<https://doi.org/10.33380/2305-2066-2020-9-4-121-127>
УДК 615.072

Оригинальная статья/Research article

Количественное определение бензалкония хлорида в составе назального спрея налтрексона гидрохлорида

Ю. М. Домнина^{1,2*}, В. В. Суслов^{1,2}, С. А. Кедик^{1,2}, Е. В. Ворфоломеева^{1,2}, А. В. Мелешко^{1,2}

1 – ФГБОУ ВО «МИРЭА – Российский технологический университет» (ПТУ МИРЭА), 119571, Россия, г. Москва, пр-т Вернадского, д. 86
2 – АО «Институт фармацевтических технологий» (АО «ИФТ»), 121353, Россия, г. Москва, Сколковское шоссе, д. 21, офис 1

*Контактное лицо: Домнина Юлия Михайловна. E-mail: domnina.yulia@mail.ru

ORCID: Ю. М. Домнина – <https://orcid.org/0000-0002-2745-9431>; В. В. Суслов – <https://orcid.org/0000-0002-9578-2492>; С. А. Кедик – <https://orcid.org/0000-0003-2610-8493>;
Е. В. Ворфоломеева – <https://orcid.org/0000-0002-4256-5646>; А. В. Мелешко – <https://orcid.org/0000-0002-1073-5073>.

Статья поступила: 23.09.2020. Статья принята в печать: 26.10.2020. Статья опубликована: 24.11.2020

Резюме

Введение. Бензалконий хлорид широко используют в качестве консерванта в лекарственных средствах. Для количественного определения бензалкония хлорида часто используют хроматографические методики, описанные в Европейской и Американских фармакопеях. В них используют нитрильный сорбент. Однако в целях унификации методик и упрощения технологии контроля качества в процессе производства целесообразно адаптировать методики для определения основного компонента.

Цель. Разработать методику количественного определения бензалкония хлорида в назальном спрее, содержащем термочувствительный полимер полоксамер 407 и провести ее валидацию.

Материалы и методы. В качестве объекта исследования использовали назальный спрей налтрексона гидрохлорида. Использовали жидкостный хроматограф Dionex UltiMate 3000 (Thermo Fisher Scientific, США) с диодно-матричным детектором.

Результаты и обсуждение. В работе изучена возможность применения ранее разработанной методики количественного определения налтрексона гидрохлорида для количественного определения бензалкония хлорида в составе назального спрея. На основании полученных результатов внесены изменения в методику количественного определения бензалкония хлорида.

Заключение. В результате проведенных исследований подобраны наиболее приемлемые условия пробоподготовки назального спрея для количественного определения консерванта. Разработанная методика предусматривает условия хроматографирования ранее применяемые для определения налтрексона гидрохлорида, что позволяет максимально эффективно использовать оборудование в процессе анализа готового лекарственного средства. Проведена валидация методики и доказаны ее специфичность, линейность, правильность и прецизионность.

Ключевые слова: назальный спрей, налтрексон, бензалкония хлорид, высокоэффективная жидкостная хроматография, валидация, градиентный режим.

Конфликт интересов: конфликта интересов нет.

Вклад авторов. Все авторы принимали участие в обсуждении и планировании эксперимента, обработке полученных результатов, написании текста статьи и ее обсуждении.

Для цитирования: Домнина Ю. М., Суслов В. В., Кедик С. А., Ворфоломеева Е. В., Мелешко А. В. Количественное определение бензалкония хлорида в составе назального спрея налтрексона гидрохлорида. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2020;9(4):15–20. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2020-9-4-121-127>

Quantitative Determination of Benzalkonium Chloride in the Naltrexone Hydrochloride Nasal Spray

Yuliya M. Domnina^{1,2*}, Vasily V. Suslov^{1,2}, Stanislav A. Kedik^{1,2}, Elena V. Vorfolomeeva^{1,2},
Anastasiya V. Meleshko^{1,2}

1 – Federal State Budget Educational Institution of Higher Education «MIREA – Russian Technological University», 86, Vernadsky av., Moscow, 119571, Russia
2 – JSC «Institute of Pharmaceutical Technologies», 21/1, Skolkovskoye highway, Moscow, 121353, Russia

*Corresponding author: Yuliya M. Domnina. E-mail: domnina.yulia@mail.ru

ORCID: Yuliya M. Domnina – <https://orcid.org/0000-0002-2745-9431>; Vasily V. Suslov – <https://orcid.org/0000-0002-9578-2492>; Stanislav A. Kedik – <https://orcid.org/0000-0003-2610-8493>;
Elena V. Vorfolomeeva – <https://orcid.org/0000-0002-4256-5646>; Anastasiya V. Meleshko – <https://orcid.org/0000-0002-1073-5073>.

