

Анализ натрия хлорида в многокомпонентной гемостатической лекарственной форме

Ю.Н. Барсукова, О.А. Мельникова, А.Ю. Петров, М.Ю. Мельников

Уральский государственный медицинский университет,
Российская Федерация, 620028, Екатеринбург, ул. Репина, д. 3

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Барсукова Юлия Николаевна – аспирант кафедры фармации и химии, ФГБОУ ВО Уральский государственный медицинский университет. Тел.: +7 (909) 003-21-22. E-mail: iulija.barsukowa@yandex.ru. ORCID: 0000-0002-0407-5478

Мельникова Ольга Александровна – доктор фармацевтических наук, профессор кафедры фармации и химии, ФГБОУ ВО Уральский государственный медицинский университет. Тел.: +7 (908) 912-10-73. E-mail: newfarmacia@mail.ru. ORCID: 0000-0002-1317-3109

Петров Александр Юрьевич – доктор фармацевтических наук, зав. кафедрой фармации и химии, ФГБОУ ВО Уральский государственный медицинский университет. Тел.: +7 (912) 241-59-18. E-mail: uniitmp@yandex.ru. SPIN-код: 6297-2619 Author ID: 690534

Мельников Михаил Юрьевич – кандидат химических наук, доцент кафедры фармации и химии, ФГБОУ ВО Уральский государственный медицинский университет. Тел.: +7 (950) 197-71-89. E-mail: sasha-ber73@mail.ru. ORCID: 0000-0002-9239-4419

РЕЗЮМЕ

Введение. В доклинических испытаниях разработанная гемостатическая лекарственная форма (ЛФ) показала себя как эффективное средство при местных кровотечениях в нейрохирургической практике. Свой фармакологический эффект, представленная ЛФ реализует за счет входящего в состав антифибринолитического компонента – аминокaproновой кислоты, соли железа, вызывающей коагуляцию, и изотонирующего компонента – натрия хлорида.

Цель исследования: разработка и валидация методики количественного определения изотонирующего компонента гемостатического средства – натрия хлорида. Для разработки методики выбран метод аргентометрического титрования.

Материал и методы. В качестве объекта исследования использовали состав гемостатической лекарственной формы в виде раствора для наружного применения (аминокaproновая кислота, железа III хлорид 6-водный, натрия хлорид, вода очищенная). Применен титриметрический метод анализа. Для обработки данных использованы методы статистической обработки данных в соответствии с ОФС 1.1.0013.15 «Статистическая обработка результатов эксперимента» ГФ РФ XIV изд. при помощи программы Microsoft Excel.

Результаты. Определено количественное содержание натрия хлорида в гемостатической лекарственной форме. Осуществлена оценка пригодности методики с помощью процедуры валидации по показателям: линейность, аналитическая область, правильность и воспроизводимость. Диапазон аналитической методики составил от 0,001 до 0,5 г. Методика может быть воспроизведена в лабораторных условиях с доверительной вероятностью $P=95\%$ и $X_{\text{р}} \pm \Delta X = 0,10375 \pm 0,00011$, г.

Заключение. Предложена методика количественного определения натрия хлорида в составе гемостатической лекарственной формы. Определены валидационные характеристики и экспериментально подтверждено их соответствие необходимым критериям приемлемости.

Ключевые слова: натрия хлорид, гемостатик, аргентометрия, валидация.

Для цитирования: Барсукова Ю.Н., Мельникова О.А., Петров А.Ю., Мельников М.Ю. Анализ натрия хлорида в многокомпонентной гемостатической лекарственной форме. Фармация, 2021; 70 (7): 18–23. <https://doi.org/10.29296/25419218-2021-07-03>

ANALYSIS OF SODIUM CHLORIDE IN A MULTICOMPONENT HEMOSTATIC FORMULATION

Yu.N. Barsukova, O.A. Melnikova, A.Yu. Petrov, M.Yu. Melnikov

Ural State Medical University, 3, Repin St., Yekaterinburg 620028, Russian Federation

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Barsukova Yulia Nikolaevna – Graduate Student, Department of Pharmacy and Chemistry, Ural State Medical University. Tel.: +7 (909) 003-21-22. E-mail: iulija.barsukowa@yandex.ru. ORCID: 0000-0002-0407-5478

