

# СТАНДАРТИЗАЦИЯ СТОМАТОЛОГИЧЕСКОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ПЛЕНКИ НА ОСНОВЕ ЯНТАРНОЙ КИСЛОТЫ И ЦЕТИЛПИРИДИНИЯ ХЛОРИДА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МЕТОДА ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ

## Н.Н. Ножкина

ст. преподаватель, кафедра фармации и химии, фармацевтический факультет, Южно-Уральский государственный медицинский университет (г. Челябинск)  
E-mail: nozhkina.natalya@mail.ru

## Е.В. Симонян

к.фарм.н., доцент, зав. кафедрой фармации и химии, фармацевтический факультет, Южно-Уральский государственный медицинский университет (г. Челябинск)  
E-mail: elenasimonian@yandex.ru

## А.И. Сеницкий

д.м.н., доцент, зав. кафедрой биохимии им. Р.И. Лифшица, Южно-Уральский государственный медицинский университет (г. Челябинск)  
E-mail: sinitskiyai@yandex.ru

Разработана методика количественного определения янтарной кислоты и цетилпиридиния хлорида (ЦПХ) при совместном присутствии в стоматологических лекарственных пленках методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. Проведена оценка пригодности хроматографической системы. Методика валидирована по параметрам: специфичность, линейность, аналитическая область, правильность и прецизионность. Установлено, что методика линейна в диапазоне концентраций для янтарной кислоты от 0,05 до 0,15 мг/мл, для ЦПХ – от 0,02 до 0,06 мг/мл, коэффициент корреляции приближается к единице; относительное стандартное отклонение определения не превышает 2%. Представленная методика характеризуется достаточно высокой чувствительностью, экспрессностью, воспроизводимостью и может быть включена в проект фармакопейной статьи на стоматологическую лекарственную пленку.

**Ключевые слова:** янтарная кислота, цетилпиридиния хлорид, стоматологическая лекарственная пленка.

**Для цитирования:** Ножкина Н.Н., Симонян Е.В., Сеницкий А.И. Стандартизация стоматологической лекарственной пленки на основе янтарной кислоты и цетилпиридиния хлорида с использованием метода высокоэффективной жидкостной хроматографии. Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2019;22(8):15–20.  
<https://doi.org/10.29296/25877313-2019-08-03>

Проблема поиска эффективных методов лечения воспалительных заболеваний тканей пародонта является достаточно актуальной. В локальной терапии данного заболевания применяют лекарственные препараты, обладающие комплексным действием, – антибактериальным, фунгицидным и антигипоксантным. Также при лечении необходимо обеспечить максимально длительный контакт лекарственного средства с тканью пародонта [1].

Исходя из перечисленных требований, были разработаны стоматологические лекарственные пленки (ЛП), содержащие янтарную кислоту и цетилпиридиния хлорид (ЦПХ).

Ц е л ь и с с л е д о в а н и я – разработка и валидация методики контроля качества лекарственной формы, содержащей янтарную кислоту и ЦПХ, с использованием метода высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Объектами исследования являлись разработанные авторами стоматологические ЛП (патент РФ на изобретение № 2617238 «Способ получения лекарственного средства с янтарной кислотой и цетилпиридиния хлоридом местного действия») [2].

Условия хроматографирования:

жидкостный хроматограф «Стайер», снабженный спектрофотометрическим детектором UVV 104.1 M;

колонокка – Luna C18 250×4,6 мм, размер пор 5 мкм; предколонокка – Security Guard C18 4×30 мм; детектирование – многоволновой режим в диапазоне длин волн 190–600 нм;

подвижная фаза (ПФ) – раствор серной кислоты С 1/З – 0,005 моль/л;

температура термостатирования колонки – 25±0,5 °С;

длина волны детектирования – 210 нм, объем вводимой дозы – 20 мкл.

**Приготовление раствора испытуемого образца стоматологических ЛП:** около 0,08 г (точная навеска) пленочной массы измельчали ножницами до размера 0,5×0,5 см, помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляли 15–20 мл 0,005 М раствора серной кислоты, нагревали на водяной бане при температуре 60 °С до полного растворения лекарственной формы, охлаждали.

