

# Совместное определение янтарной кислоты и цетилпиридиния хлорида в пленках лекарственных методом градиентной высокоэффективной жидкостной хроматографии

**Дворская О. Н.**

*д.фарм.н., доцент, заведующая, кафедра фармации и химии, фармацевтический факультет*

**Ножкина Н. Н.**

*старший преподаватель, кафедра фармации и химии, фармацевтический факультет*

*ФГБОУ ВО «Южно-Уральский государственный медицинский университет» Минздрава России, г. Челябинск, Российская Федерация*

**Автор для корреспонденции:** Дворская Оксана Николаевна, [dvoksnik@gmail.com](mailto:dvoksnik@gmail.com)

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Разработана методика на основе обращенно-фазной высокоэффективной жидкостной хроматографии с диодноматричным детектированием для совместного определения янтарной кислоты и цетилпиридиния хлорида в пленках лекарственных комплексного действия. Эффективное хроматографическое разделение действующих компонентов лекарственного средства достигалось в режиме градиентного элюирования на колонке Luna C18(2) 100A (4,6 × 250 mm, 5µm) при использовании подвижной фазы, состоящей из 0,1% раствора кислоты фосфорной и ацетонитрила. Длина волны детектирования составила 210 нм для обоих соединений. Разработанная методика валидирована по показателям специфичность, линейность, прецизионность, правильность и может быть использована для определения подлинности и количественного содержания янтарной кислоты и цетилпиридиния хлорида при совместном присутствии в оценке качества пленок лекарственных.

**Ключевые слова:** пленки лекарственные, янтарная кислота, цетилпиридиния хлорид, высокоэффективная жидкостная хроматография, градиентное элюирование

**doi:** 10.29234/2308-9113-2021-9-2-75-88

**Для цитирования:** Дворская О. Н., Ножкина Н. Н. Совместное определение янтарной кислоты и цетилпиридиния хлорида в пленках лекарственных методом градиентной высокоэффективной жидкостной хроматографии. *Медицина* 2021; 9(2): 75-88.

## Введение

Воспалительные заболевания пародонта по данным официальной статистики ВОЗ занимают одно из ведущих мест в структуре стоматологических заболеваний [8]. В формировании воспалительных процессов в пародонте участвуют микробные факторы, аутоиммунные процессы, а также активация процессов свободнорадикального окисления [4]. В связи с этим актуальной задачей современной фармацевтической науки является разработка для применения в стоматологической практике лекарственных средств,

сочетающих в одной лекарственной форме компоненты с антимикробным и антиоксидантным действием. Данные средства позволят оказывать комплексное лечебное воздействие и добиваться коррекции свободно-радикального окисления в тканях пародонта.

Сотрудниками Южно-Уральского государственного медицинского университета (г. Челябинск) была разработана лекарственная композиция в виде лекарственной пленки, содержащая янтарную кислоту и цетилпиридиния хлорид [7]. В опытах *in vitro* был подтвержден антиоксидантный эффект пленки. Также было установлено, что катионное поверхностно-активное соединение цетилпиридиния хлорид, обладающее антисептическим действием, оказывает потенцирующий эффект на антиоксидантный потенциал янтарной кислоты [6].

Необходимым этапом при создании новых лекарственных средств является разработка методик контроля их качества. Универсальным методом анализа комбинированных препаратов является высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ), позволяющая одновременно проводить определение подлинности и количественного содержания действующих и вспомогательных компонентов.

Анализ янтарной кислоты, обладающей гидрофильными свойствами, осуществляют методом обращенно-фазной ВЭЖХ со спектрофотометрическим детектированием с применением сильноокислых подвижных фаз. Так количественное определение янтарной кислоты и циннаризина при совместном присутствии предложено проводить на хроматографической колонке Zorbax SB-Aq, предназначенной для удерживания гидрофильных соединений, с использованием в качестве элюента смеси раствора калия фосфорнокислого однозамещенного (рН 2,0) и ацетонитрила [2]. Для идентификации и количественного определения янтарной кислоты в таблетках и суппозиториях, содержащих пантогам и янтарную кислоту, разработана методика, основанная на применении водного элюента, доведенного до рН 2,4 кислотой ортофосфорной концентрированной [3]. Водный раствор хлорной кислоты (рН 2,10-2,15) был использован в качестве подвижной фазы для одновременного определения щавелевой, фумаровой, малеиновой и янтарной кислот в фармацевтических субстанциях винной и яблочной кислот [11]. Метод ион-парной ВЭЖХ с использованием градиентного элюирования описан в литературе [5] для определения янтарной кислоты, рибоксина, никотинамида и рибофлавина в препарате «Церебронорм®».

В научной литературе представлены методики, основанные на обращенно-фазной и гидрофильной ВЭЖХ (HILIC) со спектрофотометрической детекцией, для анализа комбинированных оральных антисептиков (гелей, пастилок, буккальных таблеток), содержащих цетилпиридиния хлорид, хлоркрезол и местные анестетики (тетракаин, лидокаин, бензокаин) [9,10,12]. Для идентификации и одновременного определения четвертичных аммониевых соединений (в том числе цетилпиридиния хлорида) с другими действующими веществами в составе лекарственных препаратов предложен метод

ультравысокоэффективной жидкостной хроматографии в сочетании с времяпролетной масс-спектрометрией высокого разрешения [9].

В доступной литературе информация о методах одновременного определения янтарной кислоты и цетилпиридиния хлорида в лекарственных средствах отсутствует. Поэтому целью настоящей работы явилась разработка условий хроматографического определения действующих компонентов в пленках лекарственных комплексного действия.