Melnikova Olga Aleksandrovna – Doctor of Pharmaceutical Sciences; Professor, Department of Pharmacy and Chemistry, Ural State Medical University. Tel.: +7 (908) 912-10-73. E-mail: newfarmacia@mail.ru. ORCID: 0000-0002-1317-3109

Petrov Aleksandr Yuryevich – Doctor of Pharmaceutical Sciences, Head, Department of Pharmacy and Chemistry, Ural State Medical University. Tel.: +7 (912) 241-59-18. E-mail: uniitmp@yandex.ru. SPIN-code: 6297-2619 Author ID: 690534

Melnikov Mikhail Yuryevich – Candidate of Chemical Sciences, Associate Professor, Department of Pharmacy and Chemistry, Ural State Medical University. Tel.: +7 (950) 197-71-89. E-mail: sasha-ber73@mail.ru. ORCID: 0000-0002-9239-4419

SUMMARY

Introduction. Preclinical trials have shown that the designed hemostatic formulation is an effective remedy for local bleeding in neurosurgical practice. The pharmacological effect of the formulation is due to an antifibrinolytic component (aminocaproic acid and iron salt) that causes coagulation, and an isotonic component (sodium chloride).

Objective: to develop and validate a procedure for quantification of the isotonic component (sodium chloride) of a hemostatic agent. The argentometric titration method was chosen for developing the procedure.

Material and methods. The composition of the topical hemostatic formulation as a solution (aminocaproic acid, iron (III) chloride hexahydrate, sodium chloride, and purified water) was used as the investigation object. The titrimetric analysis method was applied. The data were processed with statistical data analysis methods in accordance with General Pharmacopoeia Article 1.1.0013.15 «Statistical processing of experimental results» in the 14th edition of the Russian Federation's State Pharmacopoeia, by using the Microsoft Excel program.

Results. The content of sodium chloride was measured in the hemostatic formulation. The suitability of the techniques was assessed applying the validation procedure with the following indicators: linearity, analytical domain, correctness, and reproducibility. The range of the analytical procedure was 0.001 to 0.5 g. The procedure can be reproduced in the laboratory setting with a confidence probability of $P=95\%$ and $X_{\text{mean}} \pm \Delta X = 0.10375 \pm 0.00011$ g.

Conclusion. A procedure has been proposed to measure sodium chloride in the hemostatic formulation composition. Validation characteristics have been determined and their compliance with the necessary acceptance criteria has been experimentally confirmed.

Keywords: sodium chloride, hemostatic, argentometry, validation.

For reference: Barsukova Yu.N., Melnikova O.A., Petrov A.Yu., Melnikov M.Yu. Analysis of sodium chloride in a multicomponent hemostatic formulation. *Farmatsiya*, 2021; 70 (7): 18–23. <https://doi.org/10.29296/25419218-2021-07-03>

Введение

Нормализация гемостаза – важный шаг любой хирургической операции. Нейрохирургия – это область хирургии, в задачи которой входит лечение заболеваний головного мозга, спинного мозга, периферической нервной системы. В ней часто встречаются массивные кровотечения, поэтому адекватный гемостаз – важный шаг во время нейрохирургических операций. Он облегчает их проведение, приводит к успешному завершению и повышает шансы пациента на выздоровление. При отсутствии адекватного гемостаза кровотечение затемняет анатомические особенности человека, ухудшает видимость врача в операционном поле. Кроме этого, остановка кровотечений обеспечивает осушение в области операции, улучшает ее качество, уменьшает послеоперационные осложнения, такие как повышенное кровотечение, отек, уменьшает боль пациента во время операции, нормализует гемостаз, обеспечивает необходимую среду для применения различных нейрохирургических материалов (например, при соединении сосудов).

Идеальное кровоостанавливающее средство должно быть биосовместимым, обеспечивать незамедлительный эффект, связанный с остановкой кровотечения, не оказывать отрицательного воздействия на процесс заживления, быть недорогим. Ассортимент гемостатических средств, существующих на рынке, не является оптимальным. Он не всегда соответствует потребностям, возникающим при ликвидации местных кровотечений, и не обеспечивает достаточную широту выбора. Очень часто для остановки кровоте-

ний используют перевязочные средства на основе хлопковых материалов, пропитанных определенными веществами, используют костный воск, коллагеновые губки. Местные гемостатические средства должны действовать направленно, быстро останавливать кровотечение, как при повреждении крупных сосудов, так и при диффузном кровотечении, легко наноситься на очаг поражения [1–5]. Оптимальной является лекарственная форма в виде раствора для наружного применения. В состав разработанного гемостатика вошли аминокaproновая кислота, железа (III) хлорид 6-водный, натрия хлорид, вода очищенная.

