



УДК 615.31

**РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ МИРАМИСТИНА И ДИМЕДРОЛА В НОВЫХ
ПРОЛОНГИРОВАННЫХ ГЛАЗНЫХ КАПЛЯХ ДЛЯ ЛЕЧЕНИЯ БАКТЕРИАЛЬНЫХ КОНЪЮНКТИВИТОВ**
**THE DEVELOPMENT OF A METHODS FOR THE DETERMINATION OF MIRAMISTIN AND DIMEDROL IN THE NEW
PROLONGED EYE DROPS FOR TREATMENT OF BACTERIAL CONJUNCTIVITIS**

Е.Т. Жилиякова¹, А.А. Зинченко², О.О. Новиков¹, Н.Н. Попов¹
E.T. Zhilyakova¹, A.A. Zinchenko², O.O. Novikov¹, N.N. Popov¹

- ¹ Белгородский государственный национальный исследовательский университет
308015, г. Белгород, ул. Победы, д.85
¹ Belgorod National Research University
308015, Belgorod, Pobedy street, 85
- ² Украинский научный Фармакопейный центр качества лекарственных средств,
61085, г. Харьков, ул. Астрономическая, д.33
² Ukrainian Scientific Center Pharmacopoeia Drug Quality
61085, Kharkov, Astronomicheskaya street, 33

e-mail: popov.nikolay.2012@gmail.com
e-mail: Zinchenko@phukr.kharkov.ua

Резюме. В статье представлены результаты по разработке методики качественного и количественного определения мирамистина и димедрола в новых пролонгированных глазных каплях антимикробного действия. В основу методики положено использование метода высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ). Приведены условия хроматографирования, критерии пригодности хроматографической системы: эффективность хроматографической системы, рассчитанная по пику мирамистина, должна быть не менее 8000 теоретических тарелок; коэффициент разделения пиков мирамистина и димедрола – не менее 1.5; относительное стандартное отклонение площадей пиков мирамистина и димедрола, рассчитанное из хроматограмм испытуемого раствора и раствора сравнения мирамистина и димедрола. Предложенная методика позволяет качественно и количественно определить мирамистин и димедрол в пролонгированных глазных каплях в присутствии полимеров. Содержание мирамистина в 1 мл препарата должно быть от 0.085 до 0.115 мг; содержание димедрола – от 0.90 до 1.10 мг.

Summary. The article presents the results on the development of methods of qualitative and quantitative determination of miramistin and diphenhydramine in the new eye drops prolonged antimicrobial action. The methodology put method using high performance liquid chromatography (HPLC). The conditions of chromatography, system suitability criteria: efficiency of the chromatographic system, calculated from the peak miramistina shall be not less than 8000 theoretical plates; separation factor peaks of miramistin and diphenhydramine – not less than 1.5; the relative standard deviation of peak areas miramistin and diphenhydramine, that calculated from the chromatogram of the test solution and reference solution miramistin and diphenhydramine. The proposed methods makes it possible to qualitatively and quantitatively determine miramistin and diphenhydramine in prolonged eye drops in the presence of polymers. Contents of miramistin in 1 ml of the drug – from 0.085 to 0.115 mg; diphenhydramine content – 0.90 to 1.10 mg.

Ключевые слова: глазные капли, мирамистин, димедрол, высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ).

Key words: eye drops, miramistin, diphenhydramine, high performance liquid chromatography (HPLC).

Введение

В настоящее время инфекционные конъюнктивиты являются одной из серьезных проблем практической офтальмологии. Больные с этой патологией составляют до 50% пациентов, обращающихся за офтальмологической помощью [Майчук, 2005].

Лечение конъюнктивитов затруднено в силу длительного, упорного и рецидивирующего течения, опасности поражения роговицы и потери зрения. Существует огромное число лекарственных средств, применяемых в лечении конъюнктивитов в зависимости от многих условий: возбудителя заболевания, тяжести течения, клинической формы, склонности к лекарственной аллергии, наличия осложнений. Однако следует помнить, что неудачно выбранный препарат приводит не только к затяжному течению, но может стать причиной тяжелых осложнений вплоть до гибели глаза [Майчук, 2007].

Поэтому лечение глазных заболеваний инфекционной этиологии требует особо тщательного выбора не только лекарственного препарата, но и приемлемой лекарственной формы. В этой связи для расширения ассортимента глазных лекарственных препаратов антимикробного действия нами были разработаны состав и технология комбинированных пролонгированных глазных капель с мирамистином и димедролом [Новиков и др., 2013].

Мирамистин – антисептик широкого спектра бактерицидного действия – обладает активностью в отношении основных возбудителей бактериальных конъюнктивитов (*Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* и др.).