## Экспериментальная часть

### Используемое оборудование, объекты и методы исследования

В работе использован жидкостный хроматограф LC-20 Prominence (Shimadzu, Япония) в следующей комплектации:

- насос LC-20AD;
- вакуумный дегазатор;
- автодозатор SIL-20A;
- термостат колонок CTO-20A;
- диодноматричный детектор SPD-20A.

Разработку методики проводили на колонке Luna C18(2) 100A (4,6 × 250 mm, 5μm). Хроматографическую информацию обрабатывали с помощью программного обеспечения «LabSolutions».

В исследовании были использованы следующие растворители и реактивы: кислота орто-фосфорная («Sigma-Aldrich») и ацетонитрил для градиентной ВЭЖХ («Biochem»). Вода для приготовления подвижной была получена с помощью системы очистки воды Simplicity («Millipore»).

Объектами исследования являлись субстанции янтарной кислоты (ООО «Полисинтез», Россия), цетилпиридиния хлорида («Merck», Германия), а также экспериментальные серии лекарственных пленок. Лекарственные пленки представляют собой однородные, эластичные, бесцветные, прозрачные пластины со слабым характерным запахом. Средняя масса одной пленки составляет около 0,08 г. Номинальное содержание янтарной кислоты в одной пленке 2,5 мг, цетилпиридиния хлорида – 1 мг.

Валидацию разработанной аналитической методики проводили в соответствии с ОФС 1.1.0012.15 Государственной Фармакопеи РФ (XIV изд.).

## Приготовление исходных и рабочих стандартных растворов

### *Приготовление исходного раствора янтарной кислоты*

Навеску 0,12565 г субстанции янтарной кислоты помещали в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяли в 25 мл воды очищенной, доводили объем до метки тем же растворителем и перемешивали.

### *Приготовление исходного раствора цетилпиридиния хлорида*

Навеску 0,05075 г субстанции цетилпиридиния хлорида помещали в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяли в 25 мл воды очищенной, доводили объем до метки тем же растворителем и перемешивали.

Путем соответствующих разведений из исходных растворов были приготовлены рабочие растворы для определения линейности методики с концентрациями 87,96; 100,52; 113,09; 125,65; 138,22; 150,78 и 163,35 мкг/мл для янтарной кислоты и 35,53; 40,60; 45,68; 50,75; 55,83; 60,90 и 65,98 для цетилпиридиния хлорида. Растворителем для калибровочных растворов являлся начальный состав подвижной фазы. Концентрации приготовленных растворов охватывали диапазон от 70% до 130% от номинальной концентрации соединений в испытуемом растворе.

## Приготовление испытуемого раствора из лекарственных пленок

Около 0,1 г (точная навеска) измельченной пленочной массы помещали в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляли 15 мл подвижной фазы, нагревали на водяной бане (40-50°C) до полного растворения, охлаждали до комнатной температуры. Доводили объем до метки тем же растворителем, перемешивали и фильтровали через мембранный фильтр (размер пор 0,45 мкм).

Для определения правильности методики готовили растворы на основе плацебо из лекарственных пленок с добавлением известных количеств янтарной кислоты и цетилпиридиния хлорида на 3 уровнях концентраций: 80%, 100% и 120% от номинальной концентрации соединений в испытуемом растворе.

## Результаты и обсуждение

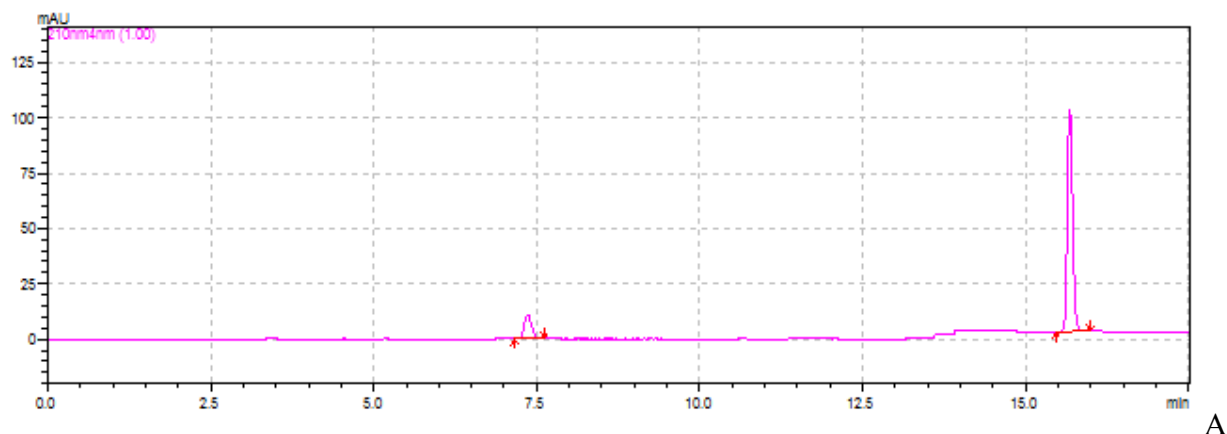
### *Выбор хроматографических условий*

При выборе состава подвижной фазы и способа элюирования учитывали физико-химические свойства разделяемых компонентов. Янтарная кислота является гидрофильным соединением, поэтому слабо удерживается на колонке с обращенно-фазным сорбентом. Гидрофобный характер цетилпиридиния хлорида, связанный с наличием в структуре молекулы протяженной углеводородной цепи, обуславливает его сильное сорбирование к неподвижной фазе C18.