Эпсилон-аминокaproновая кислота является аналогом лизина и клинически используется в качестве антифибринолитического агента. Аминокaproновая кислота вызывает конформационное изменение плазминогена за счет закрытия лизинсвязывающих рецепторов и приводит к ингибированию фибринолиза [6]. Соли железа являются известным некротизирующим агентом (рН 0,8–1,6), который давно применяется в хирургии. При нанесении на рану ионы железа образуют комплекс с белком, который механически блокирует разрезанные сосуды, вызывая коагуляцию тканей различной степени, что приводит к образованию струпов и предотвращению оттока крови из сосудов [7, 8]. Также железо содержится в гемоглобине крови, участвует в процессах кроветворения. Введение его в препарат увеличивает гемостатические и бактериостатические свойства, предотвращает развитие анемии и инфекции. Натрия хлорид введен в состав лекарственной формы с целью изотонирования раствора и повыше-

ния его стабильности в процессе хранения. Кроме этого, в связи со своей физиологической концентрацией он призван уменьшить возможные воспалительные реакции, возникающие при коагулировании белка. Особенностью качественного состава, предложенного гемостатического средства, является совместное присутствие в растворе солей двух хлоридов.

Ранее нами были опубликованы результаты разработки и валидации методики фотометрического определения хлорида железа (III) 6-водного и аминокaproновой кислоты в гемостатическом средстве. Определение хлорида железа (III) 6-водного проводилось за счет образования комплексов железа с сульфосалициловой кислотой – сульфосалицилатов железа [9]. Для количественного определения аминокaproновой кислоты в многокомпонентном гемостатическом средстве была разработана спектрофотометрическая методика, основанная на образовании красителя при взаимодействии с нингидрином [10]. Использовалась прямая спектрофотометрия при длине волны 568 нм. Однако определение натрия хлорида в разработанной лекарственной форме нами не проводилось. Особенностью анализа данной лекарственной формы является то, что в ней содержится сумма хлоридов (хлорид железа и хлорид натрия).

Целью исследования явилась разработка методики определения натрия хлорида при совместном присутствии с хлоридом железа (III).

Материал и методы

Объектом исследования служило гемостатическое средство «Раствор для наружного применения», состав которого представлен в табл. 1. Гемостатическое средство представляло собой

**Состав гемостатического средства
«Раствор для наружного применения»**

**The composition of the hemostatic
«Solution for topical application»**

Состав на 100 мл	Нормативный документ	Масса, г
<i>Действующие вещества</i>		
Железа III хлорид 6-водный	ГОСТ 4147-74	3,0
Аминокaproновая кислота	ФС.2.1.0001.15	4,0
Натрия хлорид	ФС-001536	0,1
<i>Вспомогательные вещества</i>		
Вода очищенная	ФС.2.2.0020.15	до 100,0 мл

Таблица 1

Table 1

жидкость темно-коричневого цвета с характерным запахом, которую наносят с помощью ватного тампона на участки с кровотечением.

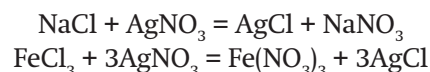
При разработке методики использовали следующие реактивы: раствор серебра нитрата 0,5 моль/л; хлорид железа III 6-водный, х.ч. (Россия); кислота аминокaproновая, х.ч. (Россия); натрий хлористый, х.ч. (Россия); калий хромовокислый (Россия); вода очищенная.

В работе использовали прибор СФ-56 (ООО «ОКБ СПЕКТР», Россия) с соответствующим программным обеспечением, СЕ224-С («Сартогосм», Россия), ГОСТ Р 53228, мерная посуда 1-го класса точности. Титрованные растворы, индикаторы и реактивы были приготовлены и стандартизированы в соответствии с требованиями ГФ РФ XIV изд.

Разработанная методика количественного определения натрия хлорида оценивалась с помощью процедуры валидации в соответствии с требованиями ОФС 1.1.0012.15 «Валидация фармакопейных методов» ГФ РФ XIV изд. [9], а также «Руководства по валидации аналитических методов» Коллегии Евразийской экономической комиссии от 17.07.2018.

