. сахарин натрия;
16. бензоат натрия;
17. цитрат натрия.

Предпочтительно зубная паста в соответствии с настоящим изобретением содержит от 0,05% по массе до 0,2% по массе хлоргексидина по отношению к общему объему зубной пасты.

Предпочтительно в зубной пасте в соответствии с изобретением необязательно

может присутствовать по меньшей мере один неорганический фторид.

Предпочтительно в зубной пасте в соответствии с настоящим изобретением количество ДНК натрия находится в диапазоне от 0,01% до 0,05% по массе по отношению к общему объему зубной пасты.

В еще одном аспекте настоящее изобретение относится также к применению продукта для ухода за полостью рта в соответствии с настоящим изобретением в качестве агента против раздражения слизистой оболочки полости рта.

В еще одном аспекте настоящее изобретение относится также к применению продукта для ухода за полостью рта в соответствии с настоящим изобретением в качестве заживляющего агента для слизистой оболочки полости рта.

Предпочтительно указанная слизистая оболочка полости рта включает ткань пародонта.

Фактически, было обнаружено, что благодаря ассоциации ДНК натрия с хлоргексидином продукт для ухода за полостью рта в соответствии с настоящим изобретением нейтрализует раздражающий эффект последнего на слизистую оболочку полости рта, проявляя в отношении нее защитное действие и заживляющее действие на возможные раны в полости рта.

Также было обнаружено, что ассоциация ДНК натрия с хлоргексидином позволяет также ограничить побочные эффекты длительного применения продуктов для ухода за полостью рта на основе хлоргексидина, которые включают изменения клеточной структуры, включая вакуолизацию, дегенерацию ядра клетки и расширение межклеточные пространства, тем самым устраняя одно из связанных с применением и функциональных ограничений на указанные продукты.

Таким образом, настоящее изобретение предпочтительно также относится к применению продукта для ухода за полостью рта в соответствии с настоящим изобретением в способе лечения по меньшей мере одной патологии, выбранной из группы, состоящей из: гингивита, бактериального зубного налета и пародонтита.

Кроме того, неожиданно было обнаружено, что продукт для ухода за полостью рта в соответствии с настоящим изобретением также является эффективным при лечении периимплантного мукозита. Следовательно, в следующем своем аспекте настоящее изобретение также относится к применению продукта для ухода за полостью рта в соответствии с настоящим изобретением в способе лечения периимплантного мукозита.

В следующем своем аспекте настоящее изобретение относится к применению ДНК натрия в способе лечения патологии слизистой оболочки полости рта, где указанная патология влечет за собой изменение клеточной структуры указанной слизистой оболочки

полости рта, при этом указанное изменение клеточной структуры выбрано из группы, состоящей из: вакуолизации, дегенерации ядра клетки, расширения межклеточных пространств.

Действительно, неожиданно было обнаружено, что ДНК натрия оказывает защитное действие на клеточную структуру слизистой оболочки полости рта, способна противодействовать началу и прогрессированию ее изменений, включая вакуолизацию, дегенерацию ядра клетки и расширение межклеточных пространств.

Предпочтительно указанная слизистая оболочка полости рта включает ткань пародонта.

Заявитель также обнаружил, что указанное защитное действие ДНК натрия позволяет терапевтически воздействовать на клеточные изменения слизистой оболочки полости рта любой этиологии, например, путем ограничения побочных эффектов лечения активными компонентами, которые являются особенно агрессивными по отношению к клеточной структуре слизистых оболочек полости рта, такими как, например, хлоргексидин.

Заявитель обнаружил, что лечение побочных эффектов хлоргексидина представляет собой инновационный аспект, имеющий особую ценность в свете вышеупомянутых связанных с применением и функциональных ограничений на применение продуктов для ухода за полостью рта на основе хлоргексидина.

Таким образом, в еще одном своем аспекте настоящее изобретение также относится к ДНК натрия для применения в способе лечения побочных эффектов хлоргексидина у пациента, получающего лечение хлоргексидином, где указанные побочные эффекты влекут за собой изменение клеточной структуры слизистой оболочки полости рта указанного пациента, при этом указанное изменение клеточной структуры выбрано из группы, состоящей из вакуолизации, дегенерации ядра клетки, расширения межклеточных пространств.

Предпочтительно указанная слизистая оболочка полости рта включает ткань пародонта.

### **ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ.**

Теперь изобретение будет описано с помощью некоторых примеров, которые следует рассматривать в целях иллюстрации, не ограничивающей его.

#### **Пример 1**

##### **Материалы и способы**

Все используемые реагенты, культуральные среды и одноразовые материалы получали от фирмы Merck (E.Merck AG, Darmstadt, Germany). Образцы

реконструированного эпителия полости рта человека (далее «ROE») размером 0,5 см<sup>2</sup> (SkinEthic HOE™/Human oral epithelium) получали от фирмы EPISKIN (EPISKIN, Lyon Cedex 7, France). ДНК натрия (далее «NaDNA», Kalinat® AW) получали от фирмы KALICHEM (Kalichem, Brescia, Italy).

Тестировали следующие растворы для полоскания рта, не содержащие консервантов:

А. жидкость для полоскания рта, содержащая 0,2% по массе хлоргексидина по отношению к общему объему жидкости для полоскания рта (положительный контроль);

В. жидкость для полоскания рта, содержащая 0,2% по массе хлоргексидина и 0,01% по массе NaДНК по отношению к общему объему жидкости для полоскания рта (тестируемая);

С. жидкость для полоскания рта, содержащая 0,01% по массе NaДНК по отношению к общему объему жидкости для полоскания рта);

Д. фосфатно-солевой буферный раствор (PBS, отрицательный контроль).

#### Реконструированный эпителий полости рта человека (ROE)

Использовали 32 образца ROE. Образцы ROE открывали под вытяжным шкафом в присутствии стерильного воздушного потока. Образцы содержались в 24-луночных переносных планшетах, содержащих среду с питательным веществом агарозой. Образцы извлекали из переносных планшетов и удаляли агарозу. Затем образцы помещали в 6-луночные планшеты с питательной средой (среда RPMI 1640 с добавлением 20% фетальной бычьей сыворотки, 1% L-глутамин и 1% пенициллина/стрептомицина). Перед тестом культуральные планшеты инкубировали в течение ночи при 37 °C в атмосфере CO<sub>2</sub> при 5% и 100% относительной влажности.

#### Биореактор

Тесты осуществляли в двух коммерчески доступных биореакторах Drip Flow (DFR 110; BioSurface Technologies, Vozeman, MT, USA), приспособленных для размещения лотков, содержащих образцы на дне проточных ячеек, и способных погружать образцы ROE в окружающую циркулирующую среду. Это позволило использовать питательную среду при постоянной скорости потока.