В качестве элюента была выбрана смесь на основе ацетонитрила и 0,1% водного раствора фосфорной кислоты. Выбор «кислого» элюента связан с необходимостью перевода янтарной кислоты в молекулярную (неионизированную) форму, что способствует ее лучшему удерживанию на обращенно-фазном сорбенте. Ввиду значительного различия компонентов лекарственных пленок по полярности был применен способ градиентного элюирования.

Для достижения приемлемого коэффициента удерживания янтарной кислоты потребовалось начальное элюирование в течение 8 минут с использованием подвижной фазы с минимальной долей ацетонитрила (2%). Затем для элюирования гидрофобного цетилпиридиния хлорида линейно увеличивали долю ацетонитрила с 2 до 85% за 10 минут. Скорость потока составила 1 мл/мин, температура термостата колонки 30°C. В данных условиях янтарная кислота и цетилпиридиния хлорид элюировались в виде симметричных пиков со временами удерживания 7,37 мин. и 15,67 мин., соответственно. На рисунках 1-2 представлены хроматограммы стандартного раствора, содержащего 125 мкг/мл янтарной кислоты и 50 мкг/мл цетилпиридиния хлорида, и испытуемого раствора пленок лекарственных.

**Рис. 1.** Общий вид хроматограммы стандартного раствора (А), хроматографические пики янтарной кислоты (Б) и цетилпиридиния хлорида (В).



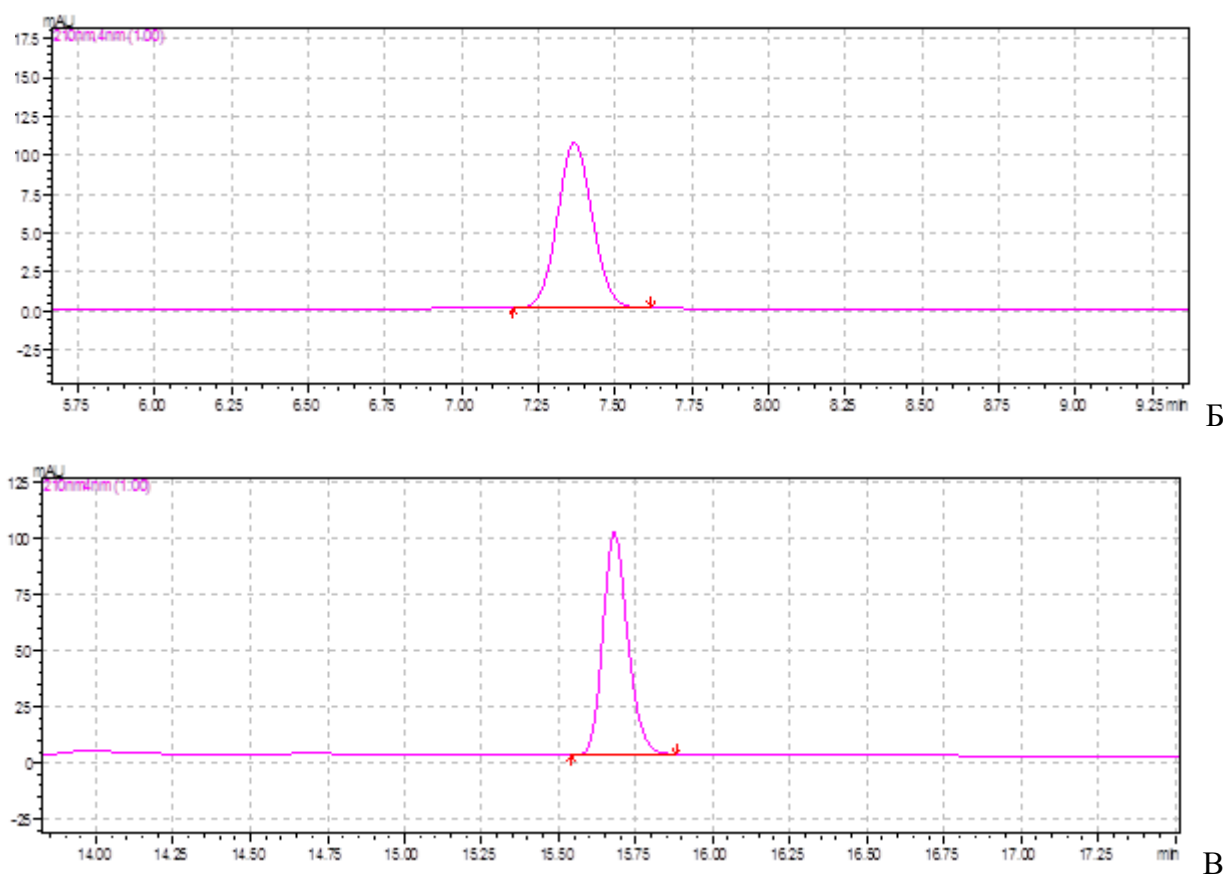
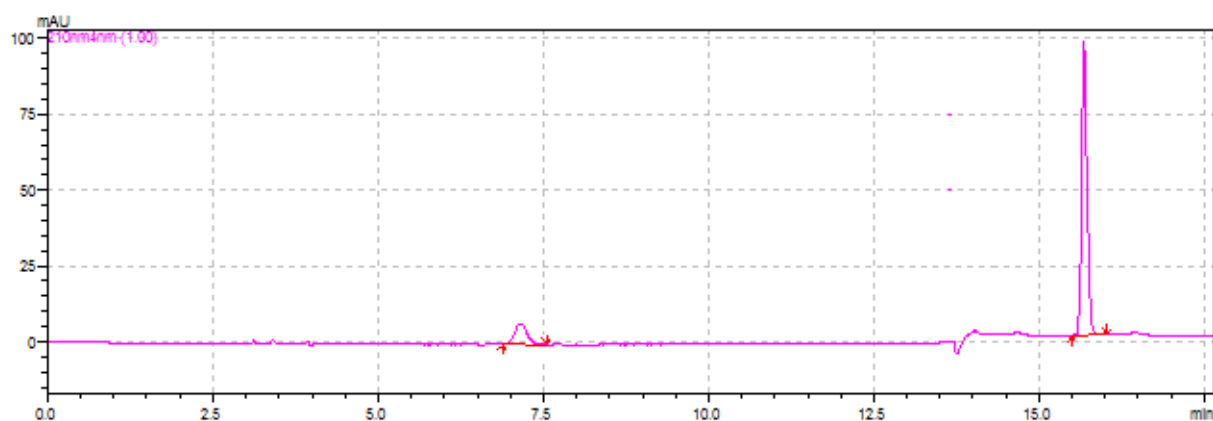


