

ВАЛИДАЦИЯ МЕТОДИК КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ КОМПОНЕНТОВ В ПЛЕНКАХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ КАРИЕСА ЭМАЛИ

Третьякова Е.В.¹, Березина Е.С.¹, Голованенко А.Л.¹, Алексеева И.В.¹, Першина Р.Г.²

¹ГБОУ ВПО «Пермская государственная фармацевтическая академия Министерства здравоохранения Российской Федерации», Пермь, Россия (614000, г. Пермь, ул. Полевая, 2), e-mail: annagolovanenko@yandex.ru

²ГБОУ ВПО «Пермский государственный медицинский университет имени академика Е.А. Вагнера Министерства здравоохранения Российской Федерации», Пермь, Россия (614000, г. Пермь ул. Петропавловская, 26)

В статье представлены результаты валидации методик количественного определения компонентов в пленках лекарственных для лечения кариеса эмали, содержащих ионы кальция, фосфора и фтора, необходимые для активной реминерализации зубной эмали. Разработанные пленки лекарственные рекомендованы для внедрения в медицинскую стоматологическую практику, в качестве профилактического и лечебного средства при кариесе эмали. Необходимым условием внедрения лекарственного препарата в медицинскую практику является его стандартизация, предусматривающая разработку нормативной документации. Валидационную оценку методик проводили на модельных смесях по таким параметрам, как специфичность, линейность, правильность и повторяемость. Установлено что методики являются специфичными, линейными в аналитической области, правильными, повторяемыми и могут быть использованы для включения в нормативно-техническую документацию на разрабатываемые пленки лекарственные.

Ключевые слова: валидация, кариес эмали, пленки лекарственные, количественное определение, специфичность, линейность, правильность, повторяемость.

VALIDATION OF METHODS OF QUANTITATIVE DETERMINATION OF COMPONENTS IN FILMS MEDICINAL FOR TREATMENT OF CARIES OF ENAMEL

Tretyakova E.V.¹, Berezina E.S.¹, Golovanenko A.L.¹, Alekseeva I.V.¹, Pershina R.G.²

¹Perm State Pharmaceutical Academy, Perm, Russia (614000, Perm, Polevaya St., 2), e-mail: annagolovanenko@yandex.ru

²Perm State Medical University of a name of academician E.A. Vagner, Perm, Russia (614000, Perm, Petropavlovskaya St., 26)

In the article are presented results of validation of methods of quantitative definition of components in films medicinal for treatment of caries of enamel, containing the ions of calcium, phosphorus and fluorine necessary for active remineralization of tooth enamel. The developed films medicinal are recommended for introduction in medical dental practice, as preventive and a therapeutic remedy at enamel caries. Necessary condition of introduction of drug in medical practice is its standardization providing development of regulatory documentation. The validation evaluation of methods was carried out on model mixes on such parameters as specificity, linearity, accuracy and repeatability. It is established that methods are specific, linear in analytical area, correct, repeated and can be used for inclusion in normative-technical documentation on the developed films medicinal.

Keywords: validation, enamel caries, film medicinal, quantification, specificity, linearity, accuracy, repeatability.

В результате многочисленных исследований, проведенных как в нашей стране, так и за рубежом, установлено, что основными компонентами в реминерализующих средствах являются ионы фтора, фосфора и кальция. Для лечения кариеса эмали их в основном используют в виде аппликаций растворами. Однако одновременное присутствие ионов кальция и фосфора в растворах приводит к их химическому взаимодействию. Одним из путей решения данной проблемы является разработка пленок лекарственных (ПЛ) на основе полимеров. В пленках предотвращается взаимодействие ионов кальция и фосфора, они

легко высвобождаются и взаимодействуют с эмалью зуба, а их высокие концентрации увеличивают реминерализующий потенциал пленок по сравнению со слюной во много раз. [3].

В ходе подготовки нормативной документации на ПЛ для лечения кариеса эмали разработаны и апробированы методики определения количественного содержания основных действующих компонентов: кальция хлорида, калия фосфата двузамещенного и натрия фторида химическими и инструментальными методами, модифицированными с учетом специфики лекарственной формы.

Целью работы являлась валидация методик количественного определения основных компонентов в пленках лекарственных для лечения кариеса эмали.

Материалы и методы исследования

Объектом исследования являлись пленки лекарственные для лечения кариеса эмали, включающие активные компоненты: кальция хлорид (ФС 42-2567-94), калия фосфат двузамещенный (ФС 42-4297-79), натрия фторид (ГОСТ 4463-76) - фармакопейного качества; гелеобразователь – натрий карбоксиметилцеллюлоза (ТУ 2231-034-07507908-01), пластификатор - глицерин (ФС 42-2202-99); ксилит (ГОСТ 20710-75); вода очищенная (ФС 42-0324-09).