Преимущества мирамистина как антимикробного агента заключаются в механизме его действия. Мирамистин способствует увеличению проницаемости клеточной оболочки микроорганизмов с последующим их разрушением. Данное свойство позиционирует использование мирамистина в терапии бактериальных конъюнктивитов, где в настоящее время используются вещества, к которым возможно возникновение резистентности возбудителей инфекции [Кобзар и др., 2004].

Мирамистин (бензилдиметил [3-(миристоиламино)пропил] аммоний хлорид, моногидрат) – белый мелкокристаллический порошок без запаха, температура плавления – 177° С, растворим в воде, этаноле, хлороформе, катионное поверхностно-активное вещество с противомикробным действием [Биткова, 2004; Майчук, 2005]. Мирамистин относится к группе четвертичных аммониевых солей (рисунок 1).

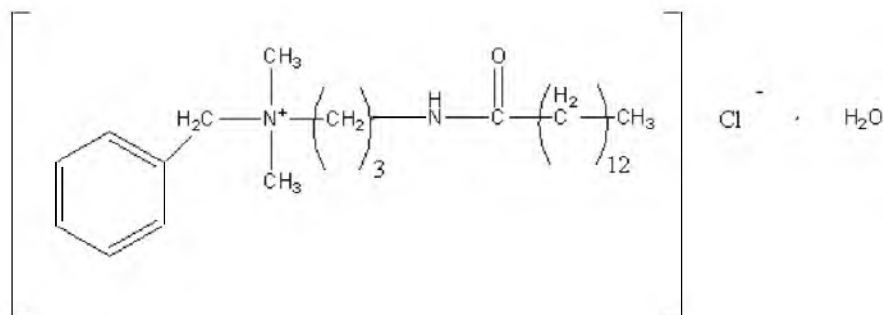


Рис. 1. Структурная формула мирамистина

Известен ряд методик качественного и количественного определения мирамистина в водных растворах и мазях.

Так, на водный раствор мирамистина 0.01% в качестве реакции на подлинность предложена качественная реакция мирамистина с калия хроматом, реакция на хлориды с кислотой азотной разведенной, УФ-спектроскопия в области от 240 нм до 280 нм в кювете с толщиной слоя 50 мм. Что касается использования прямого метода УФ-спектроскопии, его использование было признано нецелесообразным, т.к. для получения достоверных значений оптической плотности препарата в максимумах поглощения необходимо использовать кювету с толщиной слоя 50 мм. Однако, по мнению разработчиков методики, центры и контрольно-аналитические лаборатории в настоящее время не оснащены спектрофотометрами, в которых предусмотрена возможность применения указанных кювет, в результате чего препарат не будет контролироваться по данному показателю (ФСП 42-0414-2768-02). Однако, для разработанного нами препарата предлагаемые методики не могут быть использованы ввиду сложного состава лекарственного препарата.

В ФС 42-3255-95 описан способ определения концентрации мирамистина в водной среде путем титрования ртути окисной нитратом в присутствии индикатора дифенилкарбазона, в процессе титрования цвет изменяется от бесцветного до светло-фиолетового. В конечной точке титрования окраска определяется визуально. По мнению некоторых исследователей [Патент Method for determining concentration of C₂₆H₄₇ClN₂O in an aqueous medium, 2007] такой метод является неточным, так как в конечной точке титрования раствор в течение одной-двух минут густеет, что усложняет задачу определения интенсивности фиолетовой окраски.

Количественное определение изложено по Изменению №1 к ФС 42-3255-95 и представляет колориметрическое определение комплекса мирамистина с тропеолином 00 в хлороформе. Этот метод отработан в 1998 г. совместно с ГосНИИ по стандартизации и контролю лекарственных средств МЗ РФ.

Методика: в делительную воронку вместимостью 100 мл помещают 15 мл 0.01 М раствора кислоты хлористоводородной, 2,0 мл препарата, 0.5 мл водного раствора тропеолина 00, перемешивают, прибавляют 10 мл хлороформа и встряхивают в течение 2 мин. После разделения слоев хлороформный слой фильтруют в мерную колбу вместимостью 25 мл через бумажный фильтр с 1 г безводного натрия сульфата, предварительно смоченного хлороформом. Операцию повторяют с 10 и 4 мл хлороформа. Доводят объем раствора в колбе хлороформом до метки и перемешивают.

Измеряют оптическую плотность хлороформного извлечения на спектрофотометре в максимуме поглощения при длине волны 410 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения используют хлороформ. Параллельно измеряют оптическую плотность раствора РСО мирамистина. Затем по полученным данным проводят расчет мирамистина в анализируемом образце.