Все лотки биореакторов, содержащие тестовые пробирки и образцы, стерилизовали перед началом эксперимента с использованием химиокава с технологией плазмы паров (Gas Plasma) перекиси водорода (Sterrad, ASP, Irvine, CA, USA). Путем ограничения максимальной температуры до 45 °C, удалось избежать повреждений, вызываемых нагревом всей системы. После стерилизации биореакторы затем собирали внутри стерильного вытяжного шкафа.



### Методики тестирования

На фигуре 1 показано не в масштабе схематическое изображение в поперечном разрезе системы, используемой для проведения экспериментов, на котором в качестве примера показан один из двух биореакторов. Система 1 включает перистальтический насос 11, реактор 10 типа Drop Flow и проточные ячейки 14, 15 и 16, содержащие образцы. Реактор 10 типа Drop Flow оснащен проточной камерой 21, впускным отверстием 12 и сливом 13. Проточная камера 21 выполнена с возможностью содержания текучей среды 20.

Образцы ROE вырезали из их подложки, используя стерильные скальпели и пинцеты, и помещали внутрь биореакторов в восемь проточных ячеек 14, 15 и 16 из политетрафторэтилена (PTFE), каждая из которых содержала четыре отверстия, которые их фиксировали, и подвергали их поверхности воздействию текучей среды 20, содержащей питательную среду (среда RPMI 1640, с добавлением 20% фетальной бычьей сыворотки, 1% L-глутамин и 1% пенициллина/стрептомицина). Все лотки фиксировали к нижней части каждой проточной камеры 21 двух биореакторов 10, работающих параллельно, и сразу же инокулировали новой питательной средой. Затем биореакторы переносили в инкубатор, работающий при 37 °C, 5% CO<sub>2</sub> и относительной влажности 100%. Затем включали многоканальный перистальтический насос 11 с компьютерным управлением (RP-1, Rainin, Emeryville, CA, USA), настраивали на скорость потока 9,6 мл/ч и использовали для обеспечения постоянного потока текучей среды 20, содержащей питательную среду, через проточные ячейки. На фигуре 1 стрелки 17, 18 и 19 схематично указывают направление потока текучей среды 20. Перистальтический насос 11 подает через впускное отверстие 12 реактора 10 текучую среду 20 в проточную камеру 21 двух биореакторов 10, которая вытекает через слив 13.

Через 24 часа насос 11 останавливали, и четыре проточные кюветы 14, 15 и 16, соответственно, обрабатывали растворами для полоскания рта A, B, C и D, по одному для каждой проточной ячейки (10 мл). В каждой проточной ячейке два образца обрабатывали в течение 5 минут, а два других в течение 30 минут, наклоняя биореактор 10 на 25 минут таким образом, чтобы раствор полностью покрывал два нижних образца, а затем возвращая его в горизонтальное положение на оставшиеся 5 минут таким образом, чтобы покрыть все четыре образца. Оставшиеся четыре проточные ячейки 14, 15 и 16 сначала обрабатывали 3%-ным раствором H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> в течение 1 минуты, чтобы вызвать высокий окислительный стресс и повреждение клеток, затем образцы тщательно промывали стерильным PBS в течение 1 минуты, и проточные кюветы 14, 15 и 16 обрабатывали растворами для полоскания рта, тестированными, как указано ранее. И снова в каждой

проточной ячейке два образца обрабатывали растворами для полоскания рта в течение 5 минут, а два других в течение 30 минут.

После этого насос 11 повторно включали для промывания растворов для полоскания рта в течение 60 минут, затем все образцы ROE извлекали из проточных ячеек 14, 15 и 16, сразу же разрезали на 4 равные части с помощью стерильных скальпелей и пинцетов, и обрабатывали следующим образом.

#### Оценка образцов

Образцы ROE каждой обработки подвергали МТТ-тестам на жизнеспособность (n=4), визуализации методом конфокальной лазерной сканирующей микроскопии (CLSM) (n=2) и гистологической оценке (n=2) с использованием оптической микроскопии и электронной микроскопии при визуализации методом просвечивающей электронной микроскопии (ТЕМ).

#### МТТ-тест на жизнеспособность

Выживаемость клеток оценивали с помощью МТТ-теста на жизнеспособность. Дозирование осуществляли следующим образом: готовили два исходных стоковых раствора путем растворения 5 мг/мл 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолия бромид (МТТ) в стерильном PBS и 0,3 мг/мл N-метилфеназиния метилсульфата (PMS) в стерильном PBS. Растворы хранили при 2°C в светостойких флаконах до дня проведения эксперимента, когда готовили новый раствор для измерения (FMS) путем смешивания в соотношении 1:1:8, соответственно, стокового раствора МТТ, стерильного стокового раствора PMS и PBS. Раствор для лизиса (LS) получали путем растворения 10% об./об. додецилсульфата натрия и 50% об./об. диметилформамида в дистиллированной воде. Образцы ROE, подвергнутые МТТ-тесту, помещали в лунки 24-луночного стерильного планшета с плоским дном. После этого в каждую лунку пипеткой вносили 1 мл FMS и планшеты инкубировали при 37°C в световых условиях в течение 1 часа. Во время инкубации транспорт электронов через клеточную мембрану и, в меньшей степени, клеточные системы восстановления оксидов превращали желтую соль МТТ в нерастворимый пурпурный формазан. Превращению способствовал промежуточный акцептор электронов (PMS). Непрореагировавший FMS затем осторожно удаляли из лунок путем аспирации, и кристаллы формазана растворяли путем добавления 1 мл LS в каждую лунку, с последующей инкубацией в условиях естественного освещения в течение 1 часа. Затем из каждой лунки удаляли в общей сложности 100 микролитров суспензии и измеряли оптическую плотность (при 550 нм) с помощью спектрофотометра (Genesys 10-S, Thermo Spectronic, Rochester, NY, USA).