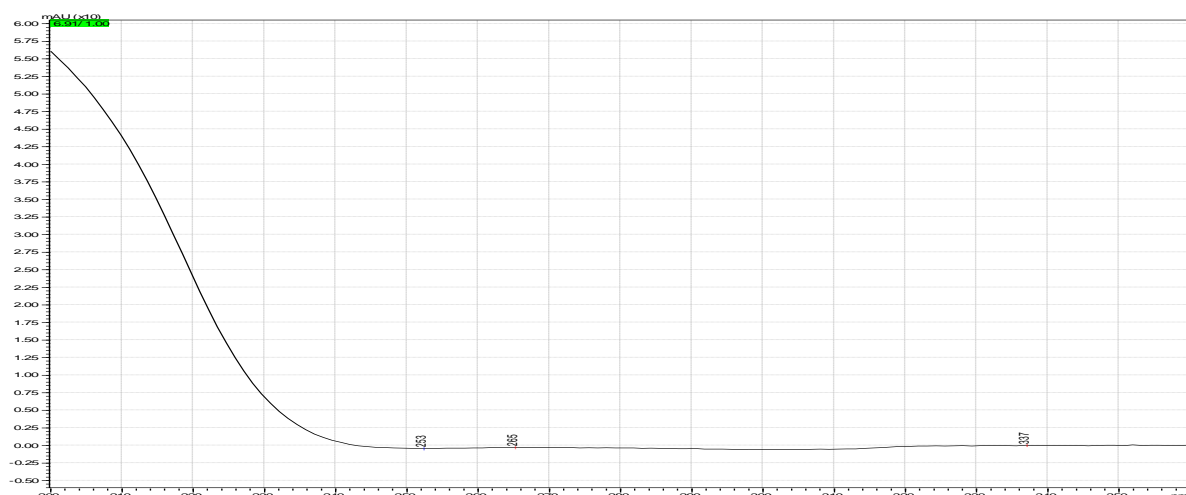
Рис. 2. Хроматограмма испытуемого раствора лекарственных пленок.



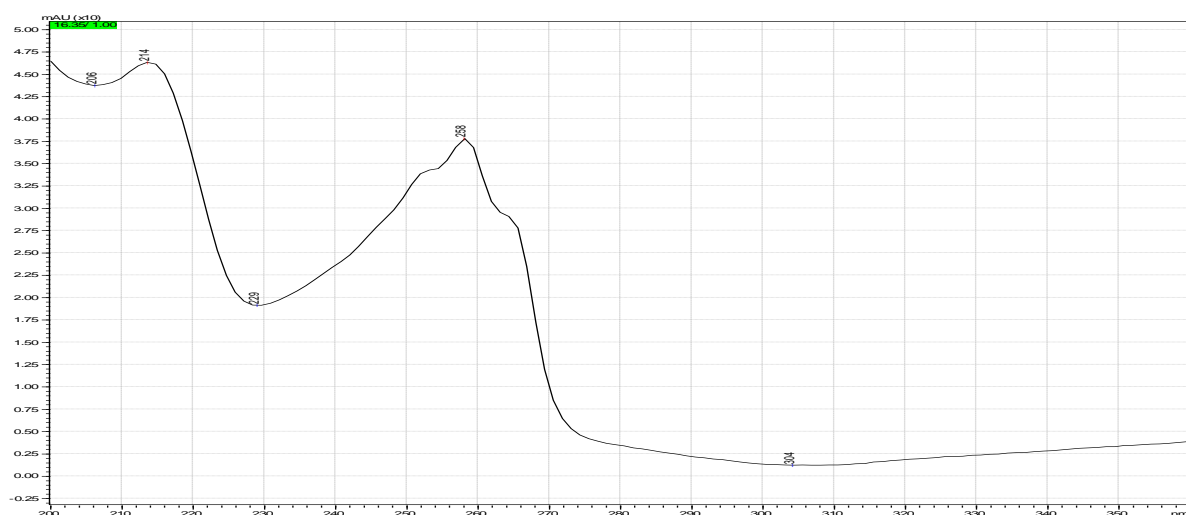
### Выбор длины волны детектирования

На рис. 3 представлены УФ-спектры янтарной кислоты и цетилпиридиния хлорида в подвижной фазе. Янтарная кислота не имеет выраженных максимумов поглощения, максимальная абсорбция излучения наблюдается в диапазоне длин волн от 200 до 210 нм. В УФ-спектре цетилпиридиния хлорида наблюдаются два максимума поглощения при 214 нм и 258 нм. Учитывая значительное поглощение обоих соединений при 210 нм, данная длина волны была выбрана в качестве общей волны детектирования.

Рис. 3. УФ-спектры янтарной кислоты (А) и цетилпиридиния хлорида (Б).



