



Оригинальная статья/Research article

Валидация методик испытания на подлинность и количественного определения действующих веществ в пленках для лечения кариеса дентина

Е. С. Березина^{1*}, А. Л. Голованенко¹, И. В. Алексеева¹

1 – ФГБУ ВО «Пермская государственная фармацевтическая академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, 614990, Россия, г. Пермь, ул. Полевая, д. 2

*Контактное лицо: Березина Елена Станиславовна. E-mail: berezina.e.s@yandex.ru

Статья получена: 16.05.2019. Статья принята к печати: 16.08.2019

Резюме

Введение. Несмотря на наличие широкого выбора лекарственных препаратов (ЛП), при лечении кариеса с использованием традиционных методов эффективность его лечения составляет 62,5–75,4%. В результате комплекса научно-экспериментальных исследований, проведенных на кафедре фармацевтической технологии ПГФА совместно с кафедрой стоматологии факультета повышения квалификации и профессиональной переподготовки специалистов ПГМУ им. Е. А. Вагнера, предложен медикаментозный способ лечения среднего и глубокого кариеса реминерализующим гелем и пленками. В ходе подготовки нормативной документации на пленки для лечения кариеса дентина проведена валидация методик, предназначенных для контроля качества действующих веществ.

Цель. Валидация методик испытания на подлинность и количественного определения действующих веществ в пленках для лечения кариеса дентина.

Материалы и методы. Для достижения поставленной цели использовали активные фармацевтические субстанции фармакопейного качества. При разработке методик испытания на подлинность за основу взяты методики с характерными реакциями на катионы и анионы. Для количественного определения кальция хлорида использован обратный комплексометрический метод, для калия фосфата двузамещенного и натрия фторида фотоэлектроколориметрический метод, для хлоргексидина биглюконата спектрофотометрический метод. Объектами исследования являлись пять серийных образцов пленок.

Результаты и обсуждение. На основании проведенного исследования выбраны методики испытания на подлинность, которые характеризуются отрицательным аналитическим сигналом на модельных смесях, свободных от определяемого компонента, и плацебо, и положительным аналитическим сигналом на модельных смесях различного состава, содержащих определяемый компонент. Изучены валидационные характеристики методик количественного определения действующих веществ в пленках для лечения кариеса дентина, которые могут быть использованы для включения в нормативную документацию на разработанные пленки.

Заключение. По результатам валидации установлено, что методики являются специфичными как для испытания на подлинность, так и количественного определения действующих веществ в пленках, характеризуются 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.

Ключевые слова: валидация, кариес дентина, пленки, подлинность, количественное определение, специфичность, линейность, правильность, повторяемость.

Конфликт интересов: конфликта интересов нет.

Вклад авторов. А. Л. Голованенко, И. В. Алексеева – разработали состав пленок для лечения кариеса дентина, изготовили модельные смеси и серийные образцы. Е. С. Березина предложила методики определения действующих веществ в пленках и провела исследования валидационных характеристик, предложенных методик. Все авторы участвовали в обработке экспериментальных данных, обсуждении результатов и написании текста статьи.

Для цитирования: Березина Е. С., Голованенко А. Л., Алексеева И. В. Валидация методик испытания на подлинность и количественного определения действующих веществ в пленках для лечения кариеса дентина. *Разработка и регистрация лекарственных средств.* 2019; 8(3): 62–68.

Validation of Methods of Identification and Quantitative Determination of Active Ingredients in Films for Treatment of Caries of Dentin

Elena S. Berezina^{1*}, Anna L. Golovanenko¹, Irina V. Alekseeva¹

1 – Perm State Pharmaceutical Academy, 2, Poleyaya str., Perm, 614990, Russia

*Corresponding author: Elena S. Berezina. E-mail: berezina.e.s@yandex.ru

Received: 16.05.2019. Accepted: 16.08.2019

Abstract

Introduction. Even though a wide range of the products for caries treatment is available, the efficiency of its treatment with the traditional methods is 62,5–75,4%. As a result of the set of researches carried out at the Department of Pharmaceutical Technology of the Perm State Pharmaceutical Academy, in cooperation with the Department of Dentistry of the Advanced Training and Professional Retraining Faculty of E. A. Wagner Perm State Medical University, a medical method of moderate and advanced caries treatment with remineralizing gel and films is proposed. During the preparation of the product specification file for the dentin caries treatment film, validation of the methods of the active ingredients quality control has been undertaken.

Aim. Validation of the methods of identity tests and of potency assays of dentin caries treatment films.

