

УДК: 615.07.242.454

<https://www.doi.org/10.34907/JPQAI.2020.90.55.004>

СТАНДАРТИЗАЦИЯ СПРЕЯ РЕМИНЕРАЛИЗУЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ

А.Л. Голованенко, канд. фарм. наук, доцент кафедры фармацевтической технологии ФГБОУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия», г. Пермь, anpagolovanenko@yandex.ru

Е.С. Березина, канд. фарм. наук, доцент кафедры фармацевтической химии ФДПО и ФЗО ФГБОУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия», г. Пермь, berezina@pfa.ru

И.В. Алексеева, доктор фарм. наук, профессор кафедры фармацевтической технологии ФГБОУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия», г. Пермь, alekseeva@pfa.ru

В статье приведены результаты стандартизации спрея реминерализующего действия по показателям «Подлинность» и «Количественное определение действующих веществ», «Уровень рН», «Вязкость» и «Микробиологическая чистота». В работе использовали химические и физико-химические методы, модифицированные с учетом специфики лекарственной формы. Все методики, апробированные на лабораторных сериях спрея, показали хорошо воспроизводимые результаты и включены в нормативную документацию, регламентирующую технологию и контроль качества спрея реминерализующего действия.

Ключевые слова: стандартизация, реминерализация, спрей, кальция хлорид, калия фосфат двузамещенный, натрия фторид

Перспективными для применения в реминерализующей терапии являются аппликационные лекарственные формы (ЛФ) на основе полимеров, смоделированные по фосфорно-кальциевому коэффициенту и степени перенасыщенности Са и Р, разработанные с учетом основных требований реминерализующей терапии [9].

В настоящее время на российском стоматологическом рынке представлены преиму-

щественно спреи для увлажнения полости рта при гипосалии и ксеростомии. Небольшой ассортимент спреев на основе высокомолекулярных соединений для профилактики и лечения кариеса свидетельствует о целесообразности их разработки и более широкого внедрения в стоматологическую практику [1].

Спрей, обладая преимуществами аэрозольной упаковки, лишен недостатков, связанных с применением флаконов под повышенным давлением и использованием пропеллентов в качестве газа-носителя, как то: сравнительно высокая стоимость, сложность, опасность, возможность взрыва баллона при ударе или хранении в неправильном температурном режиме, высокая воспламеняемость, пожаро- и взрывоопасность, неудобство при транспортировке, отрицательное влияние хладонов на озоновый слой Земли [6,7,10,12].

Особенности проведения контрольных испытаний разработанного спрея связаны с сочетанием активных компонентов, склонных к взаимодействию между собой, и с трудностью разделения вследствие их одинаковой растворимости в средах, используемых в анализе [2,3,11].

Целью настоящего исследования являлась стандартизация спрея реминерализующего действия.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве активных фармацевтических субстанций использованы: кальция хлорид (ФС 42-006-5675-04 P.003964.01, ОАО «Химзавод им. Л.Я. Карпова», г. Менделеевск, Республика Татарстан, 200916, срок хранения 3 года), калия фосфат двузамещенный (ФС 42-4297-79, ЗАО «Ленреактив», г. Санкт-Петербург, 101016, срок хранения 3 года), натрия фторид (ФС 2.2.0013.15, «Реахим», г. Москва, 201117, срок хранения 3 года); гелеобразователь: метилцеллюлоза-35 (ТУ 2231-107-57684455-2003, АО «УЗПХ», г. Магнитогорск, 221216, срок хранения 3 года); пластификаторы: глицерин (ФС 2.2.0006.15, ЗАО «Купавна Реактив», г. Старая Купавна 082016, срок хранения 3 года), полиэтиленоксид-400 (ТУ 2483-167-05757587-2000, ООО «ВитаХим», г. Казань, 141116); вода очищенная (ФС 2.2.0020.18).

Объектом исследования являлись пять серийных образцов спрея. Разработка новых ЛП требует простых, селективных, высокоточных и объективных методов исследования лекарственных средств (ЛС), позволяющих осуществлять стандартизацию их как в момент получения, так и в процессе хранения. В работе использованы химические и физико-химические методы анализа, модифицированные с учетом специфики ЛФ.

Исследования по доказательству подлинности и количественному определению активных компонентов в спрее, включая изучение валидационных характеристик методик, проводились на базе РИЦ «Фармтест» ФГБОУ ВО ПГФА Минздрава России.

