

УДК 615.07.242

<https://www.doi.org/10.34907/JPQAI.2023.81.28.002>

СТАНДАРТИЗАЦИЯ ПЛЕНОК С АЦИЗОЛОМ ДЛЯ ПРОФИЛАКТИКИ И ЛЕЧЕНИЯ КАРИЕСА

А.Л. Голованенко, доктор фарм. наук, профессор кафедры фармацевтической технологии ФГБОУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Минздрава России, г. Пермь, anpagolovanenko@yandex.ru, ORCID 0000-0002-1781-353X

Е.С. Березина, канд. фарм. наук, доцент кафедры фармацевтической химии ФДПО и ФЗО ФГБОУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Минздрава России, г. Пермь, berezina@pfa.ru, ORCID 0000-0002-4122-2414

И.В. Алексеева, доктор фарм. наук, профессор кафедры фармацевтической технологии ФГБОУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Минздрава России, г. Пермь, alekseeva@pfa.ru, ORCID 0000-0003-4357-5974

Одной из перспективных лекарственных форм для профилактики и лечения кариеса являются пленки. Преимущество данной лекарственной формы перед другими стоматологическими средствами заключается в обеспечении длительного действия лекарственных средств.

Результаты исследований последних лет показали эффективность использования ацизола в стоматологических средствах для профилактики и лечения кариеса.

Одним из этапов разработки новых лекарственных препаратов является стандартизация, которая включает валидацию аналитических методик, которые будут использованы в нормативной документации на лекарственный препарат. В статье представлены результаты стандартизации стоматологических пленок с ацизолом по нормируемым показателям качества и исследования по оценке валидационных характеристик методик испытания на подлинность и количественное определение. Для методики испытания на подлинность исследована специфичность, для методики количественного определения оценены такие характеристики,

как специфичность, линейность, правильность, прецизионность (сходимость). Методики модифицированы с учетом специфики лекарственной формы.

Ключевые слова: стандартизация, валидация, ацизол, кариес, пленки

В настоящее время ассортимент лекарственных препаратов (ЛП) для профилактики и лечения кариеса достаточно широк. Однако непрерывное увлажнение ротовой полости, зубов и десен слюной вызывает быстрое вымывание вводимых лекарственных средств (ЛС), поэтому требуется многократное повторное введение препарата. В связи с этим особое внимание уделяется разработке новых лекарственных форм (ЛФ) для профилактики и лечения кариеса, основной характеристикой которых является обеспечение длительного эффекта. Одна из перспективных ЛФ для применения в стоматологической практике – пленки [1–3].

На кафедре фармацевтической технологии Пермской государственной фармацевтической академии (ПГФА) ведутся исследования

по созданию пленок для профилактики и лечения кариеса, содержащих в качестве активной фармацевтической субстанции (АФС) ацизол – бис-(1-винилимидазол) цинкдиацетат. Выбор ацизола обусловлен тем, что растворимые соединения цинка обладают активностью против образования минерализованных зубных отложений и способствуют их удалению. Ионы цинка способны включаться в эмаль в качестве замены ионов кальция в кристаллах гидроксиапатита, усиливая этим реминерализацию эмали, что играет важную роль при патологических состояниях, сопровождающихся уменьшением содержания кальция [4]. Результаты исследований последних лет показали, что применение ацизола курсом путем аппликаций позволит решить проблему профилактики и лечения кариеса [5–7].

На стадии разработки ЛП необходимо проводить стандартизацию, включая валидацию аналитических методик, которые будут включены в нормативную документацию [8,9].

Целью настоящей работы являлась стандартизация пленок с ацизолом, включая валидацию аналитических методик.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Материалы

Объектами исследования являлись три серийных образца пленок. Для стандартизации использовали пленки с активной фармацевтической субстанцией и вспомогательными веществами, разрешенными к медицинскому применению, отвечающие требованиям действующей нормативной документации: АФС – ацизол-бис-(1-винилимидазол) цинкдиацетат (ФС 000286 191211.2011); основной матрицеобразующий компонент – Na-КМЦ С75 (ТУ 2231-002-50277563-2000), глицерол (ФС.2.2.0006.15, ЗАО «Купавна Реактив», Россия, 082019, срок хранения 3 года), вода очищенная (ФС.2.2.0020.18).