Materials and methods. In order to achieve the aim, active pharmaceutical substances of pharmacopoeial quality have been used. As a base for developing the methods of identity tests the methods with distinctive reactions to cations and anions have been taken. For the potency assay of calcium chloride a complexometric back-titration has been used; photoelectric colorimetry for potassium phosphate dibasic and sodium fluoride; spectrophotometry for chlorhexidine bigluconate. Five production samples of the films were the object of the research.

© Березина Е. С., Голованенко А. Л., Алексеева И. В., 2019

© Berezina E. S., Golovanenko A. L., Alekseeva I. V., 2019

Results and discussion. Basing on the research results, the choice was made in favour of the methods of identity tests that are characterized by negative analytical response when applied to the model mixtures which are free from analyte and placebo, and by positive analytical response when applied to the model mixtures of various composition containing analyte. The validation characteristics of the methods of dentin caries treatment films potency assays, which may be included in the product specification file, have been studied.

Conclusion. Validation results show that the chosen methods are specific for both identity tests and potency assays of active substances in the dentin caries treatment films; they are characterized by precision, repeatability and linear dependency in the analytical range of $\pm 30\%$ in regard to the specified active substance concentration in the films. All that allows using them for a reliable quality assessment.

Keywords: validation, caries dentin, film, authenticity, quantification, specificity, linearity, accuracy, repeatability.

Conflict of interest: no conflict of interest.

Contribution of the authors. Anna L. Golovanenko, Irina V. Alekseeva – developed the composition of films for the treatment of dentin caries, produced model mixtures and serial samples. Elena S. Berezina suggested methods of determination of active ingredients in the films and has conducted studies of the validation characteristics, the proposed techniques. All authors participated in the processing of experimental data, discussion of the results and writing the text of the article.

For citation: Berezina E. S., Golovanenko A. L., Alekseeva I. V. Validation of methods of identification and quantitative determination of active ingredients in films for treatment of caries of dentin. *Drug development & registration*. 2019; 8(3): 62–68.

ВВЕДЕНИЕ

Несмотря на наличие широкого выбора лекарственных препаратов (ЛП) при лечении кариеса с использованием традиционных методов, эффективность его лечения составляет 62,5–75,4%. В процессе лечения часто проявляются различные осложнения. К принципиально новым технологиям относятся аппликационные лекарственные формы (ЛФ) на основе полимеров, содержащие основные минерализующие компоненты: кальций, фосфат и фторид ионы. Это дает возможность объединить эффект в одной аппликации и позволяет индивидуализировать лечение и реминерализацию дентина на первом этапе лечения среднего и глубокого кариеса. ЛП реминерализующего действия на основе полимеров просты, удобны, безопасны и доступны для применения, что позволяет охватить большую часть населения и снизить общий уровень распространенности кариеса [1–3].

В результате комплекса научно – экспериментальных исследований, проведенных на кафедре фармацевтической технологии Пермской государственной фармацевтической академии совместно с кафедрой стоматологии факультета повышения квалификации и профессиональной переподготовки специалистов Пермского государственного медицинского университета им. Е. А. Вагнера, предложен медикаментозный способ лечения среднего и глубокого кариеса реминерализующим гелем и пленками. В пленки для лечения кариеса дентина одновременно введены минерализующие вещества, содержащие ионы кальция, фосфата и фторида. Благодаря структурированным водным пространствам в пленках обеспечивается защитный эффект относительно их взаимодействия. Это позволяет сохранить минерализующие ионы в свободном активном состоянии и тем самым обеспечить существенное повышение их проникновения в дентин. Моделирование состава пленок осуществлено по кальциевофосфорному коэффициенту 2:1 с учетом основных требований к ЛП для лечения кариеса дентина. Для повышения эффективности лечения кариеса дентина путем воздействия на микроорганизмы в ден-

тинных канальцах в состав пленок введен антисептик – хлоргексидина биглюконат (ХГБ) [2–5].

В ходе подготовки нормативной документации на пленки для лечения кариеса дентина разработаны и апробированы методики испытания на подлинность и количественного определения действующих веществ (ДВ): кальция хлорида, калия фосфата двузамещенного, натрия фторида и ХГБ химическими и инструментальными методами, модифицированными с учетом специфики ЛФ [6–9].

Валидация методик, предназначенных для контроля качества лекарственных средств (ЛС), проводилась в соответствии с ГФ XIV изд. ОФС.1.1.0012.15 «Валидация аналитических методик» [10].