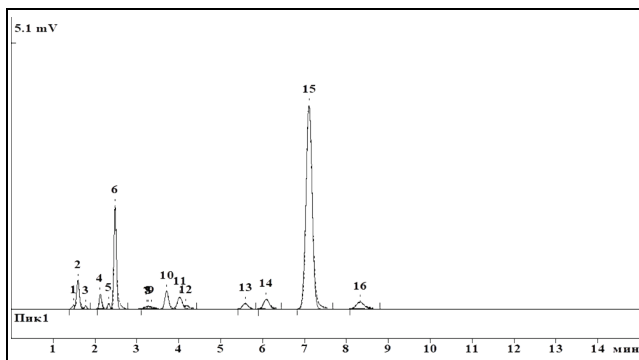


Рис. 1. Хроматограмма раствора стоматологической лекарственной пленки

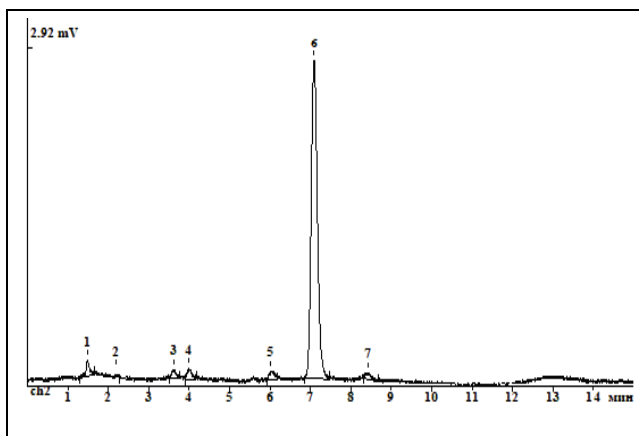


Рис. 2. Хроматограмма РСО янтарной кислоты

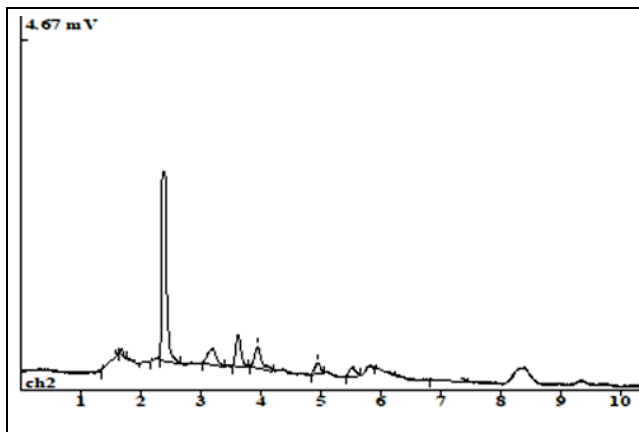


Рис. 3. Хроматограмма РСО цетилпиридиния хлорида

Затем доводили тем же растворителем до метки, перемешивали и фильтровали.

**Приготовление раствора стандартного образца (PCO) янтарной кислоты:** 0,1 г (точная навеска) PCO янтарной кислоты (ФСП 42-0348395903) вносили в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяли в 0,005 М раствора серной кислоты, подогретой до 60 °С. Раствор охлаждали, доводили тем же растворителем до метки, перемешивали и фильтровали. Далее 5 мл полученного раствора пипеткой Мора количественно переносили в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводили тем же растворителем до метки, перемешивали и фильтровали.

**Приготовление раствора РСО цетилпиридиния хлорида:** 0,02 г (точная навеска) ЦПХ (ГУ 6-09-15-121-74) вносили в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяли в 0,005 М растворе серной кислоты. Раствор доводили тем же растворителем до метки, перемешивали и фильтровали. Далее 2,5 мл полученного раствора пипеткой Мора количественно переносили в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводили тем же растворителем до метки, перемешивали и фильтровали.

На начальном этапе исследования экспериментально были подобраны условия проведения ВЭЖХ-анализа. Далее не менее трех раз, проводили хроматографирование раствора испытуемого образца стоматологических ЛП и растворов РСО янтарной кислоты и ЦПХ (рис. 1–3).