Используемые реактивы: дитизона раствор 0,00125% в хлороформе (дитизон ТУ 6-09-07-1684-89, чда, ООО «СКМ», Россия, партия 19, срок годности 3 года); 0,05М раствор натрия эдетата (стандарт – титр 2-водной динатриевой соли этилендиамина N,N,N',N'-тетрауксусной кислоты (трилон Б) 0,1 моль/дм³, АО «Уралхиминвест», Россия, партия 60, 7 лет), 0,005М раствор натрия готовили путем разведения 0,05М раствора непосредственно перед титрованием; аммиачный буферный раствор (аммоний хлористый, ГОСТ 3773-72, чда, «Лен Реактив», Россия, партия 14, срок годности 3 года; аммиак водный, ГОСТ 3760-79, чда, «Сигма Тек», Россия, партия 25, срок годности 1 год); хромовый темно-синий (ТУ 6-09-3870-84, чда, «Реахим», Россия, партия 4, срок годности 3 года).

Оборудование: аналитические весы (AND, «Эй Энд Ди», Корея, HR-150AG); микрометр МК-25 («Калиброн», Россия, МК 0–25, 0,01, 1 кл. точности); линейка ГОСТ 425-75 (ЧИЗ, Россия); преобразователь ионометрический И-500 («Аквилон», Россия, №2549); сушильный шкаф (Jouan, Франция, EU-53, №39 612 546).

Методы

Технологические исследования проведены в соответствии с ОФС.1.4.1.0035.15. Пленки [9]. Стандартизация пленок по технологическим показателям включала определение однородности массы, толщины, размеров сторон, времени растворения, pH, потери в массе при высушивании. Однородность массы дозированных лекарственных форм: *среднюю массу* образца пленок размером 20×10 мм определяли путем взвешивания на аналитических весах 20 пленок с точностью до 0,0001 и вычисления среднего арифметического. Отклонение в массе для пленок до 0,1 г и менее допускается ±10% [9]. *Определение толщины* пленок производили с помощью микрометра. Толщина пленки должна быть не более 0,5 мм. *Размеры сторон* определяли с помощью

линейки (ГОСТ 425-75), они должны соответствовать $20 \times 10 \pm 0,5$ мм. *Время растворения* определяли путем растворения образца пленок размером 20×10 мм в 2,5 мл воды очищенной при комнатной температуре и периодическом встряхивании (5 мин.), не допуская прилипания пленок к стенкам пробирки, секундомером измеряли время до полного растворения пленок.

Определение pH водного раствора пленок проводили потенциометрическим методом по методике ОФС.1.2.1.0004.15. Ионметрия [9]. *Методика:* 0,5 г пленок растворяли в 50 мл воды очищенной при комнатной температуре, перемешивали и регистрировали pH водного раствора на приборе. Значение pH должно быть от 6,5 до 7,5.

Определение потери в массе при высушивании проводили методом высушивания согласно ОФС.1.2.1.0010.15 «Потеря в массе при высушивании» [9]. *Методика:* навеску пленок 0,15 (точная навеска) помещали в предварительно высушенный до постоянной массы бюкс и высушивали до постоянной массы в сушильном шкафу при температуре $100-105^\circ\text{C}$ в течение 5 часов. Взвешивали с точностью до 0,0001 и рассчитывали процентное содержание влаги.

Валидация методик проводилась в соответствии ОФС.1.1.0012.15 «Валидация аналитических методик». Апробацию методики проводили на трех сериях пленок, для каждой серии проведено не менее трех определений, для статической обработки взяты средние результаты [9].

Для подтверждения подлинности ацизола использовали реакцию с раствором дитизона на катион цинка, содержащийся в структуре ЛС в ионном состоянии. Реакция основана на свойстве ионов цинка образовывать с дитизоном внутрикомплексное соединение, хорошо растворимое в органических растворителях (четырехлористый углерод, хлороформ), окрашенное в пурпурно-красный цвет.

Обнаруживаемый минимум, по литературным данным, 5 микрограмм [10]. *Методика:* одну пленку (0,05 г) растворяют в 5 мл воды очищенной, после полного растворения прибавляют 1 мл свежеприготовленного дитизона – раствор 0,00 125% в хлороформе, интенсивно встряхивают, хлороформный слой окрашивается в ярко-розовый цвет. Специфичность методики исследовалась на модельных образцах пленок известного состава (полный состав пленок, плацебо пленок).

Для количественного определения АФС использовали комплексометрический метод, модифицированный с учетом специфики ЛФ [9]. Метод основан на свойстве ионов цинка количественно вступать в реакцию с натрием эдетатом, образуя прочные бесцветные растворимые в воде комплексные соединения при $\text{pH}=10$. Для создания необходимого значения среды добавляли аммиачный буферный раствор, в качестве индикатора использовали хромовый темно-синий. *Методика:* 0,5 г пленок (точная навеска) растворяют в 60 мл воды очищенной, прибавляют 5 мл аммиачного буферного раствора, 0,05 г хромового темно-синего (индикаторная смесь) и титруют натрием эдетата раствором 0,005 М до устойчивого синего окрашивания. Параллельно проводят контрольный опыт.