Целью настоящего исследования являлась валидация методик испытания на подлинность и количественного определения ДВ в пленках для лечения кариеса дентина.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Все активные фармацевтические субстанции (АФС): кальция хлорид (ФС 42-2567-94, АГРОХИМ ОАО «Химзавод им. Л.Я. Карпова», г. Менделеевск, Татарстан, 200916, срок хранения 3 года), калия фосфат двузамещенный (ФС 42-4297-79, ЗАО «ЛенРЕАКТИВ», Россия, 101016, срок хранения 3 года), натрия фторид (ГОСТ 4463-76, «РЕАХИМ», Россия, 201117, срок хранения 3 года, раствор хлоргексидина биглюконата 20% (ФС 42-2761-98, ООО «Армосинтез», г. Калуга, Россия, 300917, срок хранения 3 года) – фармакопейного качества; гелеобразователь – натрий карбоксиметилцеллюлоза (ТУ 2231-034-07507908-01, ЗАО «ВЕКТОН», СПб, Россия, 151216, срок хранения 3 года); пластификатор – глицерин (ФС 42-2202-99, ЗАО «КУПАВНАРЕАКТИВ», Россия, 082016, срок хранения 3 года); вода очищенная (ФС 2.2.0020.15).

Объектами исследования являлись пять серийных образцов пленок.

Для проведения испытаний на подлинность и количественного определения ДВ в пленках были использованы следующие реактивы: азотная кислота

разведенная 16% (азотная кислота разбавленная, х.ч., АО «Вектон», Россия), аммиачный буферный раствор (аммиак водный, ч.д.а., Сигма Тек, Россия; аммоний хлористый, х.ч., АО «Купавнареактив», Россия), аммония молибдата раствор 1% (аммоний молибденовокислый, 4-водный, х.ч., АО «Вектон», Россия), ализаринового красного С раствор 0,075% (ализариновый красный С(S), ч.д.а., АО «Вектон», Россия), железа (III) хлорида раствор 10% (железа хлорид (III), 6-водное, ч., АО «Вектон», Россия), калия пироантимоната раствор (калий сурьмянокислый, 4-водный, ч.д.а., ООО «Химсервис», Россия), кислый раствор хлористого цирконила 0,035% (цирконий хлорокись (IV), 8-водный, х.ч., АО «Вектон», Россия), натрия кобальтинитрита раствор 10% (натрий гексанитрокобальтат (III), 0,5-водный, х.ч., АО «Вектон», Россия), натрия эдетата раствор 0,05 М (стандарт-титр: соль динатриевая этилендиамин N,N,N',N'-тетрауксусной кислоты 2-водная (трилон Б) 0,1 моль/дм³ (0,1 н), ООО «Уральский завод химической продукции», Россия), олова хлорида раствор 1% (олова хлорид (IV), безводный, ч., АО «Вектон», Россия), серебра нитрата раствор 2% (серебро азотнокислое, х.ч., АльфаХим, Россия), серная кислота концентрированная, серной кислоты раствор 50%, серная кислота разведенная 9,8% (серная кислота, х.ч., Сигма Тек, Россия), танина раствор 0,1% (танин, ч., «ВитаХим», Россия), уксусная кислота разведенная 30% (уксусная кислота, х.ч., АО «Вектон», Россия), хлористоводородной кислоты раствор 0,1 М (кислота соляная, х.ч., Нева Реактив, Россия).

При разработке методик испытания на подлинность были апробированы как фармакопейные так и не фармакопейные реакции на катионы и анионы, входящие в состав ДВ, а так же реакции на ХГБ.

Количественное определение кальция хлорида проводили методом комплексонометрии, с использованием в качестве титранта раствора натрия эдетата. Для создания необходимого значения pH использовали аммиачный буферный раствор. Так как при апробации прямого способа титрования, после добавления к анализируемому раствору аммиачного буферного раствора выпадет обильный осадок кальция фосфата, был предложен способ обратного титрования. Точную навеску пленок растворяли в воде очищенной, к полученному раствору прибавляли точный объем раствора натрия эдетата и затем аммиачный буферный раствор, такой порядок прибавления реагентов исключает образование осадков кальция фосфата и кальция фторида, так как ионы кальция связываются в комплекс с натрия эдетатом, который становится более прочным после прибавления аммиачного буферного раствора за счет создания оптимального значения pH среды.

