

під дією настоянки листя спостерігався по відношенню до мікроорганізмів *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* та *Basillus subtilis*, а настоянки кореня – по відношенню до грибків *Candida albicans* та *Penicillium*.

**Ключові слова:** лопух великий, корінь, листя, настоянка, антимікробна активність.

#### Резюме

**Опрошанская Т.В.** *Изучение антимикробной активности настоек корня и листа лопуха большого.*

Изучена антимикробная активность настоек корня и листа лопуха большого. В результате определено, что настойка листа обладает более высокой антимикробной активностью, чем настойка корня. Самую высокую антимикробную активность настойка листа показала по отношению к микроорганизмам *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* и *Basillus subtilis*, а настойка корня – по отношению к грибкам *Candida albicans* и *Penicillium*.

**Ключевые слова:** лопух большой, корень, лист, настойка, антибактериальная активность.

#### Summary

**Oproshanska T.V.** *Study of antimicrobial activity of burdock large root and leaf tinctures.*

The antimicrobial activity of burdock large root and leaf tinctures has studied. It is determined that leaf tincture has more hair antimicrobial activity than root tincture. Leaf tinctures of burdock large has have the biggest antimicrobial activity for microorganism of *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* and *Basillus subtilis* and root tinctures has have the biggest antimicrobial activity for *Candida albicans* and *Penicillium*.

**Key words:** burdock large, root, leaf, tincture, antimicrobial activity.

*Рецензент: д.фарм.н., проф. В.С. Кисличенко*

УДК 615.454.1:54.061/.062

## РАЗРАБОТКА И ВАЛИДАЦИЯ МЕТОДИКИ СОВМЕСТНОГО КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ БЕНЗАЛКОНИЯ ХЛОРИДА, ЛЕВОМИЦЕТИНА И ДЕКСПАНТЕНОЛА В МАЗИ

**Ан.А. Яремчук, О.М. Хишова, Н.П. Половко\***

*Витебский медицинский университет (Витебск, Республика Беларусь)*

*Национальный фармацевтический университет (Харьков)\**

### Введение

Мазь «Комбисепт» – новое комбинированное лекарственное средство (ЛС) для наружного применения, предназначенное для терапии гнойно-воспалительных заболеваний различной этиологии в I фазе раневого процесса. В состав мази «Комбисепт» входят вещества, относящиеся к различным классам химических соединений и имеющие различные физико-химические свойства: декспантенол – 50,0 мг в 1 грамме мази; хлорамфеникол – 7,5 мг в 1 грамме мази; бензалкония хлорид (БХ) – 5,0 мг в 1 грамме мази.

Декспантенол ((2R)-2,4-дигидрокси-N-(3-гидроксипропил) 3,3-диметилбутанамид) является производным пантотеновой кислоты. По внешнему виду декспантенол представляет собой бесцветную или слегка желтоватую жидкость, либо кристаллический порошок белого или почти белого цвета, очень легко растворим в воде. Декспантенол легко растворим в 96 % спирте [1]. Температура кипения и температура разложения 119 °С [2].

Среди современных физико-химических методов анализа, используемых для количественного определения декспантенола в ЛС, метод обращенно-фазовой жидкостной хроматографии является наиболее часто применяемым и описан в современной научной литературе [3, 4, 5].

Левомецетин (хлорамфеникол) (2,2-дихлор-N-[1R,2R)-2-гидрокси-1-(гидрокси-метил)-2-(4-нитрофенил)этил]ацетамид) является производным нитробензола. По внешнему виду хлорамфеникол представляет собой белый, серовато-белый или желтовато-белый мелкий кристаллический порошок, либо мелкие кристаллы, игольчатые или вытянутые пластинки, горькие на вкус. Хлорамфеникол мало-

растворим в воде (2,5 мг/мл при 25 °С), легкорастворим в этаноле и пропиленгликоле (150,8 мг/мл при 25 °С). Температура плавления составляет 149 °С [6]. Количественное определение хлорамфеникола и продуктов его деструкции чаще проводят с помощью метода высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) [7, 8, 9].