Результаты и обсуждение

Дизайн эксперимента и используемые критерии приемлемости полученных значений соответствовали общепринятым требованиям [10, 11]. В качестве метода количественного определения натрия хлорида выбрана аргентометрия. Схему реакции можно представить следующим образом:



Методика количественного определения. 1,0 мл раствора гемостатического средства помещали в колбу на 100 мл и титровали 0,5 моль/л раствором серебра нитрата до оранжево-желтого окрашивания (индикатор – хромат калия).

1 мл 0,5 моль/л раствора серебра нитрата соответствует 0,02914397 г суммы хлоридов натрия и хлоридов железа (титр средний ориентировочный).

Расчет содержания суммы хлоридов производим по следующей формуле:

$$g = \frac{V_{\text{AgNO}_3} \cdot T_{\text{cp}} \cdot P}{a},$$

где V_{AgNO_3} – объем нитрата серебра (титранта), затраченного на титрование, мл; T_{cp} – средний

Таблица 2

Метрологические характеристики методики определения натрия хлорида в гемостатическом растворе

Table 2

Metrological characteristics of the procedure to determine sodium chloride in the hemostatic solution

Уровень содержания (0,100±0,005 г)	xi, %	σ, %	S ²	S	t _{табл.}	t _{выч.}	Δσ	ε, %
Нижний (0,050 г)	99,16	99,62	0,6348	0,7967	4,30	0,83	1,98	1,99
Средний (0,100)	100,4	99,99	0,5126	0,7159	4,30	0,48	1,77	1,78
Верхний (0,150 г)	98,04	98,79	1,6875	1,2990	4,30	1,61	3,22	3,26

ориентировочный титр, г/мл; P – объем лекарственной формы по прописи, мл; а – масса навески лекарственной формы, взятая на анализ, мл.

В данном случае 0,5 моль/л серебра нитратом (K=1,00) титруются 2 ингредиента – натрия хлорид и железа (III) хлорид 6-водный. Проведение расчета количественного содержания натрия хлорида производится с использованием среднего ориентировочного титра, найденного по формуле:

$$T_{cp} = \frac{T_{NaCl} \cdot T_{FeCl_3} \cdot (b_1 + b_2)}{T_{NaCl} \cdot b_2 + T_{FeCl_3} \cdot b_1},$$

$$T_{NaCl} = \frac{58,44 \cdot 0,5}{1000} = 0,02922 \text{ г/мл},$$

$$T_{FeCl_3} = \frac{162,2 \cdot 0,5}{1000 \cdot 3} = 0,027035 \text{ г/мл},$$

$$T_{cp} = \frac{0,02922 \cdot 0,027035 \cdot (3,0 + 0,1)}{0,02922 \cdot 0,1 + 0,027035 \cdot 3,0} = 0,02914397 \text{ г/мл}.$$

Сумму хлоридов вычисляли по следующей формуле:

$$g_{общее} = \frac{V_{AgNO_3} \cdot T_{cp} \cdot P}{a} = \frac{1,06 \cdot 0,02914397 \cdot 100}{1,0} = 3,1008 \pm 0,0053 \text{ г},$$

$$g_{NaCl} = g_{общее} - g_{FeCl_3},$$

$$g_{NaCl} = 3,1008 - 2,9920 = 0,1088 \pm 0,0003 \text{ г}.$$

Масса железа (III) хлорида 6-водного найдена фотоколориметрическим методом с сульфосалициловой кислотой [9]. Метрологические характеристики анализа приведены в табл. 2. Данные таблицы говорят об отсутствии систематической ошибки и позволяют использовать

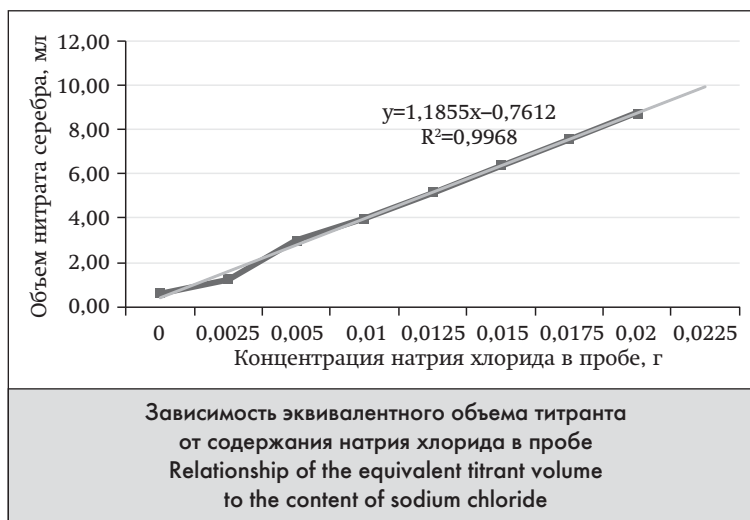
приведенные расчеты при оценке количественного содержания.