Для количественного определения калия фосфата двузамещенного в пленках был предложен метод фотоэлектроколориметрии. Для получения окрашенного раствора использовали реакцию с молибдатом аммония в присутствии хлорида олова (II) как восста-

новителя, в среде серной кислоты 50%, данные условия исключают образование нерастворимых солей кальция фосфата и кальция фторида. Точную навеску пленок помещали в мерную колбу и растворяли в небольшом объеме воды очищенной, к полученному раствору прибавляли точные объемы серной кислоты раствора 50%, растворы аммония молибдата и олова хлорида, тщательно перемешивали и довели объем водой очищенной до метки. Параллельно проводили реакцию с раствором рабочего стандартного образца калия фосфата двузамещенного в аналогичных условиях.

Для количественного определения натрия фторида использовали метод фотоэлектроколориметрии с применением реакции разрушения цирконил-ализаринового комплекса фторид ионами. Для связывания ионов кальция добавляли раствор натрия эдетат и аммиачный буферный раствор. Точную навеску пленок помещали в мерную колбу, растворяли в небольшом объеме воды очищенной, прибавляли точный объем раствора натрия эдетата и аммиачный буферный раствор, перемешивали, довели объем водой очищенной до метки. Точный объем полученного раствора переносили в мерную колбу, прибавляли точный объем раствора ализаринового красного С и раствора хлористого цирконила, тщательно перемешивали, довели объем водой очищенной до метки. Раствор выдерживали в течение 30 минут. Параллельно проводили реакцию с раствором рабочего стандартного образца натрия фторида в аналогичных условиях.

Для количественного определения хлоргексидина биглюконата в пленках использовали спектрофотометрический метод в ультрафиолетовой области. Определение проводили в присутствии хлористоводородной кислоты, которая препятствует образованию кальция фосфата и кальция фторида. Точную навеску пленок помещали в мерную колбу, прибавляли точный объем хлористоводородной кислоты и тщательно перемешивали до полного растворения навески, довели объем водой очищенной до метки. В качестве раствора сравнения использовали раствор пленок без хлоргексидина биглюконата, приготовленный по той же методике. Расчет проводили по удельному показателю поглощения.

Определение фотоэлектроколориметрическим методом проводилось на фотометре КФК-3 («ЗОМЗ», Россия), спектрофотометрическим методом на УФ-спектрофотометр UV-1800 («Shimadzu», Shimadzu Europa GmbH, Германия). [6–9, 12, 13].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Особенности проведения контрольных испытаний разработанных пленок связаны с сочетанием ДВ, склонных к взаимодействию между собой и с трудностью выделения их из полимерной основы, разделения между собой вследствие одинаковой растворимости в средах, используемых в анализе.

Исследовали валидационные характеристики методик испытания на подлинность путем определения их специфичности на модельных смесях известного состава (полный состав пленок, пленки плацебо и смеси с чередующимися активными компонентами). Подлинность компонентов пленок подтверждали характерными реакциями на катионы и анионы: на катион кальция использовали реакцию с серной кислотой разведенной 9,8%; на хлорид ион реакцию с серебра нитрата раствором 2% в присутствии азотной кислоты разведенной 16%; на катион калия применяли реакцию с натрия кобальтинитрита раствором 10% в среде уксусной кислоты разведенной 30%; на фосфат ион использовали реакцию с аммония молибдата раствором 1% в серной кислоте концентрированной и олова хлорида раствором 1% в среде серной кислоты раствора 50%; на катион натрия использовали микрокристаллоскопическую реакцию с раствором калия пироксидом и на фторид ион реакцию с цирконил-ализариновым комплексом; на основание хлоргексидина использовали реакцию с танина раствором 0,1%, на остаток глюконовой кислоты реакцию с железа (III) хлорида раствором 10% [6, 8, 10, 11].

На основании проведенных исследований предложены методики испытания на подлинность, которые характеризуются отрицательным аналитическим сигналом на модельных смесях свободных от определяемого компонента и плацебо, и положительным аналитическим сигналом на модельных смесях различного состава, содержащих определяемый компонент.

Количественное определение кальция хлорида проводили обратным комплексометрическим методом. Для количественного определения калия фосфата двузамещенного и натрия фторида использовали фотоэлектроколориметрический метод, расчет проводили по рабочему стандартному образцу. Для количественного определения хлоргексидина биглюконата использовали спектрофотометрический

метод, определение проводили при длине волны 253 нм, в кювете с толщиной слоя 10 мм, относительно раствора сравнения пленок без ХГБ [6–13].

Специфичность исследовали в трех параллелях на модельных смесях с чередующимися ДВ от заявленного состава. Результаты представлены в таблице 1.