Перед проведением испытания на подлинность проводилась пробоподготовка путем приготовления водного раствора спрея (раствор А): 2 мл спрея растворяли в 10 мл воды очищенной.

Испытание на подлинность проводилось согласно ОФС.1.2.2.0001.15 «Общие реакции на подлинность» [4,5].

Для подтверждения *катиона кальция* использовалась реакция осаждения аммония оксалата раствором 4%, образующийся оксалат кальция нерастворим в уксусной кислоте разведенной 30% и аммиака растворе 10%, растворим в разведенных минеральных кислотах. Определение *хлорид-иона* проводилось реакцией осаждения серебра нитрата раствором 2%, образующийся малодиссоциируемый хлорид серебра растворим в аммиака растворе 10%. Для подтверждения *катиона калия* в спрее использована реакция осаждения винной кислоты раствором 20%, образующийся гидротартрат калия растворим в разведенных минеральных кислотах и растворах гидроксидов щелочных металлов. Определение *фосфат-иона* в спрее проводилось реакцией осаждения серебра нитрата раствором 2% в нейтральной среде, образующийся фосфат серебра желтого цвета растворим в азотной кислоте разведенной 16% и аммиака растворе 10%. Для подтверждения *катиона натрия* в спрее использована микрокристаллокопическая реакция с калия пироантимоната раствором, образуются кристаллы пироантимоната натрия в виде призм. Определение *фторид-иона* проводилось реакцией с цирконил-ализариновым комплексом, основанной на его разрушении вследствие связывания катиона циркония в более прочный комплекс с фторид-ионами, наблюдалось изменение окраски раствора от красно-фиолетовой к желтой [2–5, 11].

Количественное определение кальция хлорида проводилось методом комплексонометрии, в качестве титранта использовался натрия эдетата раствор 0,05 М. Для создания необходимого значения рН использован аммиачный буферный раствор. При апробации способа прямого титрования после добавления к анализируемому раствору аммиачного буферного раствора выпадает обильный осадок кальция фосфата, для избежания этой

реакции был предложен способ обратного титрования. Параллельно проводился контрольный опыт [3–5,11].

1 мл 0,05 М раствора натрия эдетата соответствует 0,01095 г $\text{CaCl}_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$. Содержание кальция хлорида на 100 мл спрея рассчитывают по формуле:

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

где X – содержание кальция хлорида в ЛФ, г; T – титр натрия эдетата 0,05 М раствора по кальция хлориду, г/мл; P – объем ЛФ, мл; V – объем титрованного раствора, пошедшего на титрование, мл; $V_{\text{к.о.}}$ – объем титрованного раствора, пошедшего на титрование контрольного опыта, мл; K – коэффициент поправки к молярности титрованного раствора; a – навеска ЛФ, мл.

Для количественного определения калия фосфата двузамещенного в спрее использован ацидиметрический метод, вариант вытеснения [11].

1 мл 0,5 М раствора хлористоводородной кислоты соответствует 0,1141 г $\text{K}_2\text{HPO}_4 \times 3\text{H}_2\text{O}$. Содержание калия фосфата двузамещенного на 100 мл спрея рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{T \times V \times K \times P}{a},$$

где X – содержание калия фосфата двузамещенного в ЛФ, г; T – титр 0,5 М раствора хлористоводородной кислоты по калия фосфату двузамещенному, г/мл; P – объем ЛФ, мл; V – объем титрованного раствора, пошедшего на титрование, мл; K – коэффициент поправки к молярности титрованного раствора; a – навеска ЛФ, мл.

Для количественного определения натрия фторида использован фотоэлектроколориметрический метод (фотометр КФК-3, ЗОМЗ, Россия). В основе методики лежит реакция

разрушения цирконилалizarинового комплекса фторид-ионом. Интенсивность окрашивания раствора в результате реакции уменьшается, поэтому в данном случае наблюдается обратная зависимость оптической плотности от концентрации фторид-ионов. Измеряют оптическую плотность испытуемого раствора при длине волны 520 нм, в кювете с толщиной слоя 10 мм, раствор сравнения – вода очищенная. Параллельно измеряют оптическую плотность раствора РСО [2].