Received: 23.09.2020. Revised: 26.10.2020. Published: 24.11.2020

Abstract

Introduction. Benzalkonium chloride is widely used as a conservation agent in medicines. For quantitative determination, the methods described in the European and American Pharmacopoeias by chromatography using columns with nitrile sorbent are often used. However, in order to unify the methods and simplify the quality control technology in the production process, it is advisable to adapt the existing methods for new goals and objectives.

Aim. To develop a method for the quantitative determination of benzalkonium chloride in a nasal spray containing a thermosensitive polymer Poloxamer 407 and validate it.

Materials and methods. As an object of research, a naltrexone hydrochloride nasal spray was used. The quantitative determination of naltrexone in the test sample was developed using a Dionex UltiMate 3000 high-performance liquid chromatograph (Thermo Fisher Scientific, USA) equipped with a diode-matrix detector.

© Домнина Ю. М., Суслов В. В., Кедик С. А., Ворфоломеева Е. В., Мелешко А. В., 2020

© Domnina Yu. M., Suslov V. V., Kedik S. A., Vorfolomeeva E. V., Meleshko A. V., 2020

Results and discussion. The paper explored the possibility of using an earlier developed method for the quantitative determination of naltrexone hydrochloride for the quantitative determination of benzalkonium chloride in the composition of a nasal spray. Based on the results obtained, changes were made to the quantitative determination method, and the sample preparation of the samples under study was adapted.

Conclusion. As a result of the studies carried out, the most acceptable conditions for the preparation of the nasal spray for the quantitative determination of the preservative were selected. The developed technique provides for the chromatographic conditions previously used for the determination of naltrexone hydrochloride, which makes it possible to use the equipment as efficiently as possible in the analysis of the finished drug. The method has been validated and its specificity, linearity, correctness and precision have been proven.

Keywords: nasal spray, naltrexone, high-performance liquid chromatography, validation, gradient mode.

Conflict of interest: no conflict of interest.

Contribution of the authors. All authors took part in the discussion and planning of the experiment, processing of the results obtained, writing the text of the article and its discussion.

For citation: Domnina Yu. M., Suslov V. V., Kedik S. A., Vorfolomeeva E. V., Meleshko A. V. Quantitative determination of benzalkonium chloride in the naltrexone hydrochloride nasal spray. *Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv = Drug development & registration*. 2020;9(4):15–20. (In Russ.). <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2020-9-4-121-127>

ВВЕДЕНИЕ

Бензалкония хлорид представляет собой смесь хлоридов алкилбензилдиметиламмония, алкильная группа которых имеет разные длины алкильных цепей и широко применяется в качестве консерванта в лекарственных средствах. Его частое применение обусловлено значительным спектром антимикробной активности, а также хорошей растворимостью в воде.

Бензалконий хлорид в препаратах наиболее часто определяют методом обращено-фазовой жидкостной хроматографии в изократическом режиме [1–4]. Ввиду наличия высокомолекулярного соединения в составе назального спрея «Налтрексон, спрей назальный» нами был разработан метод количественного определения налтрексона гидрохлорида в градиентном режиме [5].

Цель работы заключалась в проверке пригодности ранее разработанной методики количественного определения налтрексона гидрохлорида в назальном спрее для анализа бензалкония хлорида в составе лекарственной формы. Разработке, при необходимости, и валидации скорректированной методики.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объект исследования

Назальный спрей налтрексона гидрохлорида, имеющий следующий состав: налтрексона гидрохлорид (2,5 г); полоксамер (14,0 г); лимонная кислота (0,01 г); натрия хлорид (0,2 г); бензалкония хлорид (0,006 г); вода очищенная до 100,0 г.

Оборудование

Высокоэффективный жидкостный хроматограф Dionex UltiMate 3000 (Thermo Fisher Scientific, США) оснащенный диодно-матричным детектором, с использованием колонки Kinetex XB C18 (250 × 4,6 мм с диаметр частиц 5 μm, размер пор 100 Å) (Phenomenex, США).

Установка для фильтрации Millipore (Merck, США).