1 мл натрия эдетата раствора 0,005 М соответствует 0,001 857 г $\text{C}_{14}\text{H}_{18}\text{N}_4\text{O}_4\text{Zn}$.

Содержание ацизола в СТД пленок рассчитывали по формуле:

$$X = \frac{T \times (V - V_{\text{к.о.}}) \times K \times P}{a}$$

где X – содержание ацизола в ЛФ, г; T – титр ацизола по натрию эдетату раствору 0,005 М, г/мл; P – средняя масса пленки (СТД), г; V – объем натрия эдетата раствора 0,005 М, пошедшего на определение, мл; $V_{\text{к.о.}}$ – объем натрия эдетата раствора 0,005 М, пошедшего на контрольный опыт, мл; K – коэффициент

поправки к молярности титранта; а – масса навески ЛФ, г.

Методику количественного определения оценивали по следующим валидационным характеристикам: специфичность, линейность, правильность, прецизионность (сходимость). Специфичность изучалась на модельных смесях известного состава (полный состав пленок, плацебо пленок). Для изучения линейности, аналитической области и правильности готовили модельные смеси, содержащие 80%, 85%, 90%, 95%, 100%, 105%, 110%, 115% и 120% ацизола от заявленного количества. Оценка внутривалораторной прецизионности (воспроизводимости) методики проведена по относительному стандартному отклонению совокупности результатов двух аналитиков [9,12,13].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На кафедре фармацевтической технологии ПГФА в результате ранее проведенных исследований разработан оптимальный состав и технология пленок с ацизолом. Получение пленок осуществлялось методом полива, который обеспечивает возможность включения ЛС в виде раствора в полимер-носитель и – после удаления растворителя – получение гомогенной пленки [11]. После высушивания поливочного раствора пленки представляют собой плоские однородные эластичные пластинки, без цвета, с характерным запахом ацизола. Состав одной пленки (средняя терапевтическая доза 1x2 см): ацизола – 0,001, Na-КМЦ – 0,030, глицерина – 0,020, воды очищенной – до 0,05.

В результате проведенных исследований установлено, что реакция испытания на подлинность с раствором дитизона в хлороформе в пленках, свободных от ацизола (плацебо), характеризуется отрицательным аналитическим сигналом, и на модельных смесях, содержащих

ацизол, – положительным, что свидетельствует о специфичности (селективности) предложенной реакции.

При изучении специфичности методики количественного определения ацизола в пленках установлено, что на титрование пленок, свободных от ацизола (плацебо), расходовалось не более 0,02 мл титранта. Полученные результаты подтверждают специфичность (селективность) методики.

Результаты комплексонометрического определения ацизола в модельных смесях, содержащих 80%, 85%, 90%, 95%, 100%, 105%, 110%, 115% и 120% ацизола от заявленного количества, показали, что аналитическая область валидируемой методики находится в интервале от 80% до 120%, подтверждена линейная зависимость объема титранта (y) от количества ацизола (x) в образце, при обработке данных выведено уравнение зависимости: $y = 3861x - 0,007$. Коэффициент корреляции $R = 0,999$, угловой коэффициент – 3861 (b); свободный член – 0,007 (a) (рис. 1).