Полученные результаты статистически обработаны. Доверительные интервалы составили: для кальция хлорида $0,00272 \pm 0,000089$ г, для калия фосфата двузамещенного $0,00367 \pm 0,000262$ г и для натрия фторида $0,000020 \pm 0,000002$ г, ХГБ $0,000051 \pm 0,0000196$ г. Анализ модельных смесей показал, что влияние ДВ при совместном присутствии в различных составах на результаты определений незначительное, следовательно, методики количественного определения ДВ пленок являются специфичными.

Линейность методик исследовали в трех параллелях на модельных смесях в интервале от 70% до 130% от заявленного содержания ДВ. Результаты представлены графически на рисунках 1–4 в ви-

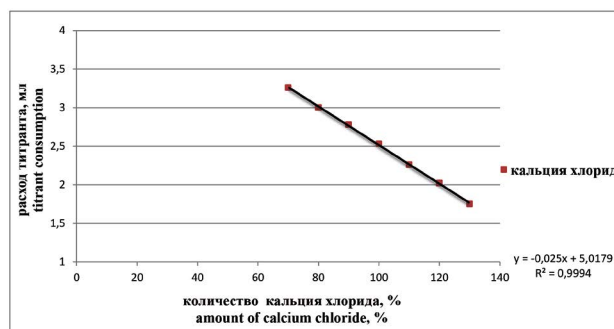


Рисунок 1. Зависимость расхода титранта (мл) от количества кальция хлорида в модельных смесях (в диапазоне от 70 до 130% от заявленного содержания) по результатам титриметрического определения

Figure 1. The dependence of the titrant flow rate (ml) on the amount of calcium chloride in the model mixtures (in the range from 70 to 130% of the declared content) according to the results of titrimetric determination

Таблица 1. Результаты исследования специфичности методик количественного определения ДВ пленок (содержание ДВ на среднюю терапевтическую дозу (СТД) 0,05 г)

Table 1. Results of the study of specificity of methods of quantitative determination of DV films (the content of DV on the average therapeutic dose (STD) 0.05 g)

Состав модельной смеси	CaCl ₂		K ₂ HPO ₄		NaF		ХГБ	
	взято, г	найденно, г	взято, г	найденно, г	взято, г	найденно, г	взято, г	найденно, г
CaCl ₂ , K ₂ HPO ₄ , NaF, ХГБ	0,00275	0,00271	0,00370	0,00368	0,000022	0,000019	0,000049	0,000051
CaCl ₂	0,00275	0,00272	–	–	–	–	–	–
K ₂ HPO ₄	–	–	0,00370	0,00365	–	–	–	–
NaF	–	–	–	–	0,000022	0,000021	–	–
ХГБ	–	–	–	–	–	–	0,000049	0,000050
CaCl ₂ , K ₂ HPO ₄	0,00275	0,00270	0,00370	0,00368	–	–	–	–
CaCl ₂ , NaF	0,00275	0,00273	–	–	0,000022	0,000020	–	–
K ₂ HPO ₄ , NaF, ХГБ	–	–	0,00370	0,00367	0,000022	0,000021	0,000049	0,000051

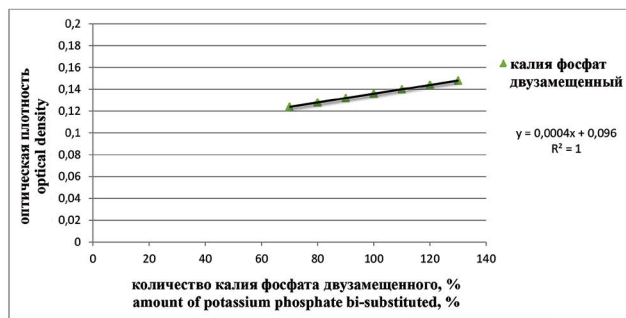


Рисунок 2. Зависимость оптической плотности от количества калия фосфата двузамещенного в модельных смесях при фотоэлектроколориметрическом определении (в диапазоне от 70 до 130% от заявленного содержания)

Figure 2. The dependence of optical density from quantity of potassium phosphate dosagedosage in model mixtures with photoelectrocolorimetry determination (in the range of 70 to 130% of the declared content)

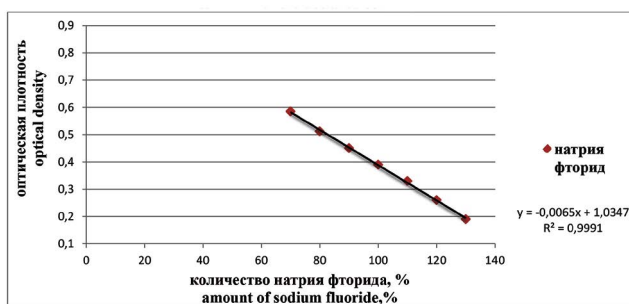


Рисунок 3. Зависимость оптической плотности от количества натрия фторида в модельных смесях при фотоэлектроколориметрическом определении (в диапазоне от 70 до 130% от заявленного содержания)

Figure 3. The dependence of optical density from quantity of sodium fluoride in model mixtures with photoelectrocolorimetry definition (in the range of 70 to 130% of the declared content)

де зависимости расхода титранта для титриметрических методов анализа и оптической плотности для фотоэлектроколориметрического и спектрофотометрического методов от содержания исследуемого ДВ.