Особенности проведения анализа связаны с сочетанием активных компонентов, которые склонны к взаимодействию между собой, и с трудностью выделения активных соединений из полимерной основы, их разделения между собой вследствие их одинаковой растворимости в средах, используемых в анализе.

Количественное содержание кальция хлорида в пленках определяли методом обратного комплексонометрического титрования. Высокая концентрация фосфат ионов не позволила провести прямое титрование, вследствие образования в щелочной среде кальция фосфата [2, 5].

Количественное содержание натрия фторида определяли фотоэлектроколориметрическим методом при длине волны 520 нм, расчет вели относительно рабочего стандартного образца [2, 6].

Количественное содержание калия фосфата двузамещенного определяли фотоэлектроколориметрическим методом при длине волны 390 нм, расчет проводили по раствору рабочего стандартного образца [1, 2].

Валидация проводилась в соответствии с характеристиками ОФС «Валидация аналитических методик».

Специфичность методов основана на возможности достоверно определять количественное содержание активных компонентов в присутствии сопутствующих

компонентов и достигается путем сравнения результатов анализов реальных объектов[4]. Специфичность исследовали на модельных смесях с чередующимися компонентами от заявленного состава, результаты представлены в таблице 1.

Таблица 1

Результаты определения специфичности методик количественного анализа компонентов пленок (пленка 1x2 см) для лечения кариеса эмали

Состав модельной смеси	$CaCl_2$		K_2HPO_4		NaF	
	заявлено	найдено	заявлено	найдено	заявлено	найдено
$CaCl_2, K_2HPO_4, NaF$	0,003825	0,003921	0,00666	0,00678	0,000100	0,000102
$CaCl_2$	0,003825	0,003815	-	-	-	-
K_2HPO_4	-	-	0,00666	0,00666	-	-
NaF	-	-	-	-	0,000100	0,000100
$CaCl_2, K_2HPO_4$	0,003825	0,003933	0,00666	0,00653	-	-
$CaCl_2, NaF$	0,003825	0,003900	-	-	0,000100	0,000101
K_2HPO_4, NaF	-	-	0,00666	0,0064	0,000100	0,00100
Примечание:* - среднее их 3 определений						

На основании полученных результатов можно утверждать, что методики количественного определения активных компонентов пленок являются специфичными.

Линейная зависимость метода показывает, что внутри заданного диапазона методик существует прямо пропорциональное соотношение между сигналом аналитической реакции и концентрацией исследуемого вещества [4]. Линейность исследовали на модельных смесях в интервале 70-130% от заявленного содержания активных компонентов. Результаты представлены графически на рисунках 1 и 2 в виде зависимости концентрации исследуемого вещества и расходом титранта для комплексонометрического метода анализа и в виде зависимости концентраций исследуемого вещества и оптической плотности для фотоэлектроколориметрического метода соответственно.