БХ (алкилдиметил(фенилметил)аммония хлорид) является солью четвертичного аммониевого основания и представляет собой смесь хлоридов алкилбензилдиметиламмония, алкильная группа которых состоит из цепочки C<sub>8</sub> – C<sub>18</sub>. По внешнему виду БХ представляет собой белый или желтовато-белый аморфный порошок либо желатинообразные желтовато-белые осколки, мыльные на ощупь. БХ очень легко растворим в воде, 96 % спирте, ацетоне; незначительно растворим в бензоле; почти нерастворим в эфире [10]. Для количественного определения БХ в ЛС чаще применяют метод обращенно-фазовой жидкостной хроматографии с использованием хроматографических колонок с полярной привитой фазой [11, 12, 13] или с использованием хроматографических колонок с неполярной привитой фазой, но с применением ион-парного реагента [14].

**Целью** настоящей работы явилась разработка и валидация унифицированной методики методом ВЭЖХ, позволяющей совместно количественно определять декспантенол, хлорамфеникол и БХ в мази «Комбисепт».

При разработке методики количественного определения было необходимо разработать процедуру пробоподготовки мази, отвечающей физико-химическим свойствам активных фармацевтических ингредиентов (АФИ), и подобрать условия хроматографирования, позволяющие разделить активные компоненты мази и определить их количественно с высокой степенью воспроизводимости и достоверности.

#### Материалы и методы исследования

Объектами исследований явились опытные образцы мази с использованием АФИ, зарегистрированными в МЗ РБ и соответствующими требованиям Европейской Фармакопеи: декспантенол (НД РБ 0103 С-2010), хлорамфеникол (НД РБ 1023 С-2011); БХ (НД РБ 0980 С-2011). В качестве компонентов мазевой основы использовались: макрогол – 400 (ГФ РБ, 2 том, с. 192); макрогол – 1500 (ГФ РБ, 2 том, с. 192).

Количественное определение методом ВЭЖХ проводили на хроматографе «Agilent-1100» следующей комплектации: четырёхканальный плунжерный насос фирмы «Agilent» (до 400

бар) со скоростью потока 0,001-10 мл/мин с отсеком для растворителей и шагом регулировки подачи растворителя 0,001 мл/мин «Agilent»; вакуумный дегазатор на 4 канала с производительностью до 10 мл/мин «Agilent»; блок автоматического введения проб с объёмом инъекции от 0,1 мкл до 100 мкл с шагом 0,03 мкл «Agilent». Идентификацию АФИ осуществляли с помощью диодно-матричного спектрофотометрического детектора фирмы «Agilent».

Воду очищенную для хроматографии получали с помощью системы очистки воды «Sartorius», обеспечивающей получение сверхчистой воды с удельным сопротивлением не менее 18,2 МОм·см. В качестве растворителя использовали систему: вода для хроматографии – ацетонитрила для хроматографии в соотношении (50:50) об/об.

Для приготовления испытуемого раствора брали соответствующую навеску ЛС и растворяли в растворителе до достижения конечной концентрации декспантенола, хлорамфеникола и БХ 0,5 мг/мл, 0,075 мг/мл и 0,05 мг/мл соответственно.

В качестве раствора сравнения бралась смесь рабочих стандартных образцов (РСО) анализируемых веществ, приготовленная аналогично испытуемому раствору, в которой содержание декспантенола, хлорамфеникола и БХ составило 0,5 мг/мл, 0,075 мг/мл и 0,05 мг/мл соответственно.

**Валидация.** В целях доказательства пригодности разработанной методики для количественного определения АФИ и подтверждения гарантии получения ожидаемых и воспроизводимых результатов, была проведена её валидация в соответствии с установленными требованиями [15, 16, 17, 18] на опытных образцах и модельных смесях, полученных в лабораторных условиях из компонентов ЛС.

В качестве валидационных характеристик были выбраны: избирательность, правильность, диапазон применения, линейность и точность (сходимость и внутрिलाбораторная точность).

Для подтверждения избирательности (специфичности) в 6 повторениях анализировался раствор готового ЛС (испытуемый раствор) и раствор «основы», содержащей все компоненты ЛС за исключением декспантенола, хлорамфеникола и БХ. Критерий приемлемости: на хроматограмме раствора «основы» должны отсутствовать пики со временем выхода, соответствующим временам выхода пиков декспантенола, хлорамфеникола и гомологов БХ.