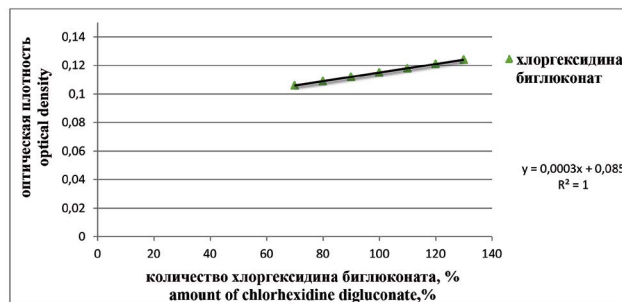


Рисунок 4. Зависимость оптической плотности от количества хлоргексидина биглюконата в модельных смесях при спектрофотометрическом определении (в диапазоне от 70 до 130% от заявленного содержания)

Figure 4. The dependence of optical density on the amount of chlorhexidine bigluconate in model mixtures at spectrophotometric determination (in the range of 70 to 130% of the declared content)

Линейный коэффициент корреляции R составил: для кальция хлорида – 0,999; калия фосфата двузамещенного в пленках – 1,000; натрия фторида – 0,999; хлоргексидина биглюконата – 1,000.

На основании полученных результатов можно утверждать, что соблюдается линейная зависимость между величинами аналитических сигналов и содержанием исследуемых ДВ в пленках в интервале 70–130% от декларируемого количества.

Правильность методик устанавливали по результатам анализа модельных смесей в трех параллелях определения для 7 аналитических концентраций в интервале от 70 до 130% от декларируемого состава. Результаты определения правильности методик представлены в таблице 2.

Из результатов, представленных в таблице 2, видно, что отношение «найдено: введено» (Z_i) находится в интервале 97–103%, что свидетельствует об удовлетворительной правильности методик.

Аналитическая область применения предложенных методик установлена в процессе изучения их линейности и правильности, и находится в интервале от 70 до 130% от номинального количества ДВ в пленках.

Таблица 2. Результаты оценки правильности методик количественного определения ДВ в пленках

Table 2. Results of assessment of correctness of methods of quantitative determination of DV in films

Количество ЛС от заявленного, %	Состав модельной смеси, г				Найдено, г				Z_i , %			
	CaCl ₂	K ₂ HPO ₄	NaF	ХГБ	CaCl ₂	K ₂ HPO ₄	NaF	ХГБ	CaCl ₂	K ₂ HPO ₄	NaF	ХГБ
70	0,00193	0,00259	0,0000154	0,000035	0,00191	0,00256	0,0000150	0,000034	98,96	98,84	97,40	97,14
80	0,00220	0,00296	0,0000176	0,000040	0,00221	0,00300	0,0000172	0,000039	100,45	101,35	97,73	97,50
90	0,00248	0,00333	0,0000198	0,000045	0,00243	0,00330	0,0000196	0,000046	97,98	99,10	98,99	102,22
100	0,00275	0,00370	0,0000220	0,000050	0,00270	0,00381	0,000021	0,000049	98,18	102,97	95,45	98,00
110	0,00303	0,00407	0,0000242	0,000055	0,00300	0,00405	0,0000245	0,000054	99,01	99,51	101,24	98,18
120	0,00330	0,00444	0,0000264	0,000060	0,00326	0,00440	0,0000260	0,000061	98,79	99,10	98,48	101,67
130	0,00358	0,00481	0,0000286	0,000065	0,00356	0,00479	0,0000283	0,000064	99,44	99,58	98,95	98,46

Таблица 3. Результаты количественного определения ДВ пленок (содержание ДВ на СТД 0,05 г)

Table 3. Results of quantitative determination of DV films (the contents on the STD DV 0.05 g)