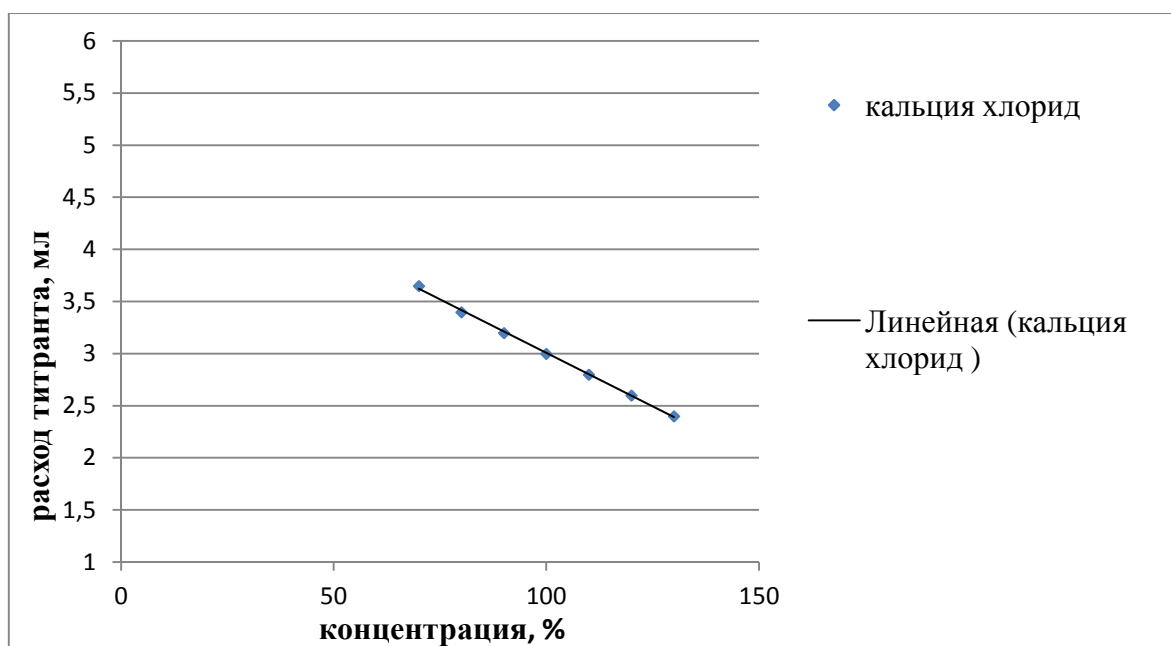


Рис.1. Зависимость расхода титранта от концентрации кальция хлорида при комплексонометрическом определении на модельных смесях в диапазоне 70-130%

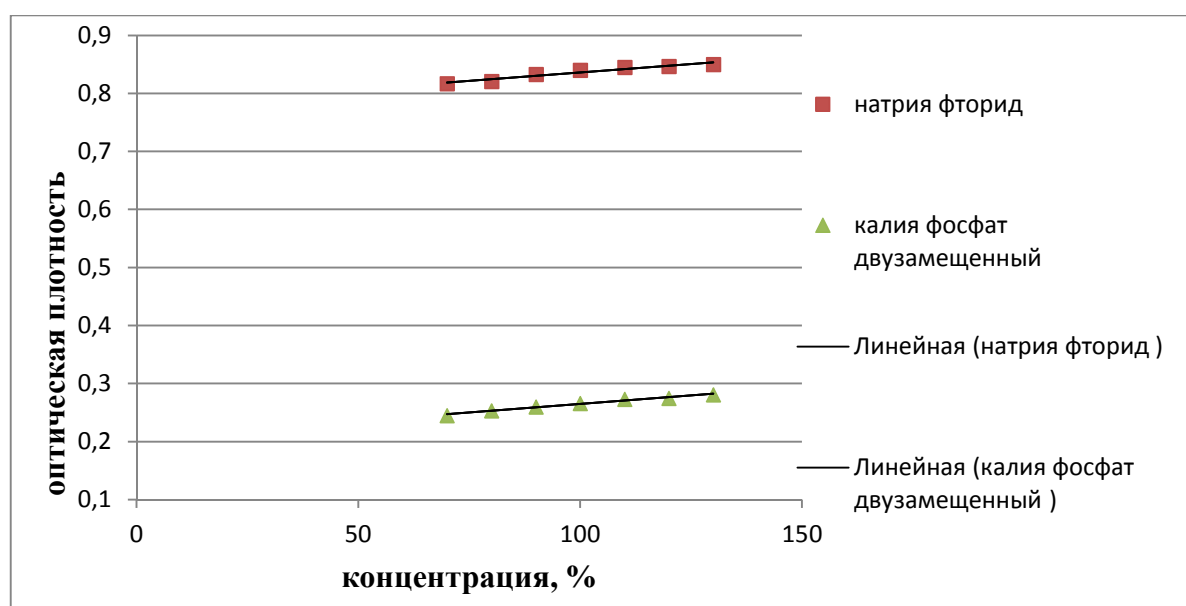


Рис.2. Зависимость оптической плотности от концентрации натрия фторида и калия фосфата двузамещенного при фотоэлектроколориметрическом определении на модельных смесях в диапазоне 70-130%

Линейная зависимость характеризуется коэффициентом корреляции R и уравнением регрессии $y=bx+a$, где b – тангенс угла наклона прямой; a – точка пересечения прямой с осью y . Коэффициент корреляции регрессионного графика R составил: для натрия фторида - 0,9406; кальция хлорида – 0,9989; для калия фосфата двузамещенного – 0,9827.

На основании полученных результатов можно утверждать, что соблюдается линейная зависимость между величинами аналитических сигналов и концентрацией исследуемых

веществ в пленках для лечения кариеса эмали в интервале 70-130% от декларируемой величины. Этот интервал можно определить как аналитическую область методики.

Правильность методик характеризуется близостью полученных результатов испытаний к действительному значению определяемой величины. Она показывает систематические погрешности методов и выражается как процент регенерации точно взвешенного количества анализируемого образца[4]. Данная характеристика установлена по результатам анализа модельных смесей с использованием рабочих стандартных образцов для трехразового определения 7 аналитических концентраций в интервале 70-130 % от декларируемого состава (табл. 2).