Используемые реактивы

Бензалкония хлорид (Unilab chemicals and pharmaceuticals Pvt. Ltd., India, USP); 1-пентилсульфонат натрия (Panreac, кат. 245-208-4); ортофосфорная кислота (Fluka, кат. 79606); ацетонитрил (Panreac, HPLC-gradient grade, кат. 200-835-2).

Метод ВЭЖХ

Приготовление подвижной фазы А: в мерную колбу вместимостью 500 мл помещали 435 мг натрия 1-пентилсульфоната, 300 мл воды для хроматографии, растворяли соль, затем добавляли 5 мл кислоты ортофосфорной концентрированной и доводили водой для хроматографии до метки.

В качестве фазы В использовали ацетонитрил для хроматографии.

Приготовление растворителя образцов (А:В = 86 : 14 %) об./об. смешивали фазы А и В в заданном соотношении: 86 мл фазы А и 14 мл фазы В.

Приготовление раствора СО бензалкония хлорида: в мерную колбу вместимостью 25 мл помещали 75,0 мг (точная навеска) СО бензалкония хлорида, растворяли растворителем, доводили до метки и перемешивали. 1 мл полученного раствора помещали в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводили объем раствора растворителем до метки и перемешивали.

Приготовление раствора назального спрея налтрексона гидрохлорида [5]: в мерную колбу вместимостью 50 мл помещали 0,5 мл назального спрея, объем раствора доводили до метки растворителем и перемешивали. Затем полученный раствор объемом 10 мл фильтровали через мембранный фильтр из поливинилиденфторида с размером пор 0,45 мкм.

Приготовление раствора назального спрея для анализа бензалкония хлорида по разработанной методике: в мерную колбу вместимостью 50 мл помещали 5,0 мл назального спрея, объем раствора доводили до метки растворителем и перемешивали. Полученный раствор объемом 10 мл фильтровали

через мембранный фильтр из поливинилиденфторида с размером пор 0,45 мкм.

Приготовление раствора плацебо: в мерную колбу вместимостью 100 мл помещали 2,5 г налтрексона гидрохлорида, 14,0 г полоксамера Kolliphor® P 407, 0,01 г лимонной кислоты безводной, 0,2 г натрия хлорида, приливали 70 мл холодной воды очищенной и оставляли при постоянном перемешивании при температуре 4–7 °С на 5–6 часов. Затем доводили до метки водой очищенной и перемешивали.

Приготовление раствора плацебо для анализа: в мерную колбу вместимостью 50 мл помещали 5,0 мл раствора плацебо, доводили до метки растворителем, перемешивали и фильтровали полученный раствор через мембранный фильтр из поливинилиденфторида с размером пор 0,45 мкм.

Анализ бензалкония хлорида проводили на колонке Phenomenex Kinetex XB C18 250 × 4,6 мм с диаметром частиц 5 мкм и размером пор 100 Å. Скорость потока подвижной фазы 1 мл/мин. Рабочая длина волны 208 нм, температура колонки 25 °С. Испытуемый образец вводили объемом 10,0 мкл. Осуществляли элюирование в градиентном режиме по следующей схеме: 0 мин – 14 % В; 7 мин – 14 % В; 13 мин – 60 % В; 20 мин – 90 % В; 21 мин – 14 % В; 26 мин – 14 % В.

В хроматограф, выведенный на рабочий режим, последовательно вводили не менее 5 раз раствор бензалкония хлорида для анализа. На хроматограммах идентифицировали пики бензалкония хлорида и определяли их суммарную площадь. Бензалкония хлорид, в данных условиях, хроматографируется в виде двух пиков гомологичных соединений с длиной углеводородной цепи 12 и 14 атомов углерода, имеющих время удерживания около 18,7 и 20,7 мин соответственно. Оценка пригодности хроматографической системы приводится для пиков раствора СО бензалкония хлорида.

Хроматографическая система считается пригодной, если выполняются следующие условия:

- эффективность для пиков бензалкония хлорида на хроматограммах раствора стандартного образца должна составлять не менее 5000 теоретических тарелок;
- относительное среднеквадратичное отклонение площадей пиков бензалкония хлорида на хроматограммах раствора стандартного образца должна составлять не более 5 %;
- фактор асимметрии для пиков бензалкония хлорида на хроматограммах раствора стандартного образца должен не превышать 1,5.