Существует методика количественного определения мирамистина, основанная на спектрофотометрическом его определении в водной среде при длине волны от 261 до 263 нм – в области максимального поглощения раствором мирамистина УФ-лучей. Авторами установлено, что при длине волны 262 нм оптическая плотность раствора мирамистина пропорциональная его концентрации в пределах от 0.1% до 0.01% [Патент РФ RU 2269774, 2004, Патент Method for determining concentration of C₂₆H₄₇ClN₂O in an aqueous medium, 2007]. Однако, данная методика может быть использована только для анализа мирамистина в водном растворе в отсутствие каких-либо других веществ. Полимеры, входящие в состав разработанных глазных капель обладают эмульгирующими свойствами. Использование такой методики экстракции хлороформом комплексов мирамистин-тропеолин 00 и димедрол-тропеолин 00 требуют центрифугирования после проведения экстракции, что также не позволяет достигнуть полного количественного определения действующих веществ в разработанных глазных каплях.

Как известно, для оценки содержания действующих веществ в пролонгированных глазных каплях необходимым условием являлся подбор оптимальных методов их качественного и количественного анализа. Однако существующие методики определения мирамистина в лекарственных препаратах не могут быть использованы для лекарственной формы, имеющей в своем составе вещества высокомолекулярной природы [Кобзар и др, 2004; Тыжигирова, Лапшина, 2011; Чернецкая и др., 2010].

На рисунке 2 представлена структурная формула димедрола (дифенгидрамина гидрохлорида).

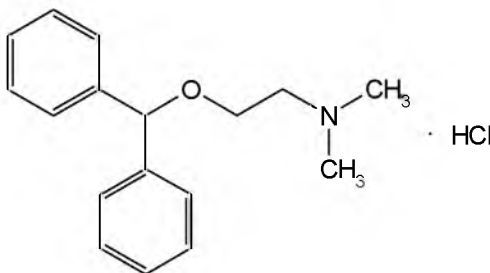


Рис. 2. Структурная формула димедрола

Для качественного и количественного определения димедрола в литературе описано достаточно много методик.

Являясь третичным амином, димедрол дает положительные реакции с не-которыми «общее-алкалоидными» и «специальными» реактивами: с реактивами Драгендорфа, Марки, Майера, Фреде, с пикриновой, фосфорновольфрамовой, кремневольфрамовой кислотами.

Под действием концентрированной серной кислоты дифенгидрамина гидрохлорид образует оксониевую соль, окраска которой из ярко-желтой постепенно переходит в коричневатую-красную. При добавлении воды окраска исчезает.

При добавлении к водному раствору дифенгидрамина гидрохлорида 0.1 М хлороводородной кислоты, 3%-ного раствора сульфата меди и 2%-ного раствора тиоцианата аммония появляется коричневый осадок.

Количественное определение дифенгидрамина гидрохлорида, подобно другим гидрохлоридам органических оснований, выполняют методом неводного титрования. Титруют 0.1 М раствором хлорной кислоты в среде уксусного ангидрида (индикатор кристаллический фиолетовый).

Алкалиметрическое определение дифенгидрамина гидрохлорида в водной среде основано на титровании связанной хлороводородной кислоты 0.1 М раствором гидроксида натрия. Титруют в присутствии эфира, который извлекает выделяющееся основание дифенгидрамина (индикатор фенолфталеин).

Дифенгидрамина гидрохлорид количественно можно определить экстракционно-титриметрическим методом с использованием в качестве титранта 0.01 М раствора лаурилсульфата натрия, а также экстракционно-фотометрическим методом на основе цветной реакции с тропеолином 001 и другими красителями [Беликов, 2003].

Известна экспрессная методика определения дифенгидрамина гидрохлорида методом жидкостной хроматографии. Для разделения используется хроматографическая колонка с октилсилильным сорбентом (125×4.0 мм). Подвижная фаза: 0.01 М дигидрофосфат калия и ацетонитрил в соотношении 63/37 (об/об) [Моисеев, 2011].



Некоторыми исследователями разработана фотометрическая методика определения дифенгидрамина гидрохлорида в капсулах Антигриппин-АНВИ, основанная на реакции лекарственного вещества с кислотным красителем бромтимоловым синим. Изучены оптимальные условия образования окрашенного комплекса и его спектральные характеристики [Тыжигирова, Лапшина, 2011].

Еще одним способом количественного определения дифенгидрамина (I) и сукцината доксиламина (II), являющихся активными ингредиентами в пероральных снотворных препаратах является на разделение I и II высокоэффективной тонкослойной хроматографией и определением их концентрации с помощью УФ-детектора при 254 нм. Метод отличается высокой чувствительностью и точностью и позволяет обнаруживать соответственно 97.9-113% I и 93.9-107% I и II при ошибке определения 0-0.26% и 0.38-1.59% [Che, 2012].