Для определения линейности методики испытания в пределах диапазона применения (80 % ± 120 % от номинального содержания

АФИ), проводили анализ на 5 уровнях концентраций с использованием 6 воспроизведений для каждого образца: для декспантенола 40,00 мг/г, 45,00 мг/г, 50,00 мг/г, 55,00 мг/г, 60,00 мг/г; для хлорамфеникола 6,00 мг/г, 6,75 мг/г, 7,50 мг/г, 8,25 мг/г, 9,00 мг/г; для БХ 4,00 мг/г, 4,50 мг/г, 5,00 мг/г, 5,50 мг/г, 6,00 мг/г.

При числе измерений  $n = 6$  наиболее достоверные результаты получали по  $Q(P, n)$  – тесту, критической величиной в котором служило табличное значение  $Q$  – коэффициента  $Q(P, n)$ . Если тестовая статистика превышала критическую величину ( $Q_n > Q(95\%, 6) > 0,56$ ), соответствующее значение считалось промахом и из серии данных исключалось.

Линейность методики количественного определения определялась расчётом с использованием метода наименьших квадратов по экспериментально измеренным значениям « $y$ » для заданных значений аргумента « $x$ ». Критерием приемлемости служил коэффициент корреляции линейной зависимости ( $r$ ), который должен составлять не менее 0,99.

Для подтверждения сходимости методики испытания было последовательно проанализировано одним химиком в один день на одном и том же оборудовании шесть образцов одной серии ЛС. Для подтверждения внутрилабораторной прецизионности было последовательно проанализировано по 6 образцов одной серии ЛС двумя аналитиками в разные дни на разном оборудовании.

Были установлены следующие критерии приемлемости: относительное стандартное отклонение ( $RSD, \%$ ), рассчитанное для количественного содержания декспантенола, хлорамфеникола и БХ, полученное в условиях повторяемости, не должно превышать 2,0 %; различие значений дисперсий  $S_1^2$  и  $S_2^2$  средних результатов двух выборок, полученных в условиях внутрилабораторной воспроизводимости при определении содержания декспантенола, хлорамфеникола и БХ в идентичных образцах ЛС, должно быть статистически достоверно.

Правильность методики количественного определения декспантенола, хлорамфеникола и БХ определялась на модельных образцах, с точно известным содержанием АФИ для трех концентраций, входящих в диапазон применения методики: 45,00 мг/г, 50,00 мг/г, 55,00 мг/г (90 %; 100 % и 110 % от номинального содержания) с использованием 6 воспроизведений для каждой концентрации декспантенола; 6,75 мг/г, 7,50 мг/г, 8,25 мг/г (90 %; 100 % и 110 % от

номинального содержания) с использованием 6 воспроизведений для каждой концентрации хлорамфеникола; 4,50 мг/г, 5,00 мг/г, 5,50 мг/г (90 %; 100 % и 110 % от номинального содержания) с использованием 6 воспроизведений для каждой концентрации БХ.

Результаты испытаний проверялись на однородность выборки, из выборки исключались данные, отягощённые грубыми ошибками.

Подтверждение правильности полученных данных осуществлялось путем вычисления смещения  $|x_{cp} - \mu|$  и проверки значимости отличия случайной величины  $x_{cp}$  от константы  $\mu$  (принятого эталонного значения).

#### Полученные результаты и их обсуждение

Проведённые исследования позволили обосновать методику количественного определения декспантенола, хлорамфеникола и БХ при их совместном присутствии в ЛС и прийти к следующей пробоподготовке: к 5,0000 г испытуемого ЛС приливали 20,0 мл растворителя, интенсивно перемешивали до растворения мази, доводили объем раствора этим же растворителем до 100,0 мл. 5,0 мл полученного раствора доводили до объема 25,0 мл этим же растворителем, перемешивали. Полученный раствор фильтровали через фильтр с диаметром пор 0,2 мкм.

Пробоподготовку РСО проводили следующим образом: 0,0250 г субстанции БХ, 0,0375 г субстанции хлорамфеникола, 0,2500 г субстанции декспантенола растворяли в 50 мл растворителя, доводили объем раствора этим же растворителем до 100,0 мл и перемешивали. 5,0 мл полученного раствора доводили до объема 25,0 мл смесью воды для хроматографии – ацетонитрила для хроматографии в соотношении (50:50) об/об. Полученный раствор не фильтровали. Содержание воды ( $\omega$ ), в процентах, в субстанции БХ находили полумикрометодом К. Фишера на 0,300 г образца непосредственно перед проведением испытания.