#### Наблюдения CLSM

Визуализацию CLSM выполняли с использованием окрашивания Live/Dead, как описано в Brambilla E, Ionescu A, Mazzoni A, Cadenaro M, Gagliani M, Ferraroni M, Tay F, Pashley D, Breschi L. (2014) Hydrophilicity of dentin bonding systems influences in vitro *Streptococcus mutans* biofilm formation. *Dent Mater.* 30(8): 926-35. Вкратце, образцы ROE, подвергнутые наблюдениям CLSM, окрашивали с использованием набора для микроскопии LIVE/DEAD® Viability Kit (Invitrogen Ltd., Paisley, UK). Флуоресцентно окрашенные живые клетки наблюдали с использованием CLSM (Eclipse Ti2 inverted CLSM, Nikon, Tokyo, Japan). Для каждого образца ROE регистрировали четыре случайно выбранных фрагмента стеков изображений. Изображения помощью конфокального микроскопа получали с использованием объектива Plan Arochromat 20x (NA 0,75) и оцифровывали с использованием фирменного программного обеспечения Nikon с разрешением  $1024 \times 1024$  пикселей, с коэффициентом масштабирования 1,0. Для каждого фрагмента стеков изображений получали реконструкции 3D-рендеринга с использованием программного обеспечения Drishti 3D, как описано в Lindhe J, Heyden G, Svanberg G, Löe H, Rindom Schiøtt C. (1970). Effect of local applications of chlorhexidine on the oral mucosa of the hamster. *J. Periodont. Res.* 5(3): 177-182.

#### Гистологическая оценка

Образцы ROE, подвергнутые гистологическому анализу, фиксировали в течение ночи в свежеприготовленном растворе фиксатора Карновского (2,0% параформальдегида, 2,0% глутаральдегида в 0,1 М натрийкаодилатном буфере).

После промывания в буфере образцы окрашивали 2% OsO<sub>4</sub> и 2% уранилацетата. Затем образцы обезвоживали в растворах ацетона и вводили в смолу Epon-Araldite (Fluka, Italy). Готовили поперечные срезы 0,5 мкм, окрашенные толуидиновым синим, всех образцов из различных экспериментальных групп, и затем наблюдали с помощью оптической микроскопии (программное обеспечение Pro Plus Imaging) при конечном увеличении 1500x и с помощью ТЕМ (микроскоп Zeiss EM10).

#### **Результаты**

##### МТТ-тест

Набор данных, полученных в МТТ-тесте на жизнеспособность, предварительно проверяли на нормальность распределения (критерий Шапиро-Уилка) и гомоскедастичность (критерий Левена). Так как данные не были нормально распределены даже после логарифмического преобразования, выполняли непараметрический анализ с использованием критерия Вилкоксона ( $p < 0,05$ ). На фигуре 2 показаны результаты, полученные на клетках ROE при разном времени обработки растворами А, В, С и D. На фигуре 3 показаны результаты МТТ-теста на жизнеспособность на клетках ROE после

обработки в течение 1 минуты 3%-ным по объему раствором  $H_2O_2$ , и после последующих обработок в течение разного времени растворами А, В, С и D. Как видно на фигуре 2, через 5 минут обработки растворами для полоскания рта наблюдалось значительное снижение жизнеспособности в образцах, обработанных раствором С, по сравнению с раствором В. Значительного изменения жизнеспособности в растворах не было выявлено относительно отрицательного контроля (раствор D). Обработка образцов ROE растворами для полоскания рта в течение 30 минут привела к значительному снижению жизнеспособности для раствора С по сравнению с растворами, содержащими хлоргексидин. Обработка 3%-ным по объему  $H_2O_2$  (фигура 3) привела к общему снижению жизнеспособности. Образцы, обработанные в течение 5 минут, показали значительно более высокую жизнеспособность после обработки раствором А, чем раствором В, но после 30 минут обработки различие между этими двумя растворами значительно сократилось, и жизнеспособность была значительно выше по сравнению с растворами С и D. Кроме того, раствор С показал значительно более высокую жизнеспособность, чем раствор D, что свидетельствует о значительной и положительной активности NaDNA в отношении жизнеспособности клеток.

#### Наблюдения CLSM

Реконструкции с помощью конфокальной микроскопии, полученные после 5-минутной обработки растворами для полоскания рта, не показали различий между группами. Реконструкции образцов после обработки в течение 30 минут показаны на фигуре 4 (образцы после обработки в течение 30 минут растворами А, В, С и D) и на фигуре 5 (образцы после обработки в течение 1 минуты  $H_2O_2$  и последующей обработки в течение 30 минут растворами А, В, С и D).

Образцы, обработанные раствором А и, в меньшей степени, раствором В, показали хорошую сохранность структуры клеток даже в образцах, подвергнутых воздействию перекиси водорода. Отрицательные контрольные образцы (D) показали присутствие мертвых клеток на поверхности и после обработки перекисью водорода на поверхности можно было идентифицировать слой, почти полностью состоящий из мертвых клеток. Образцы, обработанные только NaДНК (раствор С), показали гораздо меньшее количество мертвых клеток, чем в отрицательном контроле, либо в отсутствие, либо в присутствии обработки перекисью водорода.

#### Гистологическая оценка

Срезы ткани ROE (0,5 мкм), полученные после 5-минутной обработки растворами для полоскания рта, не показали различий между группами. Срезы образцов после обработки в течение 30 минут показаны на фигуре 6 (образцы, обработанные растворами

А, В, С и D) и на фигуре 7 (образцы после обработки в течение 1 минуты  $H_2O_2$  и последующей обработки растворами А, В, С и D).

Рассматривая образцы на фигуре 6, отрицательный контроль (D) показал полное сохранение структур тканей. Образцы, обработанные растворами А и, в меньшей степени, В, показали изменения клеточной структуры, такие как вакуолизация, дегенерированное ядро и начальное увеличение межклеточных пространств как во внешнем, так и в базальном слоях. Эти изменения могут быть связаны с активностью хлоргексидина. Фактически, добавление NaДНК в жидкость для полоскания рта с хлоргексидином (раствор В) показало менее интенсивные изменения структуры клеток по сравнению с жидкостью для полоскания рта только с хлоргексидином (раствор А). Образцы, обработанные раствором С, показали те же изменения, но ограничились первым слоем клеток. Обработка перекисью водорода (см. фигуру 7) показала, как и ожидалось, обширное повреждение клеток ROE, такое как выраженная вакуолизация, дегенерированное ядро и расширение межклеточных пространств. Эти изменения были более очевидны в образцах, обработанных отрицательным контролем (D) и раствором А (только хлоргексидин). В образцах, обработанных раствором В, некоторые клетки, которые не проявляли признаков дегенерации, могут быть обнаружены в самых внутренних слоях, где эти клетки, вероятно, были более защищены от активных форм кислорода, генерируемых перекисью водорода, и где NaДНК оказывала действие по минимизации повреждения клеток. Образцы, обработанные жидкостью для полоскания рта С (только NaДНК), показали минимальные признаки клеточной дегенерации.