Установлено, что время удерживания РСО янтарной кислоты совпадает со временем удерживания янтарной кислоты в ЛП ( $7,08 \pm 0,11$  мин); время удерживания РСО ЦПХ совпадает со временем удерживания ЦПХ в ЛП ( $2,5 \pm 0,05$  мин).

Количественное определение янтарной кислоты и ЦПХ в ЛП проводили согласно разработанной методике. Содержание рассчитывали исходя из площади пика испытуемого раствора ЛП и РСО. Статистическую обработку результатов проводили согласно ОФС.1.1.0013.15 «Статистическая обработка результатов химического эксперимента» (табл. 1 и 2) [3].

Критерий приемлемости – величина относительного стандартного отклонения не превышает 2%, относительная погрешность определения составляет 1,61% (янтарная кислота) и 1,98% (ЦПХ).

Для проверки пригодности хроматографической системы хроматографировали РСО янтарной кислоты и РСО ЦПХ. Система считается пригодной, если выполняются условия, представленные в табл. 3.

**Таблица 1. Метрологические характеристики метода количественного определения янтарной кислоты в лекарственной пленке**

$\mu$ , мг	$f$	$\bar{x}$ , мг	$S^2$	$S$	$p$ , %	$t(p, f)$	$\Delta x$	$x \pm x$	$\varepsilon$ , %
2,5	5	2,48	0,00176	0,042	95	2,57	0,04	2,48±0,04	1,61

**Таблица 2. Метрологические характеристики метода количественного определения цетилпиридиния хлорида в лекарственной пленке**

$\mu$ , мг	$f$	$\bar{x}$ , мг	$S^2$	$S$	$p$ , %	$t(p, f)$	$\Delta x$	$x \pm x$	$\varepsilon$ , %
1,000	5	1,01	0,0004	0,02	95	2,57	0,02	1,01±0,02	1,98

**Таблица 3. Результаты оценки пригодности хроматографической системы**

Параметры пригодности хроматографической системы	Условия пригодности хроматографической системы	Результаты
Янтарная кислота		
Эффективность хроматографической колонки, рассчитанная по пику янтарной кислоты	Более 10000 теоретических тарелок	Соответствует 10034±15
Фактор асимметрии пика ( $A_s$ )	Не превышает 1,5	Соответствует 1,30±08
Время удерживания янтарной кислоты	7 мин	7,08±0,11 мин
Относительное стандартное отклонение времени удерживания	Не более 2%	Соответствует
Относительное стандартное отклонение площади пика	Не более 2%	Соответствует
ЦПХ		
Эффективность хроматографической колонки, рассчитанная по пику ЦПХ	Более 5000 теоретических тарелок	Соответствует 5048±10
Фактор асимметрии пика ( $A_s$ )	Не превышает 1,5	Соответствует
Время удерживания ЦПХ	2,5 мин	2,5±0,05
Относительное стандартное отклонение времени удерживания	Не более 2%	Соответствует
Относительное стандартное отклонение площади пика	Не более 2%	Соответствует

Полученные данные свидетельствуют о пригодности хроматографической системы по всем исследуемым критериям.

Валидационную оценку методики определения янтарной кислоты и ЦПХ в ЛП методом обращено-фазовой ВЭЖХ проводили согласно требованиям ГОСТ Р ИСО 5725 и ОФС.1.1.0012.15 «Валидация аналитических методик» по параметрам: специфичность, линейность, аналитическая область, правильность и прецизионность [3, 4].

Специфичность методики анализа позволяет определять действующие вещества в присутствии сопутствующих компонентов ЛП. Установлено, что на хроматограмме раствора из пленки «плацебо» не наблюдается пиков со временем удержива-

ния 7,08±0,12 и 2,5±0,05 мин, что свидетельствует о специфичности методики в отношении данных веществ [5, 6].

Линейность и диапазон аналитической области методики определяли на семи уровнях концентраций в диапазоне от 50 до 150% от искомой концентрации (рис. 4 и 5).