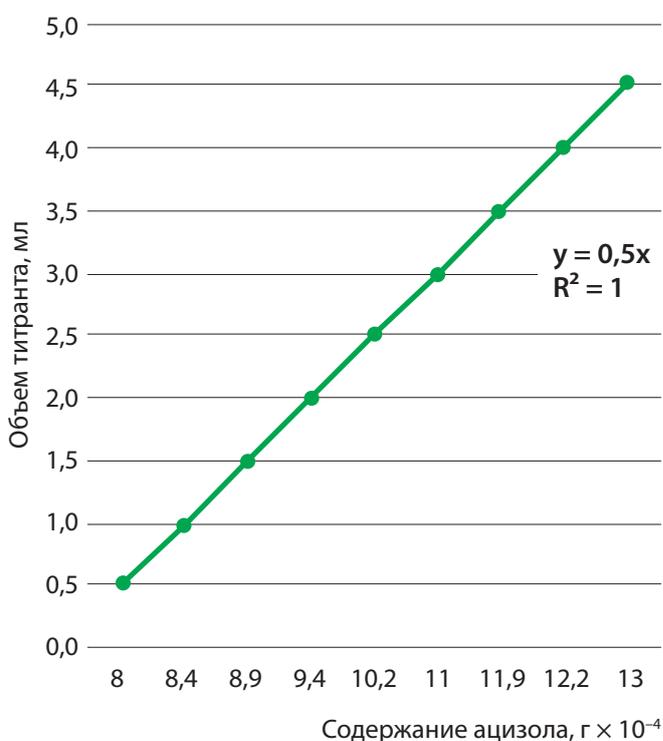


РИС. 1. Изучение линейности методики комплексонометрического определения ацизола в пленках

Таблица 1

РЕЗУЛЬТАТЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ АЦИЗОЛА В МОДЕЛЬНЫХ СМЕСЯХ

Количество в модельной смеси, %	Количество в модельной смеси, г	Количество, найденное по результатам анализа, г	Регенерация, %
80	0,00 080	0,00 090	113
85	0,00 085	0,00 085	100
90	0,00 090	0,00 087	97
95	0,00 095	0,00 087	92
100	0,00 100	0,00 100	100
105	0,00 105	0,00 098	93
110	0,00 110	0,00 100	91
115	0,00 115	0,00 110	96

Для оценки *правильности* валидируемой методики по результатам анализа модельных смесей рассчитан процент регенерации ацизола, среднее значение которого составило 98%, что свидетельствует об удовлетворительной *правильности* валидируемой методики (табл. 1).

В литературе описано несколько способов оценки внутрилабораторной *прецизионности*: по относительному стандартному отклонению совокупности результатов двух химиков (аналитиков), по формуле Горвица или по связанному с ней коэффициенту Хоррата, с использованием критериев Фишера (F) и Стьюдента (t) и др. [13]. Оценка *внутрилабораторной прецизионности (воспроизводимости)* предлагаемой методики проведена по относительному стандартному отклонению совокупности результатов двух химиков

(аналитиков). Относительная ошибка среднего результата составила 4,3%, доверительный интервал $0,00\ 101 \pm 0,00\ 004$, стандартное отклонение результата отдельного определения – 0,00 011 г. Полученные данные свидетельствуют об удовлетворительном уровне *прецизионности (сходимости)* валидируемой методики. Статистическая обработка результатов химического эксперимента представлена в табл. 2 [9].

Стандартизация пленок проведена на трех сериях по нормируемым показателям качества, с использованием валидированных методик испытания на подлинность и количественное определение АФС. Результаты стандартизации пленок представлены в табл. 3.

Полученные данные свидетельствуют о соответствии пленок нормируемым требованиям.

Таблица 2

МЕТРОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ АЦИЗОЛА В ПЛЕНКАХ КОМПЛЕКСОНОМЕТРИЧЕСКИМ МЕТОДОМ

n	f	\bar{X}	S ²	S	P, %	t (P, f)	ΔX	Δ \bar{X}	$\bar{\epsilon}$, %
6	5	0,00101	$1,96 \times 10^{-9}$	$4,43 \times 10^{-5}$	95	2,57	$1,1 \times 10^{-4}$	$4,5 \times 10^{-5}$	4,3%

Таблица 3

РЕЗУЛЬТАТЫ СТАНДАРТИЗАЦИИ ПЛЕНОК

№ серии	Описание плоские, однородные, эластичные пластинки без механических включений, пузырьков, микротрещин, с характерным запахом ацизола, без цвета	Технологические параметры					Подлинность (реакция с дитизона раствором 0,001 25% в хлороформе) пурпурно-красное окрашивание	Количественное определение (комплексометрический метод), г от 0,00080 до 0,00120
		Толщина, мм не более 0,5±0,004	Однородность массы, г до 0,1 г ±10%	Время растворения, мин.	pH 6,5–7,5	Потеря в массе при высушивании, % 6–12		
1	Соотв.	0,148±0,004	0,06907±0,00010	14,00±0,02	7,00±0,05	6,40±0,30	соотв.	0,00090±0,00002
2	Соотв.	0,152±0,004	0,07054±0,00010	15,00±0,02	7,31±0,05	6,91±0,30	соотв.	0,00101±0,00002
3	Соотв.	0,149±0,004	0,07148±0,00010	14,00±0,02	7,27±0,05	6,74±0,30	соотв.	0,00110±0,00002

ВЫВОДЫ

1. Установлено, что валидационные характеристики предложенных методик соответствуют требованиям ОФС.1.1.0012.15 «Валидация аналитических методик».