В заключение, NaДНК продемонстрировала очевидное защитное действие против дегенерации клеток вследствие окислительного стресса и воздействия растворов для полоскания рта, содержащих только хлоргексидин.

### **Пример 2**

Целью этого эксперимента является тестирование эффективности продукта для ухода за полостью рта в соответствии с настоящим изобретением в форме геля при наличии периимплантного мукозита, то есть при наличии кровоточивости при зондировании вокруг имплантата при отсутствии потери поддерживающей костной ткани и патологических карманов (<3 мм).

#### **Отбор пациентов**

Исследование проводили в соответствии с критериями Хельсинкской декларации и принципами надлежащей клинической практики после утверждения Комитетом по этике биомедицинских исследований в Кьети и Пескара. Таким образом, пациентов с периимплантным мукозитом набирали в Department of Medical, Oral and Biotechnological

Sciences с целью оценки контрольных свойств бактериального налета и воспаления.

Отобранных для исследования пациентов включали в исследование в соответствии с принципами, закрепленными в Хельсинкской декларации о проведении научных исследований, и в соответствии со следующими критериями включения:

- у пациентов хорошее здоровье, следовательно, отсутствуют: соответствующие системные заболевания, такие как в первую очередь диабет, иммунные заболевания, гематологические заболевания; новообразования; серьезные инфекционные заболевания, такие как ВИЧ или вирусный гепатит с признаками и/или симптомами печеночной недостаточности; когнитивные трудности; интеллектуальные трудности; двигательный дефицит;

- старше 18 лет;

- участие в эксперименте после конкретного информированного согласия;

Кандидаты, отобранные на предмет наличия имплантата, пораженного мукозитом, определялись по:

- наличию кровоточивости при зондировании при отсутствии потери поддерживающей костной ткани вокруг имплантата;

- отсутствию подвижности имплантата;

- наличию вокруг имплантата кератинизированной десны по меньшей мере 2 мм;

- отсутствию реставраций имплантата, кроме одиночных коронок или мостов из максимум трех элементов;

- отсутствие явных признаков превышения допустимой нагрузки или окклюзионной травмы.

Принципы исключения представляют собой следующие:

- отсутствие полной адентии после операции по имплантации (если после операции нет естественных элементов, невозможно определить зубной налет, показатели кровоточивости);

- некурящие или легкие курильщики (менее 10 сигарет в день);

- хороший уход за полостью рта с низкими уровнями налета и индекса кровоточивости, и отсутствие пародонтальных повреждений на других элементах зубов (FMPS и FMBS  $\leq$  25%);

- пациенты с аллергией на хлоргексидина глюконат или другие компоненты состава и плацебо.

Выбор показателя первичной оценки

Основные цели: Показатель накопления налета: наличие/отсутствие зубного налета

регистрировали на оцениваемых поверхностях.

Выбор показателя вторичной оценки

Регистрация клинических параметров:

- кровоточивость при зондировании («ВОР»): регистрировали наличие/отсутствие кровоточивости при зондировании.

- гингивальный индекс (Loe & Silness 1963): здоровье корневых оболочек зуба регистрировали в соответствии со следующим критерием:

0 = нормальная десна;

1 = легкое воспаление - небольшой отек и изменение цвета при отсутствии кровоточивости при зондировании;

2 = умеренное воспаление - покраснение, отечность тканей и кровоточивость при зондировании;

3 = сильное воспаление - выраженное покраснение, отек, изъязвление и склонность к кровоточивости.

Статистический анализ

Был проведен описательный анализ данных, в котором количественные переменные представлены в виде среднего значения и стандартного отклонения. Для сравнения двух исследуемых групп в отношении количественных переменных использовали t-критерий Стьюдента. Уровень значимости установлен при 5%. Нормальное распределение проверяли с использованием теста Колмогорова-Смирнова ( $p$ -значение  $> 0,05$ ) и путем оценки графиков с 14-дневными переменными отклика.

Фазы эксперимента

Были протестированы следующие гели:

Е. гель, содержащий 0,2% по массе хлоргексидина и 0,01% по массе NaДНК;

Ф. «плацебо» гель, имеющий состав, идентичный гелю Е, но не содержащий ни хлоргексидина, ни NaДНК.

Размер выборки составил 24 пациента, при этом соотношение включения между двумя группами составило 1:1 (12 пациентов в экспериментальной группе).

После регистрации клинических переменных и сеанса ухода за полостью рта каждый пациент получал тюбик с анонимным гелем, шприц и насадку для аппликатора для нанесения (3 раза в день в течение 14 дней). Пациенты, получавшие гель Е (содержащий 0,2% по массе хлоргексидина и 0,01% по массе NaДНК), были идентифицированы как группа А, пациенты, которые получали гель F (гель «плацебо»), были идентифицированы как группа В.

Медицинские осмотры и показатели, подлежащие регистрации во время

последующих осмотров, были установлены следующим образом:

- исходный уровень (время 0, «Т0»);
- 14 дней после операции (время 1, «Т1»).

В фазе Т0 была создана пародонтальная карта для сбора данных по индексу зубного налета, кровоточивости при зондировании и гингивальному индексу в соответствии с клиническим протоколом.

Все пациенты, завершившие фазы клинических исследований Т0 и Т1. Субъектов, в свою очередь, инструктировали о правильных приемах ухода за полостью рта в домашних условиях и повторно оценивали через 14 дней. В фазе Т1 была создана пародонтальная карта для сбора данных по индексу зубного налета, кровоточивости при зондировании и гингивальному индексу в соответствии с клиническими протоколами. За период исследования побочных эффектов зарегистрировано не было. Кроме того, не было никаких нежелательных эффектов или побочных эффектов после введения геля Е или F.

## Результаты

### Показатели первичной оценки

В момент времени Т0 исходные показатели, касающиеся индекса зубного налета, были выявлены на уровне  $2,4 \pm 0,4$  для группы А (гель Е) и  $2,2 \pm 0,5$  для группы В (гель F) ( $p > 0,05$ ). После 2 недель лечения (Т1) измеренный индекс зубного налета составил  $0,5 \pm 0,4$  для группы А (гель Е) и  $1,7 \pm 1,9$  для группы В (гель F) ( $p < 0,05$ ).

### Показатели вторичной оценки

В момент времени Т0 исходные показатели, касающиеся ВОР, были выявлены на уровне  $57,1\% \pm 15,2\%$  для группы А (гель Е) и  $55,3\% \pm 11,7\%$  для группы В (гель F) ( $p > 0,05$ ). После 2 недель лечения (Т1) измеренный показатель ВОР составил  $14,3\% \pm 6,6\%$  для группы А (гель Е) и  $45,4\% \pm 9,8\%$  для группы В (гель F) ( $p < 0,05$ ).