Методика линейна для янтарной кислоты в диапазоне концентраций 0,05 до 0,15 мг/мл и ЦПХ от 0,02 до 0,06 мг/мл, коэффициент корреляции приближается к единице, что является характеристикой приемлемости линейности.

Правильность методики оценивали на трех уровнях концентраций в пределах аналитической области методики (табл. 4 и 5).

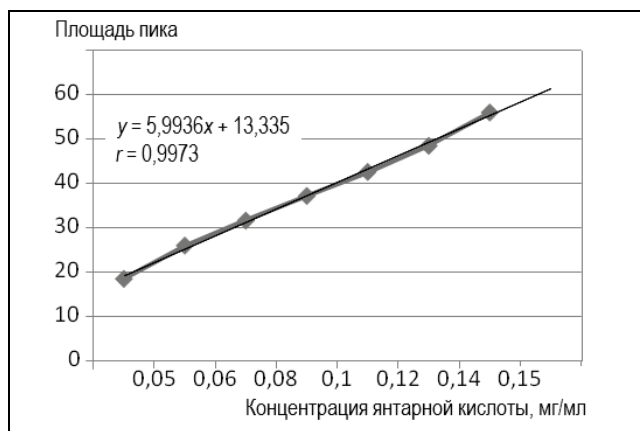


Рис. 4. График зависимости площади пика от содержания янтарной кислоты

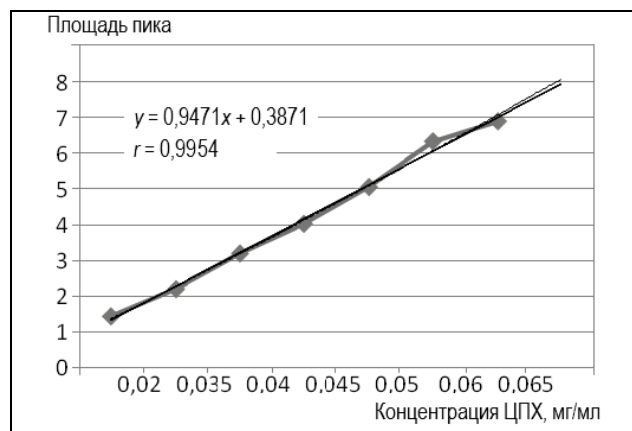


Рис. 5. График зависимости площади пика от содержания ЦПХ

Таблица 4. Результаты определения правильности методики анализа в отношении янтарной кислоты

Уровень концентрации, %	Расчетное содержание янтарной кислоты, мг	Найденное количество янтарной кислоты, мг	Открываемость методики R, %	Метрологические характеристики
60	1,50	1,48	98,67	$\bar{x} = 100,21\%$ $S = 1,49$ $S_{\sigma} = 0,51\%$ $\bar{x} \pm \Delta x = 100,21 \pm 1,12$ $\varepsilon = \pm 1,12\%$
60	1,50	1,53	102,0	
60	1,50	1,49	99,33	
100	2,50	2,48	99,20	
100	2,50	2,49	99,60	
100	2,50	2,48	99,20	
160	4,00	4,10	102,50	
160	4,00	4,08	102,00	
160	4,00	3,98	99,50	
Средний процент восстановления, %				100,21

Таблица 5. Результаты определения правильности методики анализа в отношении цетилпиридиния хлорида

Уровень концентрации, %	Расчетное содержание ЦПХ, мг	Найденное количество ЦПХ, мг	Открываемость методики R, %	Метрологические характеристики
60	0,60	0,610	101,7	$\bar{x} = 102,3\%$ $S = 0,74$ $S_{\sigma} = 0,25\%$ $\bar{x} \pm \Delta x = 102,3 \pm 0,57$ $\varepsilon = \pm 0,56\%$
60	0,60	0,612	102,0	
60	0,60	0,618	103,0	
100	1,00	1,025	102,5	
100	1,00	1,024	102,4	
100	1,00	1,040	102,4	
160	1,60	1,612	100,8	
160	1,60	1,648	103,0	
160	1,60	1,650	103,1	
Средний процент восстановления, %				102,3%