2. Проведена стандартизация пленок с ацизолом с использованием разработанных методик. Количественное содержание АФС в пленках находится в пределах нормы допустимых отклонений. Установлены технологические показатели: толщина пленок, время растворения, pH, потеря в массе при высушивании, однородность массы.

3. Результаты исследований показали, что методики определения нормируемых показателей качества пленок хорошо воспроизводимы и позволяют осуществлять контроль в процессе изготовления, хранения и могут быть рекомендованы для включения в нормативную документацию.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Голованенко А.Л. Обзор реминерализующих лекарственных средств, применяющихся для профилактики и лечения начального кариеса эмали // Тихоокеанский медицинский журнал. 2018. №2. С. 37–43.
2. Голованенко А.Л., Третьякова Е.В., Березина Е.С., Алексеева И.В. Современный подход к разработке лекарственных форм для проведения реминерализующей терапии // Медицинский альманах. 2017. №2(47). С. 141–145.
3. Сампиев А.М., Никифорова Е.Б., Соновская А.В. Современное состояние исследований в области создания стоматологических пленок // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. 2016. №2–3. С. 293–297.
4. Хоменко Л.А., Биденко Н.В., Остапко Е.И. Современные средства экзогенной профилактики заболеваний полости рта. – Киев: Книга Плюс, 2001. – 208 с.

5. Бабаниязов Х.Х. Опыт изучения фармакологических свойств ацизола в эксперименте и клинике / Х.Х. Бабаниязов, Б.А. Трофимов, И.С. Бобр // Вестник восстановительной медицины. 2008. №5А(28). С. 7–11.
6. Бабаниязова З.Х., Бабаниязов Х.Х., Радионов И.А., Скальный А.В., Бобр И.С. Ацизол в решении проблем цинкдефицитных состояний // Микроэлементы в медицине. 2010. №11(1). С. 25–30.
7. Бобр И.С., Бабаниязов Х.Х., Дмитриева Л.А. Клиническая эффективность ацизола в комплексном лечении хронического генерализованного пародонтита // Микроэлементы в медицине. 2010. №11(1). С. 47–52.
8. Васильева А.Н., Реутская Л.А., Байдуллаева Ш.А., Горячев Д.В., Гавришина Е.В., Ниязов Р.В. Качество лекарственных препаратов: суть вопроса и зарубежный опыт // Ремедиум. 2014. С. 14–24.
9. Государственная фармакопея Российской Федерации XIV издания, Т.1. Т. II [Электронный ресурс] / Режим доступа: <https://femb.ru/record/pharmasorea14> свободный (дата обращения: 26.01.2023).
10. Живописцев В.П., Селезнева Е.А. Аналитическая химия цинка // Серия «Аналитическая химия элементов» АН СССР. – М: Наука. – 1975. С. 33–35, 57–58.
11. Голованенко А.Л., Третьякова Е.В., Алексеева И.В., Березина Е.С. Разработка технологии пленок лекарственных реминерализующего действия // Журнал научных статей «Здоровье и образование в XXI веке». 2017. Т. 19, №6. С. 138–141.
12. Арзамасцев А.П., Садчиков Н.П., Харитонов Ю.Я. Валидация аналитических методик // Фармация. 2014. №4. С. 8–12.
13. Эпштейн Н.А. Определение внутрилабораторной прецизионности (воспроизводимости) при валидации методик в фармации // Разработка и регистрация лекарственных средств. 2016. №1(14). С. 106–117.

STANDARDIZATION OF FILMS WITH ACYZOL FOR THE PREVENTION AND TREATMENT OF CARIES

A.L. Golovanenko, E.S. Berezina, I.V. Alexeeva

Perm State Pharmaceutical Academy, Perm, Russia

One of the promising dosage forms for the prevention and treatment of caries are films. The advantage of this dosage form over other dental products is to ensure a long-term effect of drugs.

The results of recent studies have shown the effectiveness of the use of acyzol in dental products for the prevention and treatment of caries.

One of the stages in the development of new drugs is standardization, which includes the validation of analytical methods that will be used in the regulatory documentation for the drug. The article presents the results of standardization of dental films with acyzol according to standardized quality indicators and a study to evaluate the validation characteristics of test methods for «Authenticity» and «Quantitative determination». Specificity was studied for the «Identity» test method, and such characteristics as specificity, linearity, correctness, precision (convergence) were evaluated for the quantitative determination method. The methods are modified into account the specifics of the dosage form.

Keywords: standardization, validation, azizol, caries, films