Расчет

Содержание бензалкония хлорида в жидкой лекарственной форме ($C_{\text{исп}}$, мг/мл жидкой лекарственной формы) определяли по формуле:

$$C_{\text{исп}} = \frac{a_{\text{СО}} \cdot V_{\text{СО}} \cdot S_{\text{исп}} \cdot 50 \cdot P}{1250 \cdot S_{\text{СО}} \cdot V_{\text{исп}} \cdot 100},$$

где $S_{\text{исп}}$, $S_{\text{СО}}$ – усредненные площади пика (по 5 хроматограммам) бензалкония хлорида на хроматограммах раствора назального спрея для анализа и раствора бензалкония хлорида для анализа соответственно; $a_{\text{СО}}$ – навеска рабочего стандартного образца бензалкония хлорида, использованная при приготовлении раствора бензалкония хлорида для анализа, мг; $V_{\text{СО}}$ – аликвота раствора стандартного образца бензалкония хлорида, взятая для второго разбавления, мл; $V_{\text{исп}}$ – аликвота раствора препарата, мл; P – содержание основного вещества в стандартном образце, %.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

С целью оптимизации методик количественного определения налтрексона гидрохлорида и бензалкония хлорида в условиях производства была изучена возможность применения разработанной ранее методики определения налтрексона гидрохлорида для количественного определения бензалкония хлорида в той же лекарственной форме. Для этого хроматографировали раствор бензалкония хлорида с концентрацией 0,01 мг/мл. В данных условиях бензалконий хлорид выходил в виде двух пиков гомологичных соединений длинной углеводородной цепи 12 и 14 атомов углерода со временами удерживания 18,7 и 20,7 мин соответственно (рисунок 1).

Рисунок 1. Хроматограмма раствора бензалкония хлорида

Figure 1. Chromatogram of a solution of benzalkonium chloride

При анализе образца спрея, подготовленного в соответствии с методикой [5], не удалось идентифицировать пики бензалкония хлорида, поэтому был установлен его предел количественного обнаружения (ПКО).

Для оценки ПКО в условиях проведения анализа применили метод расчета по величине стандартного отклонения аналитического сигнала и угловому коэффициенту калибровочного графика в соответствии с формулой (1):

$$\text{ПКО} = 10 \cdot \frac{S}{b}, \quad (1)$$

где S – стандартное отклонение аналитического сигнала; b – тангенс угла наклона калибровочного графика.

Так как ПКО составил 0,00195 мг/мл, то при проведении пробоподготовки согласно методике [5] невозможно определить количественное содержание бензалкония хлорида. Из этих результатов следует, что совместное определение бензалкония хлорида и налтрексона гидрохлорида невозможно. Также невозможно в условиях данной пробоподготовки провести отдельно количественное определение бензалкония хлорида. Следовательно, необходимо изменить процедуру пробоподготовки с учетом ПКО. Разведение необходимо осуществить таким образом, чтобы концентрация бензалкония хлорида попадала в диапазон концентраций выше ПКО и при этом минимизировать действие полимерного компонента на колонку. В соответствии с этим максимальное разведение при значениях ПКО 0,00195 мг/мл и исходной концентрации бензалкония хлорида 0,06 мг/мл не должно превышать 30,7 раз. С другой стороны, для предотвращения выхода из строя рабочих узлов хроматографа за счёт термореверсивных свойств исследуемого образца необходимо снизить концентрацию полимера. Для того чтобы нивелировать негативное влияние полимера и обеспечить высокую эффективность при анализе исследуемых образцов было предложено использовать десятикратное разбавление.

Исходя из вышеизложенного, был модифицирован процесс пробоподготовки: в мерную колбу вместимостью 50 мл помещали 5,0 мл назального спрея, объем раствора доводили до метки растворителем и перемешивали. Затем полученный раствор объемом 10 мл фильтровали через мембранный фильтр из поливинилиденфторида с размером пор 0,45 мкм.

С целью подтверждения пригодности методики для количественного определения бензалкония хлорида была проведена валидация в соответствии с требованиями ГФ XIV [6] по следующим характеристикам: специфичность, линейность, правильность и прецизионность (повторяемость и внутрिलाбораторная сходимост).

Специфичность подтверждали на основе сравнения результатов хроматографирования растворителя (рисунок 2), раствора назального спрея, не содержащего бензалкония хлорида («плацебо») (рисунок 3), раствора СО бензалкония хлорида (рисунок 4), раствора назального спрея для анализа (рисунок 5).