Таблица 6. Результаты определения повторяемости методики анализа

№ п/п	Масса навески ЛП, г	Площадь пика янтарной кислоты в ЛП, mV*с	Площадь пика РСО янтарной кислоты, mV*с;	Найдено янтарной кислоты в ЛП, мг	Метрологические характеристики
1	0,0809	36,454	37,953	2,46	$\bar{x} = 2,48$ $S = 0,042$ $S_{\sigma} = 0,69\%$ $x \pm \Delta x = 2,48 \pm 0,04$ $\varepsilon = \pm 1,61\%$
2	0,0810	36,522		2,47	
3	0,0805	37,001		2,49	
4	0,0808	36,524		2,47	
5	0,0812	37,258		2,51	
6	0,0806	37,010		2,49	
№ п/п	Масса навески ЛП, г	Площадь пика янтарной кислоты в ЛП, mV*с	Площадь пика РСО янтарной кислоты, mV*с;	Найдено янтарной кислоты в ЛП, мг	Метрологические характеристики
1	0,0805	18,592	18,776	1,02	$\bar{x} = 1,00$ $S = 0,02$ $S_{\sigma} = 0,82$ $x \pm \Delta x = 1,00 \pm 0,02$ $\varepsilon = \pm 1,9\%$
2	0,0802	17,782		0,98	
3	0,0806	18,605		1,02	
4	0,0808	17,915		0,98	
5	0,0805	18,759		1,03	
6	0,0807	18,623		1,02	

Процент восстановления не превышает  $100 \pm 5\%$ , что соответствует требованиям правильности методики [5, 6].

Для определения прецизионности аналитической методики установлена ее повторяемость (сходимость) (табл. 6).

Относительное стандартное отклонение и относительная погрешность среднего результата не превышают 2%, что соответствует критерию повторяемости (сходимость) [5, 6]. Содержание янтарной кислоты в ЛП  $2,48 \pm 0,04$  мг (номинальное – 2,5 мг), ЦПХ –  $1,00 \pm 0,02$  мг (номинальное 1 мг).

## Выводы

1. Разработана методика количественного определения янтарной кислоты и ЦПХ при совместном присутствии в стоматологических ЛП методом обращено-фазовой ВЭЖХ. Экспериментально подобраны условия хроматографирования и определены характеристики параметров для оценки пригодности хроматографической системы.
2. Валидационная оценка методики проведена по параметрам: специфичность, линейность,

аналитическая область, правильность и прецизионность.

3. Методика линейна в диапазоне концентраций для янтарной кислоты 0,05 до 0,15 мг/мл, для ЦПХ – от 0,02 до 0,06 мг/мл, коэффициент корреляции приближается к единице; относительное стандартное отклонение определения не превышает 2%.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Кондюрова Е.В., Власов А.П., Дерябина Е.В., Адамчик Р.А., Акимов В.В., Полозова Э.И., Ташина Е.А. Метаболические эффекты комбинированной терапии при хроническом пародонтите // Ульяновский медико-биологический журнал. 2018. № 1. С. 86–93.
2. Патент на изобретение № 2617238 / Ноожкина Н.Н., Симонян Е.В., Синицкий А.И., Филимонова О.И., Шишкова Ю.С., Белоусова Е.О. // Бюллетень «Изобретения. Полезные модели». 2017. № 12.
3. Государственная фармакопея Российской Федерации XIV издания. Т. I. Режим доступа: <http://femb.ru/femb/pharmacopoea.php>. Ссылка активна на 16.03.2019.
4. ГОСТ Р ИСО 5725-1-2002 Точность (правильность и прецизионность) методов и результатов измерений. Режим доступа: <http://docs.cntd.ru/document/1200029975>. Ссылка активна на 16.03.2019.

5. РМГ 61-2010 Государственная система обеспечения единства измерений. Показатели точности, правильности, прецизионности методик количественного химического анализа. Методы оценки. Режим доступа: <http://docs.cntd.ru/document/1200094703>. Ссылка активна на 16.03.2019.
6. ICH Q2(R1) Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology / ICH Harmonized Tripartite Guidelines. Режим доступа: <http://www.sciepub.com/reference/78818>. Ссылка активна на 16.03.2019.