ДВ	Серия	Метрологические характеристики					
		X, г	\bar{X} , г	S, г	$\Delta\bar{X}$	ϵ , %	$\bar{\epsilon}$, %
Кальция хлорид	1	0,00285	0,00274	$0,825 \times 10^{-4}$	$1,026 \times 10^{-4}$	8,05	3,74
	2	0,00271				8,46	
	3	0,00265				8,65	
	4	0,00280				8,19	
	5	0,00269				8,53	
Калия фосфат двузамещенный	1	0,00368	0,00370	$1,046 \times 10^{-4}$	$1,300 \times 10^{-4}$	7,90	3,51
	2	0,00379				7,67	
	3	0,00356				8,17	
	4	0,00381				7,63	
	5	0,00364				7,99	
Натрия фторид	1	0,000022	0,000021	$1,58 \times 10^{-6}$	$1,96 \times 10^{-6}$	24,77	9,33
	2	0,000021				25,95	
	3	0,000023				23,70	
	4	0,000019				28,68	
	5	0,000020				27,25	
ХГБ	1	0,000049	0,000049	$1,58 \times 10^{-6}$	$1,96 \times 10^{-6}$	8,96	4,00
	2	0,000050				8,78	
	3	0,000048				9,15	
	4	0,000047				9,35	
	5	0,000051				8,61	

Прецизионность (повторяемость) методик оценивали по результатам анализа пяти серийных образцов. Экспериментальные данные статистически обработаны. Результаты количественного определения ДВ в пленках представлены в таблице 3.

Доверительные интервалы ($X \pm \Delta X$) составили: для кальция хлорида $0,00274 \pm 0,00010$ г, для калия фосфата двузамещенного $0,00370 \pm 0,00013$ г, для натрия фторида $0,000021 \pm 0,000002$ г, ХГБ $0,000049 \pm 0,000002$ г; стандартное отклонение (S) для кальция хлорида $0,0000825$; для калия фосфата двузамещенного $0,0001046$; для натрия фторида $0,0000158$; для ХГБ $0,0000158$. Можно сделать заключение о прецизионности исследуемых методик под влиянием внутрилабораторных вариаций.

Валидируемые методики использованы в рамках проведения стандартизации пленок для определения показателей «Подлинность» и «Количественное определение».

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Изучены валидационные характеристики методик испытания на подлинность и количественного определения кальция хлорида, калия фосфата двузамещенного, натрия фторида и ХГБ в пленках для лечения кариеса дентина. По результатам валидации установлено, что методики являются специфичными для определения содержания ДВ в пленках, характеризуются точностью и прецизионностью (повторяемостью), линейной зависимостью в аналитической области $\pm 30\%$ по отношению к заявленному содержанию ДВ в плен-

ках, что позволяет использовать их для достоверной оценки качества. Полученные данные будут использованы для составления проекта НД на пленки для лечения кариеса дентина.

ЛИТЕРАТУРА

1. Голованенко А. Л. Использование комбинированных лекарственных паст для лечения кариеса дентина. *Стоматология для всех*. 2016; 3: 6–11.
2. Голованенко А. Л., Березина Е. С., Алексеева И. В., Павлова Г. А., Першина Р. Г. Создание рациональной лекарственной формы для лечения кариеса дентина. *Медицинский альманах*. 2016; 1(41): 116–119.
3. Леонова Л. Е., Павлова Г. А., Першина Р. Г., Голованенко А. Л. Эффективность лечения кариеса дентина с использованием лекарственного средства реминерализующего действия. *Пермский медицинский журнал*. 2016; 2(33): 71–75.
4. Голованенко А. Л., Смирнова М. М., Алексеева И. В., Блинова О. А. Основные подходы к стандартизации пленок лекарственных. *Современные проблемы науки и образования*. 2012; 2. Available at: <http://www.science-education.ru/102-5694> (дата обращения 07.03.2019).
5. Леонова Л. Е., Першина Р. Г., Голованенко А. Л., Павлова Г. А., Березина Е. С. Патент 2560680. Средство для лечения кариеса дентина. Заявл. 17.06.2014; опубл. 20.08.2015; приор. 17.06.2014.
6. Березина Е. С., Голованенко А. Л. Разработка методик качественного и количественного определения фторидов в геле реминерализующего действия. *Современные проблемы науки и образования*. 2012; 6. Available at: <http://www.science-education.ru/106-7410> (дата обращения 13.11.2012).
7. Березина Е. С., Голованенко А. Л., Алексеева И. В. Валидация методики количественного определения хлоргексидина биглюконата в геле для лечения кариеса дентина. *Международный научно-исследовательский журнал*. 2017; 4(58): 133–135.
8. Березина Е. С., Голованенко А. Л., Алексеева И. В. Разработка методик качественного и количественного определения фосфатов в пленках лекарственных реминерализующего действия. *Фармация*. 2015; 1: 7–9.