На представленных выше хроматограммах растворителя и «плацебо» (рисунки 2–3) нет пиков, препятствующих определению бензалкония хлорида. Пики, соответствующие бензалконию хлориду на хроматограмме раствора назального спрея для анализа (рисунок 5), имеют такое же время удерживания, как

Рисунок 2. Хроматограмма растворителя

Figure 2. Chromatogram of solvent

Рисунок 3. Хроматограмма «плацебо»

Figure 3. Chromatogram of placebo

Рисунок 4. Хроматограмма раствора СО бензалкония хлорида

Figure 4. Chromatogram of RS Benzalconium chloride solution

пики на хроматограмме раствора СО бензалкония хлорида (рисунок 4).

Исходя из номинального содержания бензалкония хлорида в назальном спрее составляющей 0,006 мг/мл, аналитическая область методики находится в диапазоне 0,0048–0,0072 мг/мл. Линейность методики была проверена при анализе пяти концентраций, находящихся в аналитической области (0,0048; 0,0054; 0,006; 0,0066; 0,0072 мг/мл) (таблица 1, рисунок 6).

Рисунок 5. Хроматограмма раствора назального спрея

Figure 5. Chromatogram of nasal spray solution

Таблица 1. Валидация методики количественного определения бензалкония хлорида в назальном спрее по параметру линейности

Table 1. Validation of the method for the quantitative determination of benzalkonium chloride by nasal spray according to the linearity parameter.

Уровень концентрации, % Concentration level, %	Расчетное содержание бензалкония хлорида, мг/мл Estimated content of benzalkonium chloride, mg/ml	Сумма площадей пиков, mAU · с Sum of peak areas, mAU · s
80	0,0048	212,36
80	0,0048	212,28
90	0,0054	230,78
90	0,0054	230,29
100	0,0060	259,66
100	0,0060	259,52
110	0,0066	284,47
110	0,0066	285,53
120	0,0072	301,48
120	0,0072	301,27
Статистические характеристики Statistical characteristics	Результаты Results	Критерии приемлемости Eligibility criteria
Уравнение регрессионной прямой Regression line equation	$y = 38762x + 25,193$	$y = bx + a$
Коэффициент корреляции R Correlation coefficient R	0,9959	≥0,99

Визуальная линейность графика на рисунке 6 и величина коэффициента корреляции $R = \sqrt{0,9918} = 0,9959$ удовлетворяют требованиям критерия линейности. Линейность методики установлена.

Оценку методики по параметру правильность осуществляли следующим образом. Проводили количественное определение бензалкония хлорида в назальном спрее. Методом добавок готовили 9 растворов охватывающих диапазон концентраций 80–120 % (с шагом 20 %, по три раствора на каждый уровень концентрации) от количественного определения бензалкония хлорида в назальном спрее. Оценку

Рисунок 6. Зависимость суммарной площади пиков бензалкония хлорида от его концентрации

Figure 6. Graphical display of the Linearity parameter

проводили сравнением определенного содержания с известным содержанием вещества (фактор отклика). По результатам анализа определяли фактор отклика (Q), %:

$$Q = \frac{C_2}{C_1} \cdot 100,$$

где C_1 – известное содержание бензалкония хлорида в анализируемом образце, %; C_2 – определенное содержание бензалкония хлорида в анализируемом образце, %.

Из полученных девяти значений фактора отклика рассчитывали: среднее значение, относительное стандартное отклонение и доверительный интервал. Были предъявлены следующие критерии приемлемости: среднее значение должно находиться в диапазоне 95–105 %; относительное стандартное отклонение ≤3,0 %; доверительный интервал должен включать 100 % значение.

Исходя из таблицы 2 можно сделать вывод, что требования критерия правильности выполнены.

Для оценки критерия прецизионности методики по параметру повторяемость (сходимость) было проанализировано шесть образцов назального спрея налтрексона одним сотрудником лаборатории в течение 1 дня на одном приборе (таблица 3). Для подтверждения внутрилабораторной прецизионности было проанализировано по 6 образцов одной серии назального спрея налтрексона двумя сотрудниками лаборатории в разные дни на разном оборудовании (таблица 4).

Относительное стандартное отклонение не должно превышать 3,0 %. Требования критерия прецизионность по параметру повторяемость (сходимость) выполнены.