**А**

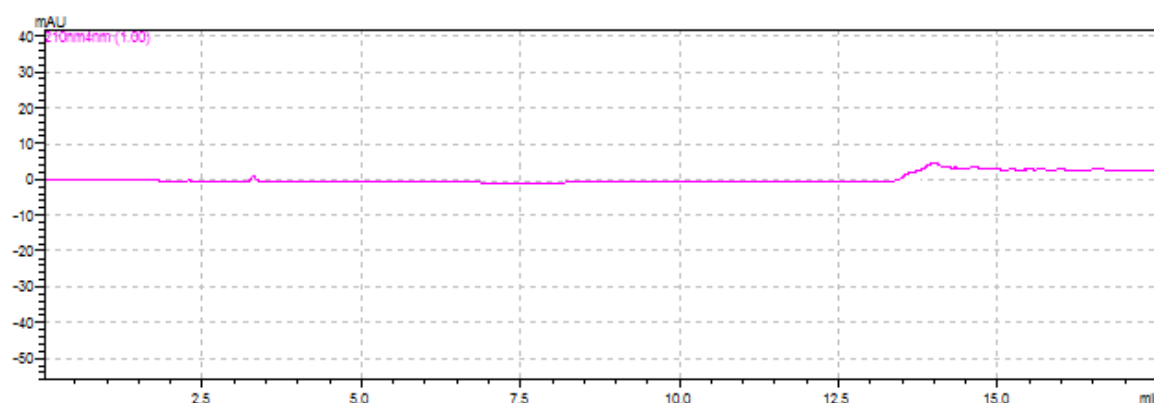


**Б**

### Специфичность

На хроматограммах, полученных после инъекций растворителя, раствора плацебо, стандартных растворов, испытуемого раствора отсутствовали пики, имеющие времена удерживания с пиками янтарной кислоты и цетилпиридиния хлорида. Пример хроматограммы раствора плацебо (раствора вспомогательных компонентов лекарственных пленок) представлен на рис. 4. Таким образом, разработанные условия ВЭЖХ являются специфичными и могут использоваться для одновременного определения действующих компонентов изучаемой лекарственной формы.

**Рис. 4. Хроматограмма раствора плацебо.**



### *Пригодность хроматографической системы*

Для оценки разрешающей способности и воспроизводимости хроматографической системы были проведены соответствующие тесты с использованием стандартного раствора янтарной кислоты и цетилпиридиния хлорида с концентрациями 125 мкг/мл и 50 мкг/мл, соответственно. После пятикратного инжектирования раствора для каждого соединения были определены следующие параметры: время удерживания, площадь пика, коэффициент асимметрии пика, эффективность колонки (ТТ), коэффициент разрешения. Средние значения данных параметров, а также значения относительного стандартного отклонения (RSD) представлены в таблице 1.

**Таблица 1. Параметры пригодности хроматографической системы при ВЭЖХ - определении янтарной кислоты и цетилпиридиния хлорида**

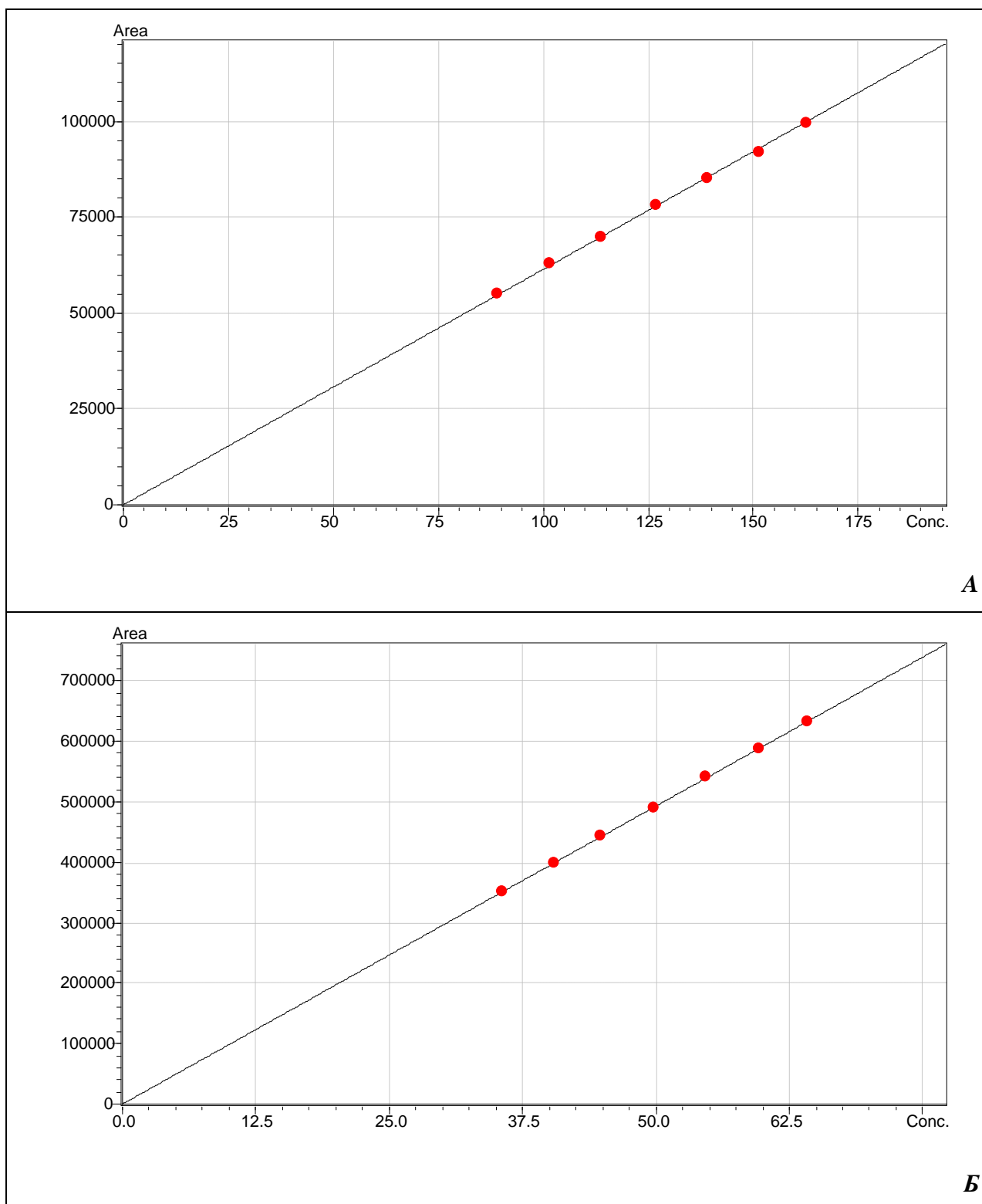
Параметры	Янтарная кислота	Цетилпиридиния хлорид
Время удерживания, мин.	7,37	15,67
RSD, %	0,05	0,06
Площадь хроматографического пика, RSD, %	77440 0,14	500792 0,05
Коэффициент асимметрии пика	1,15	1,28
Эффективность колонки, ТТ	4913	139611
Коэффициент разрешения	38,30	