Содержание натрия фторида в спрее рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{(1 - A_{\text{АН}}) \times a_{\text{СТ}} \times V_{\text{АНМК}} \times P}{(1 - A_{\text{СТ}}) \times a_{\text{АН}} \times V_{\text{СТМК}}},$$

где X – содержание натрия фторида в ЛФ, г; ААН – оптическая плотность анализируемого раствора; АСТ – оптическая плотность раствора РСО; P – объем ЛФ, мл; aАН – масса навески ЛФ, мл; aСТ – навеска РСО (содержание натрия фторида в 2 мл 0,02% стандартного раствора), г; VАНМК – объем мерной колбы для разведения навески спрея, мл; VСТМК – объем мерной колбы для разведения навески РСО, мл.

Определение вязкости спрея реминерализующего действия проводилось на капиллярном вискозиметре Оствальда по методике ГФ XIV изд. ОФС.1.2.1.0015.15 «Вязкость» [4,5].

Определение pH спрея проводилось потенциометрическим методом согласно ОФС.1.2.1.0004.15 «Ионометрия» с помощью преобразователя ионометрического И-500 («Аквилон», Россия) [4,5].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

По внешнему виду спрей представляет собой опалесцирующий однородный вязкопластичный раствор и имеет следующий состав:

Кальция хлорида	0,546 (Ca ²⁺ – 0,1 г/иона)
Калия фосфата двузамещенного	0,951 (HPO ₄ ²⁻ – 0,4 г/иона)
Натрия фторида	0,014 (F ⁻ – 0,006 г/иона)
Метилцеллюлозы	(35) 2,5
Глицерина	3,0
Полиэтиленоксида	(400) 2,5
Воды очищенной	до 100,0

Стандартизацию спрея проводили по показателям: «Подлинность», «Количественное определение действующих веществ» – включая валидацию предложенных методик, «Уровень pH», «Вязкость» и «Микробиологическая чистота» [4,5,8].

Валидацию методик испытания на подлинность и количественное определение минерализующих ЛС проводили в соответствии с ОФС.1.1.0012.15 «Валидация аналитических методик» [8].

Специфичность методик исследовалась на модельных смесях с чередующимися компонентами от заявленного состава.

Установлено, что соблюдается линейная зависимость между величинами аналитических

сигналов и содержанием определяемых компонентов в спрее в интервале от 70 до 130% от декларируемого количества (аналитическая область методики). Коэффициент корреляции регрессионного графика R составил для натрия фторида, кальция хлорида и калия фосфата двузамещенного – 0,999.

Правильность методик подтверждена установлением отношения «найдено:введено» (Zi). Оно находится в интервале 97–101% для кальция хлорида, от 93% до 111% для калия фосфата двузамещенного и от 98% до 102% для натрия фторида. Отклонение Z⁻ от 100% не превышает доверительный интервал $\delta\% = |-0,48095| \leq 0,541053$, систематическая погрешность статистически неотличима от нуля, что показывает удовлетворительную правильность методик.

Внутрилабораторная (промежуточная) прецизионность методик доказана расчетом доверительных интервалов, которые составили для кальция хлорида 0,526±0,005 г (0,95%), для калия фосфата двузамещенного 0,936±0,017 г (1,86%), для натрия фторида 0,0139 ±0,0002 г (1,44%). По полученной

Таблица 1

РЕЗУЛЬТАТЫ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ДЕЙСТВУЮЩИХ ВЕЩЕСТВ В СПРЕЕ

Активный компонент	Серия	Метрологические характеристики					
		X, г	\bar{X} , г	S, г	$\Delta\bar{X}$	ϵ , %	$\bar{\epsilon}$, %
Кальция хлорид	1	0,550	0,546	0,0035	0,00435	1,661	0,80
	2	0,548				1,657	
	3	0,541				1,650	
	4	0,544				1,645	
	5	0,546				1,637	
Калия фосфат двузамещенный	1	0,981	0,967	0,0101	0,0126	2,86	1,30
	2	0,967				2,90	
	3	0,953				2,95	
	4	0,971				2,89	
	5	0,965				2,91	
Натрия фторид	1	0,0141	0,0141	0,00016	0,0002	3,15	1,42
	2	0,0142				3,13	
	3	0,0139				3,20	
	4	0,0143				3,11	
	5	0,0140				3,18	