Таблица 2

Оценка правильности методик пленок для лечения кариеса эмали (количество содержания компонентов на пленку 1x2 см)

ОЦЕНКА ПРАВИЛЬНОСТИ МЕТОДИК									
Количество действующих веществ от заявленного в пленках, %	Состав модельной смеси, г			Найдено, г			Регенерация*, %		
	<i>CaCl₂</i>	<i>K₂HPO₄</i>	<i>NaF</i>	<i>CaCl₂</i>	<i>K₂HPO₄</i>	<i>NaF</i>	<i>CaCl₂</i>	<i>K₂HPO₄</i>	<i>NaF</i>
70	0,0027	0,00466	0,000070	0,0027	0,00463	0,000069	100,0	99,5	98,6
80	0,0031	0,00533	0,000080	0,0031	0,00534	0,000081	100,0	100,2	101,3
90	0,0034	0,00599	0,000090	0,0034	0,00596	0,000089	100,0	99,5	98,9
100	0,0038	0,00666	0,000100	0,0039	0,00680	0,000102	102,6	101,5	102,1
110	0,0042	0,00733	0,000110	0,0043	0,00738	0,000108	102,3	100,7	98,2
120	0,0046	0,00799	0,000120	0,0047	0,00795	0,000122	102,2	99,5	101,7
130	0,0050	0,00866	0,000130	0,0049	0,00857	0,000133	98,0	98,9	102,3
Примечание:* - среднее их 3 определений									

Как видно из результатов, представленных в таблице 2, все полученные данные находятся в интервале 98-103%, Результаты исследования показывают удовлетворительную точность методик.

Повторяемость (сходимость) методик характеризуется степенью совпадения результатов индивидуальных определений при многократном использовании [4]. Результаты количественного определения действующих веществ в пленках для лечения кариеса эмали представлены в таблице 3.

Таблица 3

Результаты количественного определения действующих веществ в пленках для лечения кариеса эмали (пленка 1x2 см)

ОЦЕНКА ПОВТОРЯЕМОСТИ МЕТОДИК						
Действующие вещества	Серия	Метрологические характеристики				
		\bar{X} , г	S, г	$\Delta\bar{X}$	ε , %	$\bar{\varepsilon}$, %
K_2HPO_4	01	0,0062	0,000058	0,00005525	2,60	1,06
	02	0,0070			2,29	
	03	0,0073			2,19	
	04	0,0070			2,29	
	05	0,0068			2,20	
$CaCl_2$	01	0,00467	0,000035	0,00003334	2,08	0,93
	02	0,00469			2,07	
	03	0,00460			2,12	
	04	0,00468			2,10	
	05	0,00467			2,09	
NaF	01	0,000100	0,0000004	0,00000038	1,11	0,50
	02	0,000105			1,06	
	03	0,000097			1,14	
	04	0,000100			1,11	
	05	0,000102			1,12	

Относительная ошибка среднего результата составляет: для кальция хлорида - 0,93%, для калия фосфата двузамещенного – 1,06%, для натрия фторида – 0,5%. По представленным параметрам, характеризующим повторяемость (сходимость) методик (величины стандартного отклонения, доверительный интервал), можно сделать заключение о хорошей повторяемости данных методик.

В результате проведенных исследований изучены валидационные характеристики количественного определения кальция хлорида, калия фосфата двузамещенного и натрия фторида в пленках для лечения кариеса эмали. По результатам валидации установлено, что приведенные методики являются специфичными для определения содержания активных компонентов в пленках, характеризуются конкретной точностью и повторяемостью, линейной зависимостью в аналитической области $\pm 30\%$ по отношению к заявленному содержанию действующих веществ в пленках, что позволяет использовать их для достоверной оценки качества. Полученные данные будут использованы для составления проекта ФСП и Методических указаний по изготовлению и контролю качества пленок для лечения кариеса эмали.

Список литературы

1. Березина Е.С., Голованенко А.Л., Алексеева И.В. Разработка методик качественного и количественного определения фосфатов в пленках лекарственных реминерализующего действия // Фармация. – 2015. - №1. – С. 7-9.
2. Голованенко А.Л., Березина Е.С., Третьякова Е.В. и др. Стандартизация пленок для лечения кариеса эмали// Фундаментальные исследования. – 2014. - № 9 (часть 5). – С. 1038-1041.
3. Голованенко А.Л., Третьякова Е.В. Рациональное использование реминерализующих лекарственных средств для лечения кариеса эмали и дентина// Ученые записки Орловского государственного университета, научный журнал. – 2014. - № 7 (63). – С. 35-36.
4. Государственная фармакопея Российской Федерации XII издание Часть 2 ОФС 42-0113-09.
5. Государственная фармакопея СССР Вып. 1. Общие методы анализа. – 11-е изд., доп. – М.: Медицина, 1987. – С. 187.
6. ГОСТ 23268.18 – 78. Воды минеральные питьевые лечебные, лечебно-столовые и природные столовые. – С. 8.

Рецензенты:

Вихарева Е.В., д.фарм.н., профессор, зав. кафедрой аналитической химии, Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Пермь;

Белоногова В.Д., д.фарм.н., профессор, зав. кафедрой фармакогнозии с курсом ботаники, Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Пермь.