Данные, касающиеся гингивального индекса, измеренного в разные экспериментальные моменты времени: на исходном уровне и в момент времени Т1 после двух недель лечения показаны в таблице 1.

Таблица 1

	Группа А (гель Е)	Группа В (гель F)	Р-значение
Гингивальный индекс Т0	$2,21 \pm 0,51$	$2,35 \pm 0,67$	$p > 0,05$
Гингивальный индекс Т1	$0,82 \pm 0,53$	$1,62 \pm 0,74$	$p < 0,05$



## **Выводы**

В экспериментальный момент времени T1 появляется статистически значимое различие между группой А (гель Е) и группой В (гель F) в отношении параметра первичной оценки зубного налета. Преимущества лечения также очевидны в отношении вторичных индексов кровоточивости при зондировании и гингивального индекса, из которых обнаруживается статистически значимое различие оцениваемых параметров в пользу группы А, подтверждая таким образом эффективность продукта для ухода за полостью рта в соответствии с настоящим изобретением в лечении периимплантного мукозита.

## **Пример 3**

Целью этого эксперимента является клиническая оценка антимикробных и контролирующих зубной налет свойств продукта для ухода за полостью рта в соответствии с настоящим изобретением в форме жидкости для полоскания рта на мягких тканях полости рта через две недели на пациентах с патологией пародонта.

### **Отбор пациентов**

Эксперимент проводили в соответствии с критериями Хельсинкской декларации и принципами надлежащей клинической практики после утверждения Комитетом по этике биомедицинских исследований в Кьети и Пескара. Таким образом, пациентов с заболеваниями пародонта набирали в Department of Medical, Oral and Biotechnological Sciences с целью оценки свойств по контролю бактериального налета и воспаления десен.

Пациентов отбирали в соответствии со следующими критериями включения:

- Пациенты с хроническим пародонтитом с зондированием  $> 3$  мм на количестве, превышающем или равном 20 элементам;
- Некурящие или умеренно курящие пациенты ( $< 10$  сигарет в день).

Критерии исключения представляли собой следующие:

- Пациенты с ортодонтическими аппаратами;
- Непереносимость или аллергия на жидкости для полоскания рта;
- Курение табака и употребление алкоголя;
- Пациенты, подвергающиеся лучевой терапии/химиотерапии в течение менее 5 лет;
- Пациенты с ослабленным иммунитетом;
- Системные, почечные или сердечно-сосудистые заболевания;
- Беременные, кормящие женщины или проходящие курс антибактериальной и противовоспалительной терапии.

Выбор показателя первичной оценки

Общий индекс зубного налета (FMPS): будет регистрироваться наличие/отсутствие налета в 4 местах на зуб, и процентное содержание будет рассчитано по отношению к поверхностям.

Выбор показателя вторичной оценки

Общий индекс кровоточивости (FMBS): наличие/отсутствие кровоточивости будет регистрироваться при зондировании в 4 местах на зуб и процентное содержание будет рассчитано по отношению к поверхностям.

Гингивальный индекс (Loe & Silness 1963): состояние тканей пародонта регистрируется в соответствии со следующим критерием:

0 = нормальная десна;

1 = легкое воспаление - небольшой отек и изменение цвета при отсутствии кровоточивости при зондировании;

2 = умеренное воспаление - покраснение, отечность тканей и кровоточивость при зондировании;

3 = сильное воспаление - выраженное покраснение, отек, изъязвление и склонность к кровоточивости.

Регистрация любых осложнений, нежелательных явлений и выпадений.

Статистический анализ

Распределение данных FMPS, FMBS и GI по экспериментальным группам в разные моменты экспериментального времени, такие как исходный уровень, 1 неделя и 2 недели, оценивали с помощью теста Колмогорова-Смирнова. Значимость данных исследования оценивали по t-критерию Стьюдента для  $p < 0,05$ .

Экспериментальный метод лечения

Были протестированы следующие жидкости для полоскания рта:

G: жидкость для полоскания рта, содержащая 0,2% по массе хлоргексидина и 0,01% по массе NaДНК;

H: жидкость для полоскания рта «плацебо», состав которой идентичен гелю E, но не содержит ни хлоргексидина, ни NaДНК.

Размер выборки составил 54 пациента, при этом соотношение включения между двумя группами составило 1:1 (27 пациентов на экспериментальную группу).

Пациенты, получавшие жидкость для полоскания рта G (содержащую 0,2% по массе хлоргексидина и 0,01% по массе NaДНК), были идентифицированы как группа A, пациенты, получавшие жидкость для полоскания рта H (жидкость для полоскания рта «плацебо»), были идентифицированы как группа B.

### Фазы исследования

Экспериментальная фаза V1. Скрининговое обследование для оценки соответствия пациента критериям отбора и включения в исследование. Утверждение информированного согласия и инструкций по уходу за полостью рта.

Экспериментальная фаза V2 (исходный уровень). Пародонтальная карта с регистрацией общего индекса зубного налета (FMPS), общего индекса кровоточивости (FMBS) и гингивального индекса (GI). Пациентам будет дана упаковка жидкости для полоскания рта в соответствии с распределением в группу исследования (А или В), и будет выполняться полоскание 10 мл. Протокол включал в общей сложности три полоскания в домашних условиях в день (утром и вечером после еды) в течение 2 недель лечения.

Экспериментальная фаза V3 (1 неделя). Контроль с регистрацией следующих индексов FMPS, FMBS и GI.

Экспериментальная фаза V4 (2 недели). Контроль с регистрацией FMPS, FMBS, GI и финишная обработка для удаления возможных образовавшихся пятен.

### Результаты

#### Показатели первичной оценки

Во время фазы V2 было обнаружено, что индекс FMPS на исходном уровне составил  $52,7 \pm 9,2$  для группы А (жидкость для полоскания рта G) и  $58,2 \pm 6,1$  для группы В (жидкость для полоскания рта H) ( $p > 0,05$ ). Через 1 неделю лечения (V3) измеренный индекс FMPS составил  $13,3 \pm 5,6$  для группы А и  $18,7 \pm 4,3$  для группы В ( $p < 0,05$ ). И наконец, через 2 недели лечения (V4) было обнаружено, что индекс FMPS составил  $14,2 \pm 4,1$  для группы А и  $20,3 \pm 5,2$  для группы В ( $p < 0,05$ ).