На основании анализа литературных данных, результатов проведенных исследований были подобраны оптимальные условия хроматографирования сложной смеси АФИ, позволяющие получить удовлетворительное разделение всех компонентов мази: хроматографическая колонка размером (250×4,6) мм, заполненная силикагелем цианосилильным для хроматографии Р с размером частиц 5,0 мкм (например, колонка «Waters Spherisorb CNRP» или аналогичная, для которой выполняются требования теста «Про-

верка пригодности хроматографической системы»); температура колонки – 30 °С; подвижная фаза А: раствор калия дигидрофосфата с концентрацией 3,0 г/л, доведенный до значения рН (2,8±0,05) кислотой фосфорной; подвижная фаза В: ацетонитрил для хроматографии; применяли изократическое элюирование с соотношением подвижной фазы А и подвижной фазы В (50:50) об/об; скорость подвижной фазы – 2,0 мл/мин; детектор спектрофотометрический: длина волны регистрации для БХ – 195 нм, для хлорамфеникола и декспантенола – 210 нм; объем вводимой пробы – 10,0 мкл.

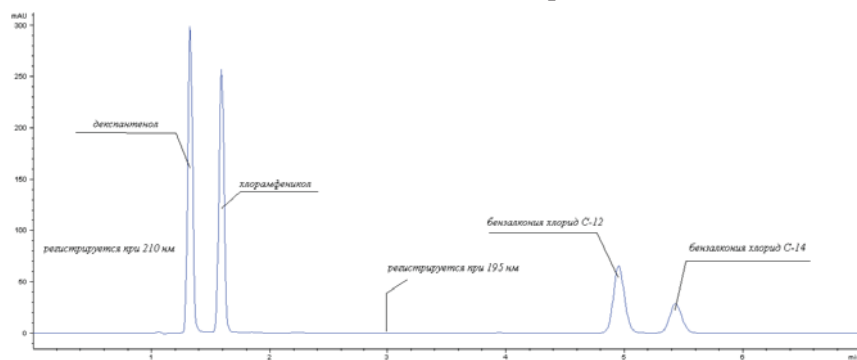


Рис. 1. Типичная хроматограмма испытуемого раствора.

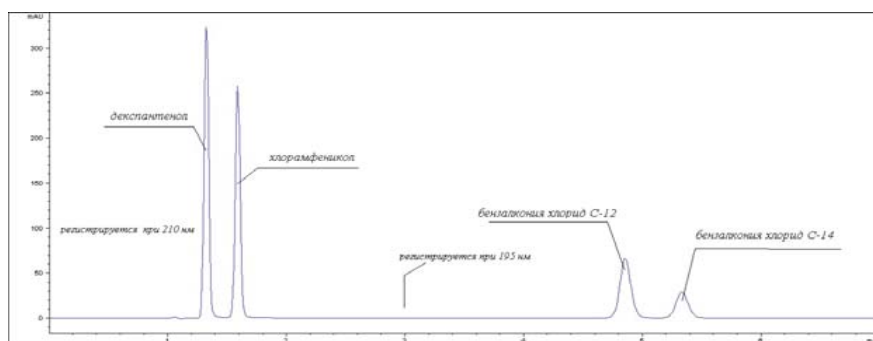


Рис. 2. Типичная хроматограмма раствора сравнения.

На хроматограмме испытуемого раствора (рисунок 1) все пики поделены; разрешение между пиками хлорамфеникола и декспантенола составило 3,42, что более регламентируемого значения 1,5. Относительное стандартное отклонение, рассчитанное по време-

нам выхода пиков гомологов БХ, временам выхода пиков декспантенола и хлорамфеникола по результатам шестикратного повторения анализа составило 0,834 %, 0,939 % и 0,936 % соответственно. Эффективность хроматографической колонки (количество теоретических тарелок) и факторы асимметрии пиков составили 4384 и 0,833 соответственно для пиков С-12 БХ; 4211 и 0,846 соответственно для пиков С-14 БХ; 4795 и 0,939 соответственно для пиков декспантенола; 6084 и 0,9355 соответственно для пиков хлорамфеникола.

Количественное определение АФИ проводили путём сравнения площадей пиков хлорамфеникола, декспантенола и БХ на хроматограмме испытуемого раствора (рисунок 1) с соответствующими пиками на хроматограмме раствора сравнения (рисунок 2). При расчёте количественного содержания АФИ в мази учитывали также массу навесок испытуемого образца, массу взятого для анализа РСО и процентное содержание хлорамфеникола, декспантенола и БХ в РСО, в пересчёте на безводное вещество.