Таблица 2

РЕЗУЛЬТАТЫ СТАНДАРТИЗАЦИИ СПРЕЯ РЕМИНЕРАЛИЗУЮЩЕГО ДЕЙСТВИЯ

№ серии	Описание	Подлинность						Количественное определение				pH метод потенциометрии	Вязкость на капиллярном вискозиметре Оствальда по методике ГФ	Микробиологическая чистота
		Ca ²⁺ с аммония оксалата раствором 4%	Cl ⁻ с селбра нитрата в присутствии азотной кислоты разв. 16%	K ⁺ с винной кислоты раствором 20%	HP0 ₂ ⁻ с селбра нитрата раствором 2% при pH=7,0	Na ⁺ с калия пипонатимоната раствором	F ⁻ с цирконий-ализариновым комплексом	CaCl ₂ комплексометрический метод	K ² HP0 ₄ ацидиметрический метод	NaF фотоэлектродкопирметрический метод				
		Нормируемые требования												
1	опалесцирующий одно-родный вязкопластичный раствор	белый осадок, НР в уксусной к-те, разв. 30% и аммиака р-ре 10%, Р в разв. мин. к-тах	белый творожистый осадок, НР в азотной к-те разв. 16% и Р в аммиака р-ре 10%	белый кристаллический осадок Р в разв. мин. к-тах и р-рах гидроксидов щелочных металлов	желтый осадок, Р в азотной к-те разв. 16% и аммиака р-ре 10%	кристаллы в виде призм	изменение окраски раствора от красной фиолетовой до желтой	0,5260±0,0071	0,933±0,018	0,0139±0,0003	6,5-7,5	0,67-0,71	не более 10 ² КОЕ в 1,0 г	
2	соотв.	соотв.	соотв.	соотв.	соотв.	соотв.	0,5410±0,0066	0,961±0,015	0,0126±0,0002	6,86±0,05	0,7000±0,020	<100		
3	соотв.	соотв.	соотв.	соотв.	соотв.	соотв.	0,5460±0,0073	0,956±0,016	0,0140±0,0003	6,90±0,05	0,7012±0,020	<100		
4	соотв.	соотв.	соотв.	соотв.	соотв.	соотв.	0,5600±0,0088	0,951±0,018	0,0154±0,0003	6,80±0,05	0,7032±0,020	<100		
5	соотв.	соотв.	соотв.	соотв.	соотв.	соотв.	0,5650±0,0088	0,905±0,02	0,0165±0,0003	6,80±0,05	0,7030±0,020	<100		

величине стандартного отклонения и доверительного интервала можно сделать заключение о прецизионности исследуемых методик под влиянием внутрилабораторных вариаций.

Таким образом, валидированные методики являются специфичными, имеют удовлетворительную прецизионность, линейность, правильность и использованы при стандартизации спрея для определения количественного содержания кальция хлорида, калия фосфата двузамещенного и натрия фторида. Результаты количественного определения ДВ приведены в табл. 1.

Относительная погрешность среднего результата определения содержания кальция хлорида в спрее комплекснометрическим методом составляет 0,80%, калия фосфата двузамещенного в спрее ацидиметрическим методом – 1,30%, натрия фторида в спрее фотоэлектроколориметрическим методом – 1,42%, что свидетельствует о хорошей воспроизводимости предложенных методик.

pH разработанного спрея составил 6,75–6,90±0,05, что укладывается в допустимые пределы для стоматологических спреев (6,5–7,5).

Значение вязкости составило 0,6998–0,7032±0,02.

Спрей по показателю «Микробиологическая чистота» соответствует требованиям ОФС.1.2.4.0002.15 и может использоваться как местный ЛП.

Результаты оценки качества спрея на пяти сериях по внешнему виду, качественному и количественному анализу, pH, вязкости и микробиологической чистоте представлены в табл. 2. Полученные данные свидетельствуют о соответствии спрея нормируемым требованиям.

ВЫВОДЫ

Проведена комплексная стандартизация спрея на 5 сериях в исследуемой группе по показателям «Подлинность», «Количественное

определение действующих веществ», «Уровень pH», «Вязкость» и «Микробиологическая чистота», включая изучение валидационных характеристик методик испытания на подлинность и количественное определение действующих веществ.

Установленные показатели могут являться критериями оценки доброкачественности спрея при постадийном контроле в процессе производства и контроле качества конечного продукта и положены в основу разработанного проекта ФС на спрей.