Поступила 9 апреля 2019 г.

## STANDARDIZATION OF DENTAL PHARMACEUTICAL FILM BASED ON SUCCINIC ACID AND CHLORIDE CETYLPYRIDINIUM USING THE METHOD HIGHLY EFFICIENT LIQUID CHROMATOGRAPHY

© Authors, 2019

### N.N. Nozhkina

Senior Lecturer, Department of Pharmacy and Chemistry, Pharmaceutical Faculty, South-Ural State Medical University (Chelyabinsk)  
E-mail: [nozhkina.natalya@mail.ru](mailto:nozhkina.natalya@mail.ru)

### E.V. Simonyan

Ph.D. (Pharm.), Associate Professor, Head of the Department of Pharmacy and Chemistry, Pharmaceutical Faculty, South-Ural State Medical University (Chelyabinsk)  
E-mail: [elenasimonian@yandex.ru](mailto:elenasimonian@yandex.ru)

### A.I. Sinitsky

Ph.D. (Med.), Associate Professor, Head of the Department of Biochemistry. R.I. Lifshits, South-Ural State Medical University (Chelyabinsk)  
E-mail: [sinitskiyai@yandex.ru](mailto:sinitskiyai@yandex.ru)

A method has been developed for the quantitative determination of succinic acid and cetylpyridinium chloride with the joint presence in dental medicinal films by high performance liquid chromatography. The evaluation of the suitability of the chromatographic system. The technique is validated by parameters: specificity, linearity, analytical domain, accuracy and precision. It was established that the technique is linear in the concentration range for succinic acid 0,05 to 0,15 mg/ml, for cetylpyridinium chloride – from 0,02 to 0,06 mg/ml, the correlation coefficient approaches 1; relative standard deviation of determination does not exceed 2%.

The presented technique is characterized by a rather high sensitivity, rapidity, reproducibility and can be included in the draft pharmacopoeial article on dental medicinal film.

**Key words:** *succinic acid, cetylpyridinium chloride, dental medicinal film.*

**For citation:** Nozhkina N.N., Simonyan E.V., Sinitsky A.I. Standardization of dental pharmaceutical film based on succinic acid and chloride cetylpyridinium using the method highly efficient liquid chromatography. Problems of biological, medical and pharmaceutical chemistry. 2019;22(8):15–20. <https://doi.org/10.29296/25877313-2019-08-03>

## REFERENCES

1. Kondyurova E.V., Vlasov A.P., Deryabina E.V., Adamchik R.A., Akimov V.V., Polozova E.I., Tashina E.A. Metabolicheskie efekty kombinirovannoy terapii pri hronicheskom parodontite //Ul'yanovskij mediko-biologicheskij zhurnal. 2018. № 1. S. 86–93.
2. Patent na izobretenie № 2617238 / Nozhkina N.N., Simonyan E.V., Sinickij A.I., Filimonova O.I., SHishkova YU.S., Belousova E.O. // Byulleten' «Izobreteniya. Poleznye modeli». 2017. № 12.
3. Gosudarstvennaya farmakopeya Rossijskoj Federacii HIV izdaniya. T. I. Rezhim dostupa: <http://femb.ru/femb/pharmacopea.php>. Ssylka aktivna na 16.03.2019.
4. GOST R ISO 5725-1-2002 Tochnost' (pravil'nost' i precizionnost') metodov i rezul'tatov izmerenij. Rezhim dostupa: <http://docs.cntd.ru/document/1200029975>. Ssylka aktivna na 16.03.2019.
5. РМГ 61-2010 Gosudarstvennaya sistema obespecheniya edinstva izmerenij. Pokazateli tochnosti, pravil'nosti, precizionnosti metodik kolichestvennogo himicheskogo analiza. Metody ocenki. Rezhim dostupa: <http://docs.cntd.ru/document/1200094703>. Ssylka aktivna na 16.03.2019.
6. ICH Q2(R1) Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology / ICH Harmonized Tripartite Guidelines. Режим доступа: <http://www.sciepub.com/reference/78818>. Ссылка активна на 16.03.2019.