9. Третьякова Е. В., Березина Е. С., Голованенко А. Л., Алексеева И. В., Першина Р. Г. Валидация методик количественного определения компонентов в пленках лекарственных для лечения кариеса эмали. *Современные проблемы науки и образования*. 2015; 1. Available at: <http://www.science-education.ru/121-19155> (дата обращения 19.05.2015).
10. Государственная фармакопея Российской Федерации XIV издание. М., 2018; 1: 1814. Available at: <http://femb.ru/femb/pharmacopea.php/HTML>.
11. Государственная фармакопея Российской Федерации XIV издание. М., 2018; 3: 5187. Available at: <http://femb.ru/femb/pharmacopea.php/HTML>.
12. Голованенко А. Л., Кириллова Р. В., Одегова Т. Ф., Павлова Г. А. Стандартизация геля для лечения глубокого кариеса. *Химико-фармацевтический журнал*. 2006; 4: 54–56.
13. Голованенко А. Л., Березина Е. С., Третьякова Е. В., Першина Р. Г., Алексеева И. В. Стандартизация пленок для лечения кариеса эмали. Фундаментальные исследования. 2014; 9(5): 1038–1041.

REFERENCES

1. Golovanenko A. L. Use of combined medicinal patches for the treatment of caries of dentin. *Stomatology for all*. 2016; 3: 6–11 (in Russ.).
2. Golovanenko A. L., Bepezina E. C., Alekseeva I. V., Pavlova G. A., Pershina R. G. Establishment of a Remedial Pharmaceutical Form for the Treatment of Dentine Caries. *Medical Almanac*. 2016; 1(41): 116–119 (in Russ.).
3. Leonova L. E., Pavlova G. A., Pershina R. G., Golovanenko A. L. The effectiveness of the treatment of dentin caries with the use of the remineralizing drug. *Perm medical journal*. 2016; 2(33): 71–75 (in Russ.).
4. Golovanenko A. L., Smirnova M. M., Alekseeva I. V., Blinova O. A. Primary approaches to the standardization of medical films. *Current problems of science and education*. 2012; 2. Available at: <http://www.science-education.ru/102-5694> (accessed 07.03.2012) (in Russ.).
5. Leonova L. E., Pershina R. G., Golovanenko A. L., Pavlova G. A., Bepezina E. C. Patent 2560680. Dentin caries treatment agent. Claim. 06.17.2014; publ. 08.20.2015; prior 06.17.2014 (in Russ.).
6. Bepezina E. C. Golovanenko A. L. Development of methods for qualitative and quantitative determination of fluoride in a gel of reactive activity. *Current problems of science and education*. 2012; 6. Available at: <http://www.science-education.ru/106-7410> (accessed 13.11.2012) (in Russ.).
7. Bepezina E. C., Golovanenko A. L., Alekseeva I. V. Validation of the method of chlorexgidine digluconate in a gel for the treatment of carine dentine. *International research journal*. 2017; 4(58): 133–135 (in Russ.).
8. Berezina E. S., Golovanenko A. L., Alekseeva I. V. Development of methods for the qualitative and quantitative determination of phosphates in films of medicinal remineralizing action. *Pharmacy*. 2015; 1: 7–9 (in Russ.).
9. Tpet'jakova E. V., Bepezina E. C., Golovanenko A. L., Alekseeva I. V., Pershina R. G. Validation of methods of collective definition of components in medicinal films for caries of enamel. *Current problems of science and education*. 2015; 1. Available at: <http://www.science-education.ru/121-19155>, (accessed 19.05.2015) (in Russ.).
10. Russian Federation State Pharmacopoeia XIV ed. M., 2018; 1: 1814. Available at: <http://femb.ru/femb/pharmacopea.php/HTML> (in Russ.).
11. Russian Federation State Pharmacopoeia XIV ed. M., 2018; 3: 5187. Available at: <http://femb.ru/femb/pharmacopea.php/HTML> (in Russ.).
12. Golovanenko A. L., Kirillova R. V., Odegova T. F., Pavlova G. A. Standardization of the gel for the treatment of deep caries. *Chemical-Pharmaceutical Journal*. 2006; 4: 54–56 (in Russ.).
13. Golovanenko A. L., Bepezina E. C., Tpet'jakova E. V., Pershina R. G., Alekseeva I. V. Standardization of films for the treatment of caries of enamel. *Fundamental Research*. 2014; 9(5): 1038–1041 (in Russ.).