Следующим этапом стала валидация методики по таким показателям как: линейность, правильность, аналитическая область, воспроизводимость [12].

Линейность результатов и аналитическую область методики устанавливали статистически, обрабатывая выборку, полученную в результате количественного анализа 5 модельных растворов в диапазоне концентраций 80 до 120% от количества натрия хлорида, принятого за 100% (0,01 г). Выявленная зависимость эквивалентного объема стандартного раствора серебра нитрата от содержания натрия хлорида (см. рисунок) имеет линейный характер и описывается уравнением:

$$y = 1,1855x - 0,7612.$$

Аналитическая область методики находилась в диапазоне от 0,001 до 0,5 г, в пределах которой соблюдается линейная зависимость. Рассчитанное значение коэффициента линейной корреляции составляет 0,9968, что соответствует требованиям ГФ РФ XIV изд. и подтверждает наличие жесткой линейности графика.



Специфичность методики определяли с помощью анализа модельной смеси (раствора гемостатического) и анализа образцов после воздействия экстремальных условий. Установлено, что при воздействии на исследуемый образец света, температуры, влажности количественные показатели не изменялись. Специфичность методики считали доказанной, поскольку ни растворитель (вода очищенная), ни компоненты плацебо (хлорид железа III, аминокaproновая кислота) не искажают полученный результат. Объем, пошедший на титрование плацебо, не превышал объем, пошедший на титрование модельной смеси препарата.

Для оценки правильности определяли степень соответствия между известным истинным значением, полученным по данной методике. Правильность методики будет определяться величиной $Zi\%$ отношения «найденного» к «введенному». Оценка проводилась путем расчета процента определения известной концентрации, стандартного отклонения, коэффициента вариации (КВ) и доверительного интервала среднего значения ($P=95\%$).

Прецизионность методики оценивали рассеиванием полученных результатов относительно величины среднего результата. Повторяемость (сходимость) результатов проверяли путем расчета количественного содержания в 6 повторностях. Для этого проводили 6 параллельных определений количественного содержания натрия хлорида кислоты в образцах гемостатического раствора ($P=95\%$). Из полученных данных (табл. 3) следует, что относительное стандартное отклонение (RSD) не превышает 0,34%, что является приемлемым для данного показателя.

Таблица 3

Результаты определения правильности и прецизионности методики

Table 3

Results of determining the correctness and precision of the procedure

Содержание натрия хлорида, %	D_i	D_i^2	Метрологические характеристики
0,1054	0,0954	0,00910116	$X_{cp.} = 0,10375$
0,1103	0,1003	0,01006009	
0,0984	0,0884	0,00781456	SD=0,00011
0,0965	0,0865	0,00748225	
0,1055	0,0955	0,00912025	RSD=0,34%
0,1064	0,0964	0,00929296	

Заключение

Произведен выбор оптимальных условий, на основе которых разработана методика количественного определения содержания натрия хлорида при совместном присутствии железа хлорида при помощи расчета показателя «титр средний» 0,5 моль/л раствором серебра нитрата до оранжево-желтого окрашивания (индикатор – хромат калия). Диапазон аналитической методики составил 0,001 до 0,5 г. Методика может быть воспроизведена в лабораторных условиях при доверительной вероятности $P=95\%$ с правильностью 3,24%.