Относительное стандартное отклонение по результатам измерений в течение двух дней должно составлять не более 3,0 %. Критерий Фишера составил 1,01 %, что не превышает требуемый диапазон не более 5,05 %. Требования критерия прецизионность по параметру внутрилабораторная прецизионность выполнены.

Таблица 2. Валидация методики количественного определения бензалкония хлорида в назальном спрее по параметру правильность
Table 2. Validation of the method for the quantitative determination of benzalkonium chloride in a nasal spray by the parameter accuracy

Уровень концентрации, % Concentration level, %	Концентрация бензалкония хлорида в назальном спрее, мг/мл The concentration of benzalkonium chloride in the nasal spray, mg/ml	Концентрация доб., мг/мл Concentration add., mg/ml	Концентрация в испытуемом р-ре, мг/мл Concentration in the test solution, mg/ml	Площади пиков бензалкония хлорида в испытуемом растворе Peak areas of benzalkonium chloride in the test solution	Площади пиков бензалкония хлорида в растворе стандартного образца Peak areas of benzalkonium chloride in standard sample solution	Полученное содержание, мг/мл Received content, mg/ml	Отклик, % Response, %
80	0,0030	0,0018	0,0048	210,47	212,36	0,00478	99,58
	0,0030	0,0018	0,0048	211,63	212,28	0,00481	100,21
	0,0030	0,0018	0,0048	212,02	212,42	0,00482	100,42
100	0,0030	0,0030	0,0060	261,64	259,66	0,00610	101,67
	0,0030	0,0030	0,0060	253,88	259,52	0,00590	98,33
	0,0030	0,0030	0,0060	264,35	260,11	0,00617	102,83
120	0,0030	0,042	0,0072	307,38	301,48	0,00728	101,11
	0,0030	0,042	0,0072	309,31	301,27	0,00733	101,81
	0,0030	0,042	0,0072	301,17	302,16	0,00712	98,89
Статистические характеристики Statistical characteristics				Результаты, % Results, %		Критерии приемлемости Eligibility criteria	
Среднее значение Mean				100,54		95–105	
Относительное стандартное отклонение Relative standard deviation				1,45		≤3,0	
Верхняя граница доверительного интервала (P = 95 %) The upper limit of the confidence interval (P = 95 %)				102,83		Должен включать 100 % значение Must include 100 % value	
Нижняя граница доверительного интервала (P = 95 %) Lower limit of the confidence interval (P = 95 %)				98,33			

Таблица 3. Валидация методики количественного определения бензалкония хлорида в назальном спрее по параметру повторяемость (сходимость)
Table 3. Validation of the method for the quantitative determination of naltrexone benzalkonium chloride nasal spray by the repeatability parameter (convergence)

Номер пробы Sample number	Площадь пика бензалкония хлорида, mAU · с Peak area of benzalkonium chloride, mAU · s	Содержание бензалкония хлорида в жидкой лекарственной форме, мг/мл Benzalkonium chloride content in liquid dosage form, mg/ml
1	260,12	0,00606
2	259,13	0,00604
3	258,65	0,00602
4	258,16	0,00601
5	257,16	0,00598
6	258,13	0,00601
Статистические характеристики Statistical characteristics		Результаты
Среднее содержание, мг/мл Average content, mg/ml		0,00602
Стандартное отклонение, мг/мл Standard deviation, mg/ml		0,000026
Относительное стандартное отклонение, % Relative standard deviation, %		0,043
Доверительный интервал (P = 95 %), мг Confidence interval (P = 95 %), mg		±0,000027

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенные исследования позволили подобрать процедуру пробоподготовки и разработать методику количественного определения бензалкония хлорида в составе назального спрея налтрексона гидрохлорида, содержащего 14,0 % полоксамера 407. Разработанная методика определения бензалкония хлорида унифицирована с методикой количественного определения налтрексона гидрохлорида в составе одного лекарственного препарата. Это позволяет оптимизировать процесс определения количественного содержания компонентов в составе лекарственного средства в условиях производства. Проведена валидация методики и подтверждена ее специфичность, линейность, правильность и прецизионность.

ЛИТЕРАТУРА

- Жиякова Е. Т., Зинченко А. А., Придачина Д. В., Новиков О. О., Новикова М. Ю. Применение методики ВЭЖХ для анализа бензалкония хлорида в глазных каплях с рабочим названием «Аквавит». *Современные проблемы науки и образования*. 2013;5:633–638.
- Амелин В. Г., Большаков Д. С. Идентификация и одновременное определение четвертичных аммониевых соединений с другими действующими веществами в лекарственных препаратах методом жидкостной хромато-масс-спектрометрии. *Химико-фармацевтический журнал*. 2020;54(1):54–60.