### *Линейность*

Линейность методики была исследована для янтарной кислоты и цетилпиридиния хлорида на семи уровнях концентраций (в диапазоне от 70 до 130% от номинальной концентрации соединений в испытуемом растворе). Полученные калибровочные графики представлены на рис. 5. Уравнения линейной зависимости калибровочных графиков имели вид:  $S = 612,91 \times C$  (для янтарной кислоты) и  $S = 9855,28 \times C$  (для цетилпиридиния хлорида), где  $S$  – площадь хроматографического пика,  $C$  – концентрация вещества в растворе. Коэффициенты корреляции составили более 0,999 для обоих соединений.



**Рис. 5. Калибровочные графики количественного определения янтарной кислоты (А) и цетилпиридиния хлорида (Б) методом ВЭЖХ.**



### Правильность и прецизионность

Правильность разработанной хроматографической методики определяли путём анализа модельных смесей на основе растворов плацебо, в которые вводили известные количества янтарной кислоты и цетилпиридиния хлорида. Всего было приготовлено и проанализировано девять растворов – по три раствора на трех уровнях концентраций (80, 100 и 120% от номинального содержания действующих веществ в испытуемом растворе лекарственного средства). Оценку правильности проводили путем расчета процента открываемости (R) известных добавленных количеств веществ, стандартного отклонения, относительного стандартного отклонения и доверительного интервала среднего значения (табл. 2). Истинные значения концентраций приготовленных растворов находятся внутри доверительных интервалов средних результатов анализа, полученных с использованием разработанной методики. Рассчитанные значения критерия Стьюдента (0,45 – для янтарной кислоты, 1,71 – для цетилпиридиния хлорида) не превышают табличного значения (2,31), следовательно, полученные результаты количественного определения не отягощены систематической ошибкой.

**Таблица 2. Статистическая обработка результатов количественного анализа янтарной кислоты и цетилпиридиния хлорида в модельных смесях при определении правильности методики**

Номинальная концентрация, мкг/мл	Рассчитанная концентрация, мкг/мл	Открываемость, R %	Метрологические характеристики открываемости (P = 0,95; n = 9)			
			$\bar{X}$	SD	RSD	$\Delta \bar{X}$
Янтарная кислота						
100,27	99,50	99,23	99,90	0,67	0,67	0,52
101,63	100,52	98,91				
101,98	100,92	98,96				
124,82	125,17	100,28				
127,05	127,29	100,19				
125,98	126,09	100,09				
153,19	153,91	100,47				
151,44	152,21	100,51				
148,86	149,57	100,48				
Цетилпиридиния хлорид						
41,09	41,12	100,07	99,71	0,51	0,51	,94
40,21	40,28	100,17				
40,51	40,64	100,32				
51,38	50,91	99,09				
49,88	49,71	99,66				
51,03	51,09	100,12				
62,18	61,71	99,24				
60,52	59,87	98,93				
60,70	60,58	99,80				

Прецизионность методики оценивали путем исследования сходимости результатов, получаемых одним аналитиком на одном и том же оборудовании в течение одного дня, и внутрилабораторной воспроизводимости результатов, получаемых двумя аналитиками на одном и том же оборудовании в разные дни. Объектом исследования была одна экспериментальная серия лекарственных пленок. Расчет содержания действующих компонентов проводился на среднюю массу пленки 0,08 г.

Результаты количественного определения янтарной кислоты и цетилпиридиния хлорида в лекарственных пленках и их статистической обработки представлены в таблице 3.

**Таблица 3. Результаты оценки прецизионности (сходимости и внутрилабораторной воспроизводимости) методики количественного определения янтарной кислоты и цетилпиридиния хлорида**

Рассчитанное содержание янтарной кислоты, мг		Рассчитанное содержание цетилпиридиния хлорида, г	
Результаты 1 аналитика	Результаты 2 аналитика	Результаты 1 аналитика	Результаты 2 аналитика
2,44	2,45	1,05	1,06
2,47	2,50	1,11	1,08
2,42	2,48	1,07	1,09
2,44	2,43	1,08	1,07
2,46	2,41	1,07	1,09
2,48	2,48	1,05	1,07
$\bar{X}$ 2,45	$\bar{X}$ 2,46	$\bar{X}$ 1,07	$\bar{X}$ 1,08
SD 0,02	SD 0,03	SD 0,02	SD 0,01
RSD 0,82	RSD 1,22	RSD 1,87	RSD 0,93
Дисперсия ( $S^2$ ) 0,0004	Дисперсия ( $S^2$ ) 0,0009	Дисперсия ( $S^2$ ) 0,0004	Дисперсия ( $S^2$ ) 0,0001
Критерий Фишера 2,25		Критерий Фишера 4,00	

Относительные стандартные отклонения среднего результата каждого из аналитиков не превышают 1,22% при определении янтарной кислоты и 1,87% при определении цетилпиридиния хлорида, что свидетельствует о прецизионности методики на уровне сходимости.