#### Показатели вторичной оценки

Во время фазы V2 было обнаружено, что исходный уровень индекса FMBS составил  $46,7 \pm 8,7$  для группы А и  $49,2 \pm 6,2$  для группы В ( $p > 0,05$ ). Через 1 неделю лечения (V3) измеренный показатель FMPS составил  $12,7 \pm 4,2$  для группы А и  $18,5 \pm 5,9$  для группы В ( $p < 0,05$ ). И наконец, через 2 недели лечения (V4) FMBS составил  $13,1 \pm 3,2$  для группы А и  $19,8 \pm 4,9$  для группы В ( $p < 0,05$ ).

В таблице 2 представлены данные, относящиеся к гингивальному индексу, измеряемому в различные моменты времени в ходе эксперимента: на исходном уровне, через 1 неделю и через 2 недели.

Таблица 2

	Группа А (жидкость для полоскания рта G)	Группа В (жидкость для полоскания рта Н)	Р значение
Гингивальный индекс V2 (Исходный уровень)	2,85 ± 0,47	2,71 ± 0,51	p> 0,05
Гингивальный индекс V3 (1 неделя)	1,14 ± 0,55	1,75 ± 0,49	p<0,05
Гингивальный индекс V4 (2 недели)	1,09 ± 0,44	1,96 ± 0,39	p<0,05

### Выводы

Уже во время фазы V3 эксперимента статистически значимое различие возникало между группой А и группой В в отношении первичного параметра FMPS. Указанное различие подтверждалось после двух недель лечения, когда средние уровни индекса FMPS оставались ниже 20% в группе А. При этом преимущества лечения также очевидны в отношении вторичных индексов FMBS и гингивального индекса, которые показали статистически значимое изменение клинических параметров в пользу группы А, доказательства, коррелирующие с благоприятным эффектом, вызываемым продуктом для ухода за полостью рта в соответствии с изобретением на гингивальные ткани у субъектов, подвергающихся лечению.

**ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ**

1. Продукт для ухода за полостью рта, содержащий хлоргексидин и ДНК натрия.
2. Продукт для ухода за полостью рта по п. 1, выбранный из группы, состоящей из жидкости для полоскания рта, пародонтального геля и зубной пасты.
3. Продукт для ухода за полостью рта по п. 2, где указанный продукт представляет собой жидкость для полоскания рта, и количество хлоргексидина находится в диапазоне от 0,01% до 0,30% по массе по отношению к общему объему жидкости для полоскания рта.
4. Продукт для ухода за полостью рта по п. 2 или 3, где указанный продукт представляет собой жидкость для полоскания рта, и хлоргексидин находится в форме соли или комплекса.
5. Продукт для ухода за полостью рта по любому из пп. 2-4, где указанный продукт представляет собой жидкость для полоскания рта, и количество ДНК натрия находится в диапазоне от 0,01% до 0,2% по массе по отношению к общему объему жидкости для полоскания рта.
6. Продукт для ухода за полостью рта по любому из пп. 2-5, где указанный продукт представляет собой жидкость для полоскания рта, содержащую по меньшей мере одну метабисульфитную соль щелочного или щелочноземельного металла.
7. Продукт для ухода за полостью рта по любому из пп. 2-6, где указанный продукт представляет собой жидкость для полоскания рта, содержащую аскорбиновую кислоту.
8. Продукт для ухода за полостью рта по любому из пп. 2-7, где указанный продукт представляет собой жидкость для полоскания рта, содержащую по меньшей мере один сополимер поливинилпирролидона и винилацетата.
9. Продукт для ухода за полостью рта по любому из пп. 2-8, где указанный продукт представляет собой жидкость для полоскания рта, содержащую трехосновный цитрат натрия.
10. Продукт для ухода за полостью рта по любому из пп. 2-9, где указанный продукт представляет собой жидкость для полоскания рта, содержащую от 0,01% до 0,30% по массе хлоргексидина, от 0,01% до 0,2% по массе ДНК натрия, от 0,1% до 0,5% по массе по меньшей мере одной метабисульфитной соли щелочного или щелочноземельного металла, от 0,1% до 1,0% по массе аскорбиновой кислоты, от 0,05% до 1% по массе по меньшей мере одного сополимера поливинилпирролидона и

винилацетата по отношению к общему объему жидкости для полоскания рта.

11. Продукт для ухода за полостью рта по п. 2, где указанный продукт представляет собой пародонтальный гель, содержащий от 0,5% до 1,0% по массе хлоргексидина по отношению к общему объему пародонтального геля.

12. Продукт для ухода за полостью рта по п. 2 или 11, в котором указанный продукт представляет собой пародонтальный гель, содержащий ДНК натрия в количестве не более 0,3% по массе по отношению к общей массе пародонтального геля.

13. Продукт для ухода за полостью рта по п. 2, где указанный продукт представляет собой зубную пасту, содержащую от 0,05% до 0,2% по массе хлоргексидина по отношению к общему объему зубной пасты.

14. Продукт для ухода за полостью рта по п. 2 или 13, где указанный продукт представляет собой зубную пасту, содержащую ДНК натрия в количестве от 0,01% до 0,05% по массе по отношению к общему объему зубной пасты.

15. Продукт для ухода за полостью рта по любому из пп. 1-14 для применения в качестве агента против раздражения слизистой оболочки полости рта.

16. Продукт для ухода за полостью рта по любому из пп. 1-14 для применения в качестве агента, заживляющего слизистую оболочку полости рта.

17. Продукт для ухода за полостью рта по любому из пп. 1-14 для применения в способе лечения по меньшей мере одной патологии, выбранной из группы, состоящей из: гингивита, бактериального налета и пародонтита.

18. Продукт для ухода за полостью рта по любому из пп. 1-14 для применения в способе лечения периимплантного мукозита.

19. ДНК натрия для применения в способе лечения патологии слизистой оболочки полости рта, где указанная патология влечет за собой изменение клеточной структуры указанной слизистой оболочки полости рта, при этом указанное изменение клеточной структуры выбрано из группы, состоящей из: вакуолизации, дегенерации ядра клетки, расширения межклеточных пространств.

20. ДНК натрия для применения в способе лечения побочных эффектов хлоргексидина у пациента, подвергаемого лечению хлоргексидином, при этом такие побочные эффекты влекут за собой изменение клеточной структуры слизистой оболочки полости рта указанного пациента, при этом указанное изменение клеточной структуры выбрано из группы, состоящей из вакуолизации, дегенерации ядра клетки, расширения межклеточных пространств.