Разработанный спрей реминерализующего действия может быть рекомендован для проведения профессиональной гигиены полости рта для индивидуального и врачебного применения при высокой интенсивности кариеса, наличии общих и местных кариесогенных факторов (в частности, у ортодонтических больных и у пациентов с ксеростомией, которым проводится лучевая терапия), присутствии на зубах очагов деминерализации эмали, гиперестезии зубов.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Голованенко А.Л. Обзор реминерализующих лекарственных средств, применяющихся для профилактики и лечения начального кариеса эмали / А.Л. Голованенко // Тихоокеанский медицинский журнал. – 2018. – №2. – С. 37–43.
2. Березина Е.С. Разработка методик качественного и количественного определения фторидов в геле реминерализующего действия / Е.С. Березина, А.Л. Голованенко // Современные проблемы науки и образования. – 2012. – №6. – Режим доступа: <http://www.science-education.ru/106-7410> (дата обращения: 13.11.2012).
3. Валидация методик количественного определения компонентов в пленках лекарственных для лечения кариеса эмали /

- Е.В. Третьякова, Е.С. Березина, А.Л. Голованенко и др. // *Современные проблемы науки и образования*. – 2015. – №1. – URL: <http://www.science-education.ru/121-19155> (дата обращения: 19.05.2015).
4. Государственная фармакопея Российской Федерации XIV издания. Т. I. [Электронный ресурс] / Режим доступа: <http://femb.ru/femb/pharmasoreia.php> – свободный (дата обращения: 21.04.2019).
 5. Государственная фармакопея Российской Федерации XIV издания. Т. III. [Электронный ресурс] / Режим доступа: <http://femb.ru/femb/pharmasoreia.php> – свободный (дата обращения: 21.04.2019).
 6. Губин М.М. Новая лекарственная форма – спрей. Отличия от аэрозолей, особенности технологии производства [Электронный ресурс] / М.М. Губин. – URL: www.medbusiness.ru/426.php (26.08.2014).
 7. Морозова Е.В. Комплексные исследования по выбору оптимального состава спрея для профилактики заболеваний пародонта / Е.В. Морозова, В.А. Морозов, М.С. Макеева и др. // *Здоровье и образование в XXI веке*. – 2018. – №1. – С.119–123.
 8. ОФС 1.1.0012.15. Валидация аналитических методик // Государственная фармакопея Российской Федерации. – 13-е изд. – Т. 1. – Москва, 2015. – Режим доступа: http://193.232.7.120/feml/clinical_ref/pharmasoreia_1_html/HTML/.
 9. Современный подход к разработке лекарственных форм для проведения реминерализующей терапии / А.Л. Голованенко, Е.В. Третьякова, Е.С. Березина, И.В. Алексеева // *Медицинский альманах*. – 2017. – №2 (47). – С. 141–145.
 10. Сравнительный анализ лекарственных форм: спрей и аэрозоль. – Режим доступа: <http://pharmspray.vipsmed.ru/publikacii/sravnitelnyj-analiz-lekarstvennyh-form/>.
 11. Стандартизация геля для реминерализации эмали / А.Л. Голованенко, Е.С. Березина, Е.В. Третьякова, И.В. Алексеева // *Химико-фармацевтический журнал*. – 2015. – Т. 49. – №12. – С. 47–50.
 12. Сушинская О.А. Фармацевтическая разработка состава спрея для наружного применения с диклофенаком натрия / О.А. Сушинская, Н.С. Голяк // *БГМУ в авангарде медицинской науки и практики: сб. рецензир. науч. работ / М-во здравоохранения Респ. Беларусь, Бел. гос. мед. ун-т; редкол.: А.В. Сикорский, О.К. Доронина*. – Минск, – 2017. – Вып. 7. – С. 220–224.

STANDARDIZATION OF SPRAY REMINERALIZING ACTION

A.L. Golovanenko, E.S. Berezina, I.V. Alexeeva
Perm State Pharmaceutical Academy, Perm, Russia

In the article the results of standardization spray remineralizing action on indicators of «Authenticity» and «Quantitative content» of medicines, «pH level», «Viscosity» and «Microbiological purity». In work used chemical and physicochemical methods, modified with account of specificity of medicinal forms. All techniques, tested on lab series spray, showed good reproducible results and inclusion in the normative documentation regulating technology and quality control spray remineralizing action.

Keywords: standardization, remineralization, spray, calcium chloride, potassium phosphate disubstituted, sodium fluoride