Расчетные значения критерия Фишера меньше табличного значения 5,05 ( $P = 0,95$ ,  $n=6$ ) при определении обоих соединений, что подтверждает статистическую незначимость различий между результатами анализа двух аналитиков.

## Заключение

Разработана методика на основе градиентной ВЭЖХ со спектрофотометрическим детектированием, позволяющая проводить одновременное определение сильно различающихся по полярности действующих компонентов лекарственных пленок: янтарной кислоты и цетилпиридиния хлорида. Проведенная валидация аналитической методики продемонстрировала ее специфичность, линейность, правильность и прецизионность.

## Литература

1. Амелин В.Г., Большаков Д.С. Идентификация и одновременное определение четвертичных аммониевых соединений с другими действующими веществами в лекарственных препаратах методом жидкостной хроматомасс-спектрометрии. *Химико-фармацевтический журнал* 2020; 54(1): 54-60. doi 10.30906/0023-1134-2020-54-1-54-60
2. Воробьев А.Н., Петров А.Ю. Использование метода ВЭЖХ для количественного определения циннаризина и кислоты янтарной при совместном присутствии. *Человек и его здоровье* 2009; (2): 130-133.
3. Дзюба В.Ф., Сливкин А.И., Суслина С.Н. и др. Разработка методов стандартизации новых ноотропных препаратов на основе пантогама и кислоты янтарной с использованием физико-химических методов. *Вестник Воронежского государственного университета, серия Химия. Биология. Фармация* 2011; (1): 177-185.
4. Кравец О.Н. Выявление и коррекция нарушений свободнорадикального окисления в ротовой жидкости при хроническом генерализованном пародонтите. Автореф. дисс. на соискание ученой степени к.м.н.: 14.00.21. Уфа, 2007.
5. Леонов К.А., Пустовойтов А.В., Вишенкова Д.А. Совместное определение янтарной кислоты и водорастворимых витаминов методом ион-парной высокоэффективной жидкостной хроматографии. *Журнал аналитической химии* 2018; 73(4): 271-277. doi: 10.7868/S0044450218040047
6. Ножкина Н.Н., Сеницкий А.И., Симонян Е.В. Оценка антиоксидантного действия биорастворимой лекарственной пленки с кислотой янтарной и цетилпиридиния хлоридом. *Медицинский вестник Башкортостана* 2016; 5(65): 93-95.
7. Ножкина Н.Н., Симонян Е.В., Сеницкий А.И., и др. Патент на изобретение RU № 2617238 C1. Способ получения лекарственного средства с кислотой янтарной и цетилпиридиний хлоридом местного действия. Режим доступа: [https://www.elibrary.ru/download/elibrary\\_38263097\\_43306100.pdf](https://www.elibrary.ru/download/elibrary_38263097_43306100.pdf)
8. Всемирная Организация Здравоохранения (ВОЗ) [Электронный ресурс]. Режим доступа: <https://who.int/ru/>
9. Abdelwahab N.S., Ali N.W., Abdelkawy M., Emam A.A. Validated RP-HPLC and TLC-Densitometric Methods for Analysis of Ternary Mixture of Cetylpyridinium Chloride, Chlorocresol and Lidocaine in Oral Antiseptic. *Formulation Journal of Chromatographic Science* 2016; 54(3): 318-325.
10. Belal T.S., Shaalan R.A., Haggag R.S. et al. Gradient HPLC-Diode Array Detector Stability-Indicating Determination of Lidocaine Hydrochloride and Cetylpyridinium Chloride in Two Combined Oral Gel Dosage Forms. *Journal of AOAC International* 2011; 94(2): 503-512.

11. Lian H. Z., Mao L., Ye X.L., Miao J. Simultaneous determination of oxalic, fumaric, maleic and succinic acids in tartaric and malic acids for pharmaceutical use by ion-suppression reversed-phase high performance liquid chromatography. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 1999; (19): 621-625.
12. Wang J., Lu J., Zhang L., Hu Y. Determination of cetylpyridinium chloride and tetracaine hydrochloride in buccal tablets by RP-HPLC. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 2003; (32): 381-386. doi: 10.1016/s0731-7085(03)00108-0

## Combined Determination of Succinic Acid and Cetylpyridinium Chloride in Medicinal Films by Gradient High Performance Liquid Chromatography

**Dvorskaya O. N.**

*Doctor of Pharmacy, Assistant Professor, Head, Chair for Pharmacy and Chemistry, Faculty of Pharmacy*

**Nozhkina N. N.**

*Senior Lecturer, Chair for Pharmacy and Chemistry, Faculty of Pharmacy*

*South-Ural State Medical University, Chelyabinsk, Russia*

**Corresponding Author:** Dvorskaya Oksana, e-mail: dvoksnik@gmail.com

**Funding.** The study had no sponsorship.

**Conflict of interest:** None declared.

### Abstract

A technique has been developed based on reversed-phase high-performance liquid chromatography with diode-matrix detection for the joint determination of succinic acid and cetylpyridinium chloride in complex action medicinal films. Efficient chromatographic separation of active drug components was achieved in a gradient elution mode on a Luna C18 (2) 100A column (4.6 × 250 mm, 5 μm) using a mobile phase consisting of a 0.1% solution of phosphoric acid and acetonitrile. The detection wavelength was 210 nm for both compounds. The developed method is validated in terms of specificity, linearity, precision, accuracy and can be used to determine the authenticity and quantitative content of succinic acid and cetylpyridinium chloride in the joint presence in assessing the quality of medicinal films.