Исследованы валидационные характеристики разработанной методики: аналитический диапазон, линейность, прецизионность и правильность.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов

Conflict of interest

The authors declare no conflict of interest

Литература/References

1. Khoshmohabat H., Paydar S., Kazemi H.M., Dalfardi B. Overview of agents used for emergency hemostasis. Trauma monthly. 2016; 21 (1). DOI: 10.5812/traumamon.26023
2. Morrison C.A. The prehospital treatment of the bleeding patient--dare to dream. J. Surg. Res. 2013; 180 (2): 246–7. DOI: 10.1016/j.jss.2011.12.022
3. Lier H., Krep H., Schroeder S., Stuber F. Preconditions of hemostasis in trauma: a review. The influence of acidosis, hypocalcemia, anemia, and hypothermia on functional hemostasis in trauma. J. Trauma. 2008; 65 (4): 951–60. DOI: 10.1097/TA.0b013e318187e15b
4. Granville-Chapman J., Jacobs N., Midwinter M.J. Prehospital haemostatic dressings: a systematic review. Injury. 2011; 42 (5): 447–59. DOI: 10.1016/j.injury.2010.09.037
5. Sambasivan C.N., Schreiber M.A. Emerging therapies in traumatic hemorrhage control. Curr. Opin. Crit. Care. 2009; 15 (6): 560–8. DOI: 10.1097/MCC.0b013e328331f57c
6. Simon R.P., Oromendia C., Sanso L.M., et al. Bronchoscopic delivery of aminocaproic acid as a treatment for pulmonary bleeding: A case series. Pulmonary pharmacology & therapeutics. 2020; 60: 101871. DOI: 10.1016/j.pupt.2019.101871
7. Jeffrey A. Dean, in McDonald and Avery's Dentistry for the Child and Adolescent (Tenth Edition). 2016.
8. Paula j. Waterhouse, Anna b. Fuks, in Cohen's Pathways of the Pulp (Tenth Edition). 2011.
9. Барсукова Ю.Н., Мельникова О.А., Мельников М.Ю. Разработка и валидация методики фотометрического определения железа в гемостатическом средстве. Разработка и регистрация лекарственных средств. 2017; 2: 140–5. [Barsukova Yu.N., Melnikova O.A., Melnikov M.Yu. Development and validation of a method for photometric determination of iron in a hemostatic agent. Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv. 2017; 2: 140–5 (in Russian)].

10. Барсукова Ю.Н., Мельникова О.А., Мельников М.Ю. Разработка и валидация методики спектрофотометрического определения кислоты аминкапроновой в многокомпонентном гемостатическом средстве. Разработка и регистрация лекарственных средств. 2018; 1: 76–83.

[Barsukova Yu.N., Melnikova O.A., Melnikov M.Yu. Development and validation of a method for the spectrophotometric determination of aminocaproic acid in a multicomponent hemostatic agent. *Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv.* 2018; 1: 76–83 (in Russian)].

11. Государственная Фармакопея Российской Федерации XIV изд. [Электронное издание]. Режим доступа: <http://femb.ru/feml> [The State Pharmacopoeia of the Russian Federation, XIV-ed. [Electronic resource]. Access mode (in Russian)].

12. Руководство для предприятий фармацевтической промышленности. Методические рекомендации. Часть I. Руководство по валидации методик анализа лекарственных средств (под ред. Н.В. Юргеля, А.Л. Младенцева, А.В. Бурдейна и др.). М.: Спорт и культура, 2007; 92. [Руководство для предприятий фармацевтической промышленности. Методические рекомендации. Part I. Руководство по валидации методик анализа лекарственных средств (ed. by

N.V. Yurgely, A.L. Mladentsev, A.V. Burdeyn et al.). Moscow: Sport i kul'tura, 2007; 92 (in Russian)].

13. Гризодуб А.И. Стандартизованные процедуры валидации методик контроля качества лекарственных средств. Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных средств. 2016; 12: 396. [Grizodub A.I.

Стандартизованные процедуры валидации методик контроля качества лекарственных средств. *Ukrainskiy nauchnyy farmakopeyny tseentr kachestva lekarstvennykh sredstv.* 2016; 12: 396 (in Russian)].

14. Мищенко Е.С., Лазарян Д.С., Озеров А.А. Разработка и валидация методики количественного определения новой субстанции. Фармация. 2019; 68 (7): 11–5. [Mishchenko E.S., Lazaryan D.S., Ozerov A.A. Development and validation of a method for the quantitative determination of a new substance. *Farmatsiya.* 2019; 68 (7): 11–5 (in Russian)].

Поступила 19 сентября 2021 г.

Received 19 September 2021

Принята к публикации 23 октября 2021 г.

Accepted 23 October 2021