Разработанную методику валидировали. Доказана специфичность методики: показано, что в условиях проведения испытания ни используемый растворитель, ни подвижная фаза, ни компоненты плацебо не искажают результатов количественного определения АФИ.

Установлены критерии пригодности хроматографической системы:

- разрешение между пиками хлорамфеникола и декспантенола, найденное на хроматограмме испытуемого раствора (рисунок 1), должно быть не менее 1,5;
- эффективность хроматографической колонки, рассчитанная по пикам С-12 и С-14 БХ должна быть не менее 2000 и 2500 теоретических тарелок, соответственно;
- эффективность хроматографической колонки, рассчитанная по пику хлорамфеникола должна быть не менее 5000 теоретических тарелок;
- эффективность хроматографической колонки, рассчитанная по пику декспантенола должна быть не менее 4000 теоретических тарелок;
- относительное стандартное отклонение, рассчитанное для суммы площадей пиков С-12 и С-14 БХ, декспантенола и хлорамфеникола по результатам пятикратного повторения анализа должно быть не более 2,0 %;

• величина фактора асимметрии пика, рассчитанная по пикам С-12 и С-14 БХ, хлорамфеникола и декспантенола, должна быть не менее 0,5 и не более 1,5.

При статистической обработке линейной зависимости полученных значений содержания декспантенола, хлорамфеникола и БХ от заданного содержания коэффициент корреляции линейного регрессионного графика составил 0,9999; 0,9993 и 0,9996 для декспантенола, хлорамфеникола и БХ соответственно.

Установлена сходимость методики испытания количественного определения декспантенола, хлорамфеникола и БХ. Относительное стандартное отклонение (RSD, %), рассчитанное для содержания декспантенола, хлорамфеникола и БХ и полученное в условиях повторяемости, не превышало 2,0 % и составило 0,348 %, 0,986 % и 1,486 % соответственно.

Подтверждена внутрилабораторная сходимость методики испытания количественного определения декспантенола, хлорамфеникола и БХ: коэффициент Фишера F (P, f<sub>1</sub>, f<sub>2</sub>) не превышает табличной величины F<sub>табл</sub> (0,95; 5; 5).

Правильность методики определения количественного содержания декспантенола, хлорамфеникола и БХ подтверждена соответствующими испытаниями на модельных образцах для трех концентраций, входящих в диапазон применения методики испытаний, при 6 повторностях. Полученные результаты определения не отягощены систематической ошибкой. Средний процент восстановления для 18 измерений составил 99,75 %; 99,64 % и 99,76 % для декспантенола, хлорамфеникола и БХ соответственно.

Метрологические результаты количественного определения АФИ с помощью разработанной методики представлены в таблице 1.

Таблица 1

#### Метрологические результаты количественного определения АФИ

|               | n  | v | $\bar{x}$ ,<br>мг/г | S      | S <sub>x</sub> <sup>-</sup> | P <sub>2</sub> <sup>2</sup> ,<br>% | t(P <sub>2</sub> ,v) | Δ      | Δ <sub>x</sub> <sup>-</sup> | ε,<br>% |
|---------------|----|---|---------------------|--------|-----------------------------|------------------------------------|----------------------|--------|-----------------------------|---------|
| Декспантенол  | 10 | 9 | 50,013              | 0,4443 | 0,1405                      | 95                                 | 2,26                 | 1,0042 | 0,3176                      | 0,63    |
| Хлорамфеникол | 10 | 9 | 7,465               | 0,1072 | 0,0339                      | 95                                 | 2,26                 | 0,2423 | 0,0766                      | 1,03    |
| БХ            | 10 | 9 | 5,359               | 0,1104 | 0,0349                      | 95                                 | 2,26                 | 0,2495 | 0,0789                      | 1,47    |

#### Выводы

1. На основании анализа данных о физико-химических свойствах БХ, хлорамфеникола и декспантенола подобраны наиболее приемлемые условия пробоподготовки мази «Комбисепт» и условия его анализа.