Таблица 4. Валидация методики количественного определения бензалкония хлорида в назальном спрее по параметру внутрилабораторная прецизионность

Table 4. Validation of the method for the quantitative determination of benzalkonium chloride in a nasal spray in terms of intermediate precision

Номер пробы Sample number	Сотрудник 1 Employee 1		Сотрудник 2 Employee 2	
	Площадь пика бензакония хлорида, mAU · с Peak area of benazconium chloride, mAU · s	Содержание бензалкония хлорида в единице жидкой лекарственной формы, мг Benzalkonium chloride content per unit of liquid dosage form, mg	Площадь пика бензалкония хлорида, mAU · с Peak area of benzalkonium chloride, mAU · s	Содержание бензалкония хлорида в единице жидкой лекарственной формы, мг Benzalkonium chloride content per unit of liquid dosage form, mg
1	260,12	0,00606	259,81	0,00605
2	259,13	0,00604	257,48	0,00599
3	258,65	0,00602	258,13	0,00601
4	258,16	0,00601	259,14	0,00604
5	257,16	0,00598	257,11	0,00598
6	258,13	0,00601	258,18	0,00601
Статистические характеристики Statistical characteristics				
Среднее содержание, мг Average content, mg		0,00602	0,00601	
Стандартное отклонение, мг Standard deviation, mg		0,0000260	0,0000261	
Относительное стандартное отклонение, % Relative standard deviation, %		0,0432	0,0434	
Доверительный интервал (P = 95 %), мг Confidence interval (P = 95 %), mg		±0,0000273	±0,0000274	
F(5 %; 5; 5) = 5,05		1,01		

- Dudkiewicz-Wilczyńska J., Tautt J., Roman I. Application of the HPLC method for benzalkonium chloride determination in aerosol preparations. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*. 2004;34(5):909–920. DOI: 10.1016/j.jpba.2003.09.001.
- AlAani H., AlNukkary Y. Determination of Benzalkonium Chloride in Ophthalmic Solutions by Stability-Indicating HPLC Method: Application to a Stability Study. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 2016;6(05):080–089. DOI: 10.7324/JAPS.2016.60513.
- Домнина Ю. М., Суслов В. В., Кедик С. А., Ворфоломеева Е. В., Мелешко А. В. Количественное определение налтрексона гидрохлорида в назальном спрее методом высокоэффективной жидкостной хроматографии. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2020;9(2):98–104.
- ГФ XIV ОФС.1.1.0012.15 «Валидация аналитических методик». С. 276–288.
- Domnina Yu. M., Suslov V. V., Kedik S. A., Vorfolomeeva E. V., Meleshko A. V. Quantitative determination of naltrexone hydrochloride in a nasal spray by high-performance liquid chromatography. *Razrabotka i registratsiya lekarstvennykh sredstv = Drug development & registration*. 2020;9(2):98–104. (In Russ).
- GF XIV OFS.1.1.0012.15 «Validatsiya analiticheskikh metodik». P. 276–288. (In Russ).

REFERENCES

- Zhilyakova E. T., Zinchenko A. A., Pridachina D. V., Novikov O. O., Novikova M. Yu. Application procedures for hplc analysis benzalkonium chloride in eye drops with the working title «AquaVit». *Sovremennye problemy nauki i obrazovaniya*. 2013;5:633–633. (In Russ.).
- Amelin V. G., Bol'shakov D. S. Identification and simultaneous determination of quaternary ammonium compounds with other active substances in medicinal products by liquid chromatography-mass spectrometry. *Himiko-farmaceuticheskij zhurnal = Pharmaceutical Chemistry Journal*. 2020;54(1):54–60. (In Russ).
- Dudkiewicz-Wilczyńska J., Tautt J., Roman I. Application of the HPLC method for benzalkonium chloride determination in aerosol preparations. *Journal of pharmaceutical and biomedical analysis*. 2004;34(5):909–920. DOI: 10.1016/j.jpba.2003.09.001.
- AlAani H., AlNukkary Y. Determination of Benzalkonium Chloride in Ophthalmic Solutions by Stability-Indicating HPLC Method: Application to a Stability Study. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*. 2016;6(05):080–089. DOI: 10.7324/JAPS.2016.60513.