**ИЗМЕНЁННАЯ ПО СТ. 34 РСТ ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ**

1. ДНК натрия для применения в способе лечения побочных эффектов хлоргексидина у пациента, подвергаемого лечению хлоргексидином, при этом такие побочные эффекты влекут за собой изменение клеточной структуры слизистой оболочки полости рта указанного пациента, при этом указанное изменение клеточной структуры выбрано из группы, состоящей из вакуолизации, дегенерации ядра клетки, расширения межклеточных пространств.

2. ДНК натрия для применения по п. 1, при котором указанное лечение хлоргексидином проводят с помощью продукта для ухода за полостью рта, содержащего хлоргексидин и ДНК натрия.

3. ДНК натрия для применения по п. 2, где указанный продукт для ухода за полостью рта, содержащий хлоргексидин и ДНК натрия, выбирают из группы, состоящей из: жидкости для полоскания рта, периодонтального геля и зубной пасты.

4. ДНК натрия для применения по п. 3, где указанный продукт для ухода за полостью рта представляет собой жидкость для полоскания рта и количество хлоргексидина находится в диапазоне от 0,01% до 0,30% по массе по отношению к общему объему жидкости для полоскания рта.

5. ДНК натрия для применения по п. 3 или 4, где указанный продукт для ухода за полостью рта представляет собой жидкость для полоскания рта, и хлоргексидин находится в форме соли или комплекса.

6. ДНК натрия для применения по любому из пп. 3-5, где указанный продукт для ухода за полостью рта представляет собой жидкость для полоскания рта, и количество ДНК натрия находится в диапазоне от 0,01% до 0,2% по массе по отношению к общему объему жидкости для полоскания рта.

7. ДНК натрия для применения по любому из пп. 3-6, где указанный продукт для ухода за полостью рта представляет собой жидкость для полоскания рта, содержащую по меньшей мере одну метабисульфитную соль щелочного или щелочноземельного металла.

8. ДНК натрия для применения по любому из пп. 3-7, где указанный продукт для ухода за полостью рта представляет собой жидкость для полоскания рта, содержащую аскорбиновую кислоту.

9. ДНК натрия для применения по любому из пп. 3-8, где указанный продукт для ухода за полостью рта представляет собой жидкость для полоскания рта, содержащую по меньшей мере один сополимер поливинилпирролидона и винилацетата.

10. ДНК натрия для применения по любому из пп. 3-9, где указанный продукт для ухода за полостью рта представляет собой жидкость для полоскания рта, содержащую трехосновный цитрат натрия.

11. ДНК натрия для применения по любому из пп. 3-10, где указанный продукт для ухода за полостью рта представляет собой жидкость для полоскания рта, содержащую от 0,01% до 0,30% по массе хлоргексидина, от 0,01% до 0,2% по массе ДНК натрия, от 0,1% до 0,5% по массе по меньшей мере одной метабисульфитной соли щелочного или щелочноземельного металла, от 0,1% до 1,0% по массе аскорбиновой кислоты, от 0,05% до 1% по массе по меньшей мере одного сополимера поливинилпирролидона и винилацетата по отношению к общему объему жидкости для полоскания рта.

12. ДНК натрия для применения по п. 3, где указанный продукт для ухода за полостью рта представляет собой пародонтальный гель, содержащий от 0,5 до 1,0% по массе хлоргексидина по отношению к общему объему пародонтального геля.

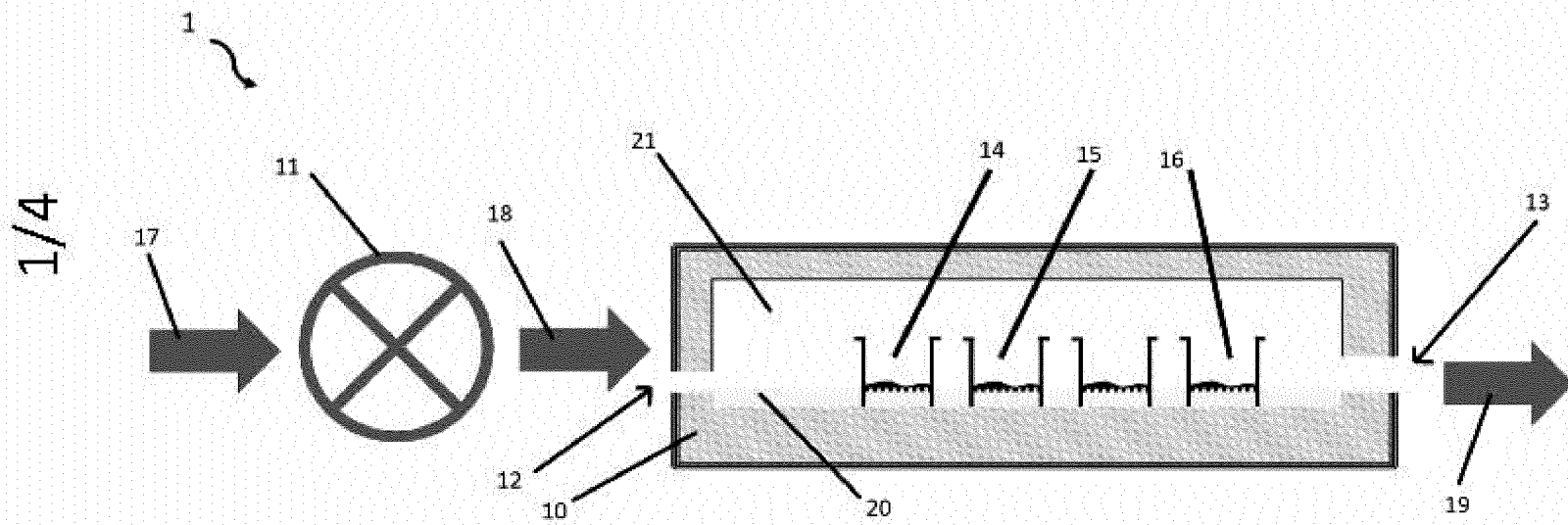
13. ДНК натрия для применения по п. 3 или 12, где указанный продукт для ухода за полостью рта представляет собой пародонтальный гель, содержащий ДНК натрия в количестве не более 0,3% по массе по отношению к общей массе пародонтального геля.

14. ДНК натрия для применения по п. 3, где указанный продукт для ухода за полостью рта представляет собой зубную пасту, содержащую от 0,05% до 0,2% по массе хлоргексидина по отношению к общему объему зубной пасты.