2. Разработана унифицированная методика, позволяющая совместно идентифицировать и количественно определять декспантенол, хлорамфеникол и БХ, методом ВЭЖХ с использованием диодно-матричного детектора на хроматографической колонке размером (250 × 4,6) мм, заполненной силикагелем цианосилильным для хроматографии с размером частиц 5,0 мкм при использовании двухкомпонентной подвижной фазы в качестве элюента.

3. Подобраны оптимальные концентрации АФИ в анализируемом испытуемом растворе и растворе сравнения.

4. Подобраны оптимальные условия хроматографирования, позволяющие элюировать определяемые вещества за короткий промежуток времени и обеспечивать экспрессность анализа (время хроматографирования составляет ~ 7 мин).

5. Проведена валидация разработанной методики испытания и доказана её специфичность, линейность в диапазоне применения, правильность и прецизионность.

6. Разработанная методика количественного определения БХ, хлорамфеникола и декспантенола включена в ФСПРБ на ЛС «Комбисепт».

#### Литература

1. Государственная фармакопея Республики Беларусь: в 3 т. / Под общ. ред. А.А.Шерякова. – Молодечно: Победа, 2009 – .– Т. 3: Контроль качества фармацевтических субстанций. – 728 с.

2. Online Database of Chemicals from Around the World [Electronic resource] / Chemblink. – North Carolina, 20013. – Mode of access: [http://www.chemblink.com/MSDS/MSDSFiles/81-13-0\\_Science%20Lab.pdf](http://www.chemblink.com/MSDS/MSDSFiles/81-13-0_Science%20Lab.pdf). – Date of access: 15.05.2013.

3. Fluorimetric determination of pantothenic acid in foods by liquid chromatography with post-column derivatization / С. Pakin [et al.] // Journal of Chromatography A. – 2004. – Vol. 1035 (1). – P. 87–95.

4. Simultaneous determination of some water-soluble vitamins and preservatives in multivitamin syrup by validated stability-indicating high-performance liquid chromatography method / S. Vidovića [et al.] // Journal of Chromatography A. – 2008. – Vol. 1202 (2). – P. 155–162.

5. Development and validation of reversed phase high performance liquid chromatography method for determination of dexpanthenol in pharmaceutical formulations / A. Kulikov [et al.] // *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. – 2007. – Vol. 43 (3). – P. 983–988.

6. Online Database of Chemicals from Around the World [Electronic resource] / Chemblink. – North Carolina, 20013. – Mode of access : [http://www.chemblink.com/MSDS/MSDSFiles/56-75-7\\_Sigma-Aldrich.pdf](http://www.chemblink.com/MSDS/MSDSFiles/56-75-7_Sigma-Aldrich.pdf). – Date of access : 23.05.2013.

7. Stability indicating HPLC method for simultaneous determination of dexamethasone sodium phosphate and chloramphenicol in bulk and formulations/ K. Prakash [et al.] // *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. – 2012 – Vol.4. – P. 505–5010.

8. Validation of RP-HPLC method for simultaneous estimation of chloramphenicol and dexamethasone phosphate in eye drops / Md.Arif Hossain [et al.] // *Journal of Advanced Pharmaceutical Research*. – 2011. – Vol. 2 (3). – P. 135–141.

9. Simultaneous determination of chloramphenicol and benzocaine in topical formulations by high-performance liquid chromatography / G.S. Sadana [et al.] // *Journal of Chromatography*. – 1991. – Vol. 542, № 2. – P. 515–520.

10. Государственная фармакопея Республики Беларусь: в 3 т./ Под общ. ред. А.А.Шерякова. – Молодечно: Победа, 2008 – . – Т. 2: Контроль качества вспомогательных веществ и лекарственного растительного сырья. – 472 с.

11. Simultaneous determination of pramoxine HCl and benzalkonium chloride in wound care solutions by HPLC/ P. Tavlarakis [et al.] // *Journal of Analytical Methods*. – 2010. – Vol. 2. – P. 722–727.

12. Stability-Indicating HPLC Method for the Determination of Mometasone Furoate, Oxymetazoline, Phenyl Ethanol and Benzalkonium Chloride in Nasal Spray Solution / A. Kaber [et al.] // *Journal of Trace Analysis in Food and Drugs*. – 2013. – Vol. 1. – P. 14–21.

13. Development and validation of a precise and stability indicating LC method for the determination of benzalkonium chloride in pharmaceutical formulation using an experimental design / H. Trivedi [et al.] // *E-Journal of Chemistry*. – 2010. – Vol. 7(4) – P. 1514–1522.