**Keywords:** medicinal films, succinic acid, cetylpyridinium chloride, high performance liquid chromatography, gradient elution

### References

1. Amelin, V.G., Bol'shakov D.S. Identifikacija i odnovennoe opredelenie chetvertichnyh ammonievnyh soedinenij s drugimi dejstvujushimi veshhestvami v lekarstvennyh preparatah metodom zhidkostnoj hromatomass-spektrometrii. [Simultaneous identification and determination by LC-MS of quaternary ammonium compounds with other active ingredients in drugs] *Himiko-farmaceuticheskij zhurnal [Pharmaceutical Chemistry Journal]* 2020; 54(1): 54-60. doi: 10.30906/0023-1134-2020-54-1-54-60 (In Russ.)
2. Vorob'ev A.N., Petrov A.Ju. Ispol'zovanie metoda VJeZhH dlja kolichestvennogo opredelenija cinnarizina i kisloty jantarnoj pri sovmestnom prisutstvii [Assay of cinnarizine and succinic acid in a combined mixture by HPLC method]. *Chelovek i ego zdorov'e [Humans and their health]* 2009; (2): 130-133. (In Russ.)
3. Dzjuba V.F., Slivkin A.I., Suslina S.N. et al. Razrabotka metodov standartizacii novyh nootropnyh preparatov na osnove pantogama i kisloty jantarnoj s ispol'zovaniem fiziko-himicheskikh metodov. [Development of methods for standardization of the new preparations with pantogam and succinic acid with use of physical and chemical

methods] *Vestnik Voronezhskogo gosudarstvennogo universiteta, seriya Himiya. Biologiya. Farmaciya [Proceedings of Voronezh State University. Series: Chemistry. Biology. Pharmacy]* 2011; (1): 177-185. (In Russ.)

4. Kravec O.N. Vyyavlenie i korrekciya narushenij svobodnoradikal'nogo okisleniya v rotovoj zhidkosti pri hronicheskom generalizovannom parodontite. Avtoref. diss. kand. med. nauk: 14.00.21. [Detection and correction of disorders of free radical oxidation in the oral fluid in chronic generalized periodontitis. Author's abstract, PhD Thesis. Ufa. 2007. (In Russ.)

5. Leonov K.A., Pustovojtov A.V., Vishenkova D.A. Sovmestnoe opredelenie jantarnoj kisloty i vodorastvorimyh vitaminov metodom ion-parnoj vysokojeffektivnoj zhidkostnoj hromatografii [Simultaneous determination of succinic acid and water-soluble vitamins by ion-pair high-performance liquid chromatography]. *Zhurnal analiticheskoy himii [Journal of Analytical Chemistry]* 2018; 73(4): 271–277. doi: 10.7868/S0044450218040047 (In Russ.)

6. Nozhkina N.N., Sinickij A.I., Simonjan E.V. Ocenka antioksidantnogo dejstviya biorastvorimoy lekarstvennoj plenki s kislotoj jantarnoj i cetilpiridinija hloridom. [Evaluation of antioxidant action of biodegradable medicinal films containing succinic acid and cetylpyridinium chloride] *Medicinskij vestnik Bashkortostana [Bashkortostan Medical journal]* 2016; 5(65): 93-95. (In Russ.)

7. Nozhkina N.N., Simonyan E.V., Sinitsky A.I., et al. Patent RUS № 2617238 C1. Sposob polucheniya lekarstvennogo sredstva s kislotoy yantarnoy i tsetilpiridiniy khloridom mestnogo deystviya. [Method for preparation of drug with amber acid and cetylpyridinium chloride with local action]. Available at: [https://www.elibrary.ru/download/elibrary\\_38263097\\_43306100.pdf](https://www.elibrary.ru/download/elibrary_38263097_43306100.pdf)

8. WHO web-site. [https:// who.int/ru/](https://who.int/ru/)

9. Abdelwahab N.S., Ali N.W., Abdelkawy M., Emam A.A. Validated RP-HPLC and TLC-Densitometric Methods for Analysis of Ternary Mixture of Cetylpyridinium Chloride, Chlorocresol and Lidocaine in Oral Antiseptic. *Formulation Journal of Chromatographic Science* 2016; 54(3): 318-325.

10. Belal T.S., Shaalan R.A., Haggag R.S. et al. Gradient HPLC-Diode Array Detector Stability-Indicating Determination of Lidocaine Hydrochloride and Cetylpyridinium Chloride in Two Combined Oral Gel Dosage Forms. *Journal of AOAC International* 2011; 94(2): 503-512.

11. Lian H. Z., Mao L., Ye X.L., Miao J. Simultaneous determination of oxalic, fumaric, maleic and succinic acids in tartaric and malic acids for pharmaceutical use by ion-suppression reversed-phase high performance liquid chromatography. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 1999; (19): 621-625.

12. Wang J., Lu J., Zhang L., Hu Y. Determination of cetylpyridinium chloride and tetracaine hydrochloride in buccal tablets by RP-HPLC. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis* 2003; (32): 381-386. doi: 10.1016/s0731-7085(03)00108-0