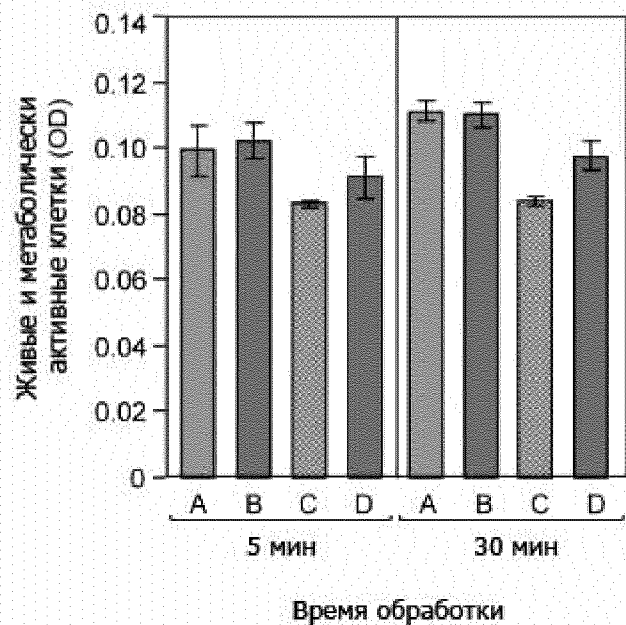
15. ДНК натрия для применения по п. 3 или 14, где указанный продукт для ухода за полостью рта представляет собой зубную пасту, содержащую ДНК натрия в количестве от 0,01% до 0,05% по массе по отношению к общему объему зубной пасты.

16. ДНК натрия для применения по любому из пп. 1-15, где указанное лечение хлоргексидином предназначено для лечения по меньшей мере одной патологии, выбранной из группы, состоящей из гингивита, бактериального налета и пародонтита.

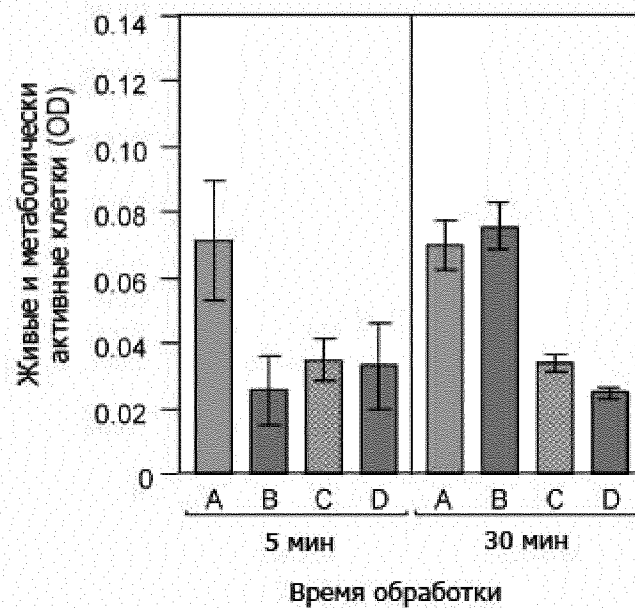




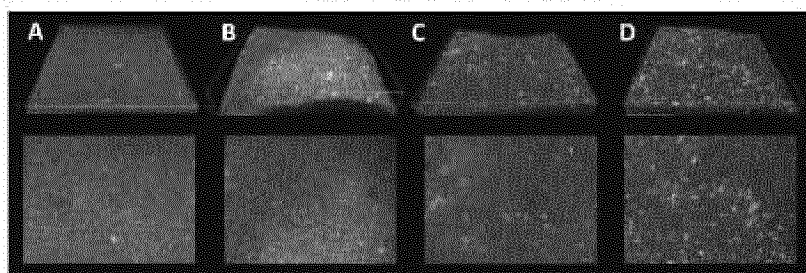
Фиг. 1



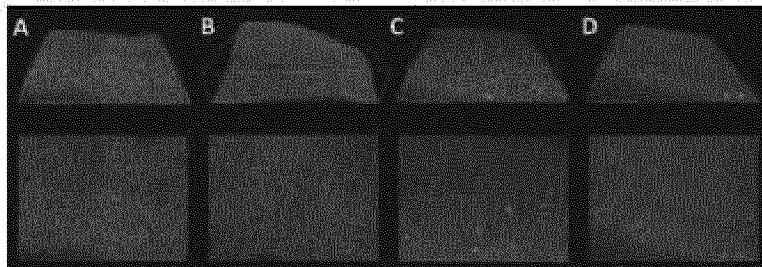
ФИГ. 2



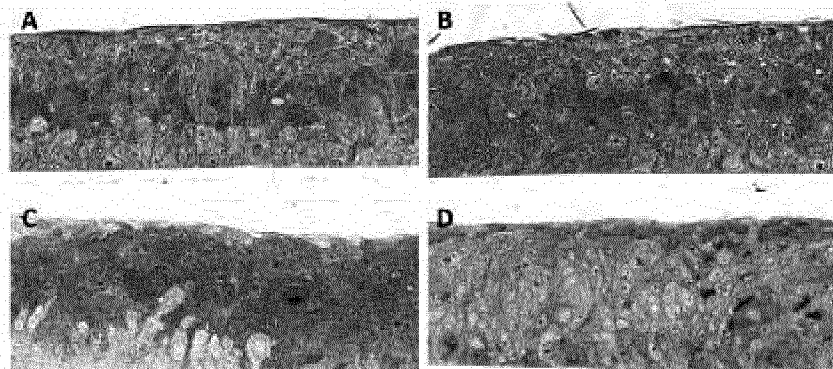
ФИГ. 3



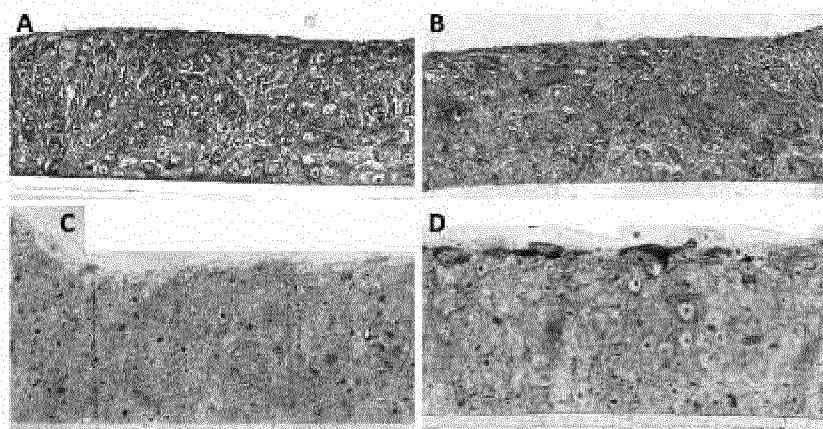
ФИГ. 4



ФИГ. 5



ФИГ. 6



ФИГ. 7