14. Определение содержания консерванта в спреях назальном. Валидационные исследования / М.М.Губин [и др.] // *Фармация*. – 2012. – № 4. – С. 9–12.

15. Производство лекарственных средств. Валидация методик испытаний: ТКП 432 –2012 (02041) – Введ. 01.03.2013. – Минск: Департамент фармацевтической промышленности Министерства здравоохранения Республики Беларусь, 2012. – 18 с.

16. ICH harmonised tripartite Guideline // Q2(R1) Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology. – 1994–1996. – P. 13.

17. Руководство для предприятий фармацевтической промышленности: методические рекомендации: в 3 частях / Н.В. Юргель [и др.]; под общ. ред. Н.В. Юргель. – М., 2007– . – Часть I: Руководство по валидации методик анализа лекарственных средств. – 192 с.

18. Квалификация и валидация в свете требований GMP // *Фармацевтическая отрасль. Промышленное обозрение*. – 2008. – № 3 (8). – С. 14-17.

#### Резюме

**Яремчук Ан.А., Хішова О.М., Половко Н. П.** Розробка та валідація методики спільного кількісного визначення бензалконію хлориду, левоміцетину і декспантенолу в мазі.

У статті представлені дослідження з розробки методики спільного кількісного визначення декспантенолу, хлорамфеніколу і бензалконію хлориду в комбінованій мазі «Комбісепт» для лікування гнійних ран у I фазі ранового процесу методом високоефективної рідинної хроматографії.

Також наведені дані про проведення валідації запропонованої методики та встановлені критерії її прийнятності. На підставі проведеної валідації доведено, що методика спільного кількісного визначення хлорамфеніколу, декспантенолу і бензалконію хлориду є специфічною, лінійною в діапазоні її застосування, правильною і прецизійною.

Розроблена валідована методика спільного кількісного визначення декспантенолу, хлорамфеніколу і бензалконію хлориду включена в проект фармакопейної статті виробника.

**Ключові слова:** валідація, декспантенол, хлорамфенікол, бензалконію хлорид, високоефективна рідинна хроматографія.

#### Резюме

**Яремчук Ан.А., Хишова О.М., Половко Н.П.** Разработка и валидация методики совместного количественного определения бензалкония хлорида, левомецетина и декспантенола в мази.

В статье представлены исследования по разработке методики совместного количественного определения декспантенола, хлорамфеникола и бензалкония хлорида в комбинированной мази «Комбисепт» для лечения гнойных ран в I фазе раневого процесса методом высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Также приведены данные о проведении валидации предложенной методики и установлении критериев её приемлемости. На основании проведённой валидации доказано, что методика совместного количественного определения хлорамфеникола, декспантенола и бензалкония хлорида является специфичной, линейной в диапазоне её применения, правильной и прецизионной.

Разработанная валидированная методика совместного количественного определения декспантенола, хлорамфеникола и бензалкония хлорида включена в проект фармакопейной статьи производителя.

**Ключевые слова:** валидация, декспантенол, хлорамфеникол, бензалкония хлорид, высокоэффективная жидкостная хроматография.

#### Summary

**Yaremchuk An.A., Khishova O.M., Polovko N. P.** *Development and validation of the method of simultaneous determination of benzalkonium chloride, laevomycesin, and dexpanthenol in the ointment.*

The article describes studies on development of the method of simultaneous determination of Dexpanthenol, Chloramphenicol, and Benzalkonium Chloride in the co-formulated ointment Combisept for treatment of septic wounds in phase I of wound process by high-efficiency liquid chromatography.

It also contains data on validation of the offered method and determination of its acceptance criteria. On the basis of the validation performed it was proved that the method of simultaneous determination of Chloramphenicol, Dexpanthenol and Benzalkonium Chloride is specific, linear in the range of its application, correct, and precise.

The developed validated method of simultaneous determination of Dexpanthenol, Chloramphenicol, and Benzalkonium Chloride is included in the project of the manufacturer's pharmacopoeial monograph.

**Key words:** validation, Dexpanthenol, Chloramphenicol, Benzalkonium Chloride, high-efficiency liquid chromatography.

*Рецензент: д.фарм.н. О.А. Євтіфєєва*

# ЕКОЛОГІЧНІ ПРОБЛЕМИ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ТА КЛІНІЧНОЇ МЕДИЦИНИ