Некоторыми исследователями предложена методика определения пяти антигистаминных остатков в косметике с использованием сочетания твердофазной экстракции и высокоэффективной жидкостной хроматографии. Аналиты извлекали трихлоруксусной кислотой в ультразвуковом поле, очищали твердофазной экстракцией. Для разделения использована колонка C18 с подвижной фазой метанол – фосфатный буферный раствор. Пределы обнаружения в интервале 0.5-1.0 мг/л [DiGregorio, Sherma, 1999].

Однако, для разработанных глазных капель, имеющих в своем составе мирамистин и полимеры вышеперечисленные методики не являются применимыми, требуется разработка селективной методики определения действующих веществ лекарственной формы.

Таким образом, на сегодняшний день отсутствуют методики, позволяющие определить наличие и содержание мирамистина и димедрола в совместном присутствии в вязкой дисперсионной среде. Поэтому разработка методики качественного и количественного определения мирамистина и димедрола в разработанных глазных каплях является актуальной.

Цель исследования

Цель исследования – разработка методики качественного и количественного определения мирамистина и димедрола в совместном присутствии в пролонгированных глазных каплях антимикробного действия.

Материалы и методы исследования

В основе методики определения мирамистина и димедрола в новых пролонгированных глазных каплях антимикробного действия лежит использование метода высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

Методика разрабатывалась с использованием жидкостного блочного хроматографа модели LC-20 Prominace («Shimadzu», Япония) в комплекте двух насосов LC-20AD, автоматического инжектора SIL-20A, термостата колонок CTO-20A, спектрофотометрического детектора SPD-20AV. Навески стандартных образцов взвешивали на аналитических весах модели AUW220D (Shimadzu) с неопределенности взвешивания 0.03 мг. Растворы центрифугировали с использованием центрифуги Multi Centrifuge 300M.

Результаты исследования и их обсуждение

Приготовление испытуемого раствора:

5.0 мл (г) препарата помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят объем раствора подвижной фазой до метки и перемешивают. (20 мкг/мл, 200 мкг/мл).

Полученный раствор центрифугируют в течение 5 минут при 8000 об/мин. Прозрачный слой используют в качестве испытуемого раствора.

Приготовление раствора сравнения мирамистина и димедрола:

Около 20 мг (точная навеска) стандартного образца (СО) мирамистина и около 200 мг (точная навеска) СО димедрола помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в 80 мл воды, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. (0.4 и 4 мг/мл).

1.0 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 20 мл, доводят объем раствора подвижной фазой до метки и перемешивают.

По 20 мкл испытуемого раствора и раствора сравнения мирамистина и димедрола хроматографируют на жидкостном хроматографе с УФ спектрофотометрическим детектором в следующих условиях:

- колонка стальная, размером 4.0 мм x 250 мм, заполненная сорбентом Spherisorb CN, 5 мкм;
- подвижная фаза – фосфатный буферный раствор pH 2.5 – метанол (10:90);
- скорость подвижной фазы – 1.0 мл/мин;
- температура колонки – 40 С;
- длина волны регистрации – 262 нм.

Методика определения подлинности мирамистина и димедрола в разрабатываемых глазных каплях антимикробного действия: на хроматограммах испытуемого раствора значения времени удерживания основных пиков должны совпадать со значениями времени удерживания пиков мирамистина и димедрола на хроматограммах сравнения мирамистина и димедрола.

Методика количественного определения мирамистина и димедрола в разрабатываемых глазных каплях антимикробного действия: содержание мирамистина или димедрола (X_i), в миллиграммах, в 1 мл препарата, рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{S_i \times m_{oi} \times 25 \times 1 \times P}{S_{oi} \times 5 \times 100 \times 20 \times 100} = \frac{S_i \times m_{oi} \times P}{S_{oi} \times 400 \times 100},$$

где S_i – среднее значение площадей пиков мирамистина или димедрола, рассчитанное из хроматограмм испытуемого раствора;

S_{oi} – среднее значение площадей пиков мирамистина или димедрола, рассчитанное из хроматограмм раствора сравнения мирамистина и димедрола;

m_{oi} – масса навески СО мирамистина или димедрола, в миллиграммах;

P – содержание основного вещества в СО мирамистина или димедрола, в процентах.

Содержание мирамистина в 1 мл препарата должно быть от 0.085 до 0.115 мг; содержание димедрола – от 0.90 до 1.10 мг.

На рисунке 3 представлена хроматограмма испытуемого раствора мирамистина и димедрола.

В качестве критериев пригодности хроматографической системы, выбраны:

- эффективность хроматографической системы, рассчитанная по пику мирамистина, должна быть не менее 8000 теоретических тарелок;
- коэффициент разделения пиков мирамистина и димедрола – не менее 1.5;
- относительное стандартное отклонение площадей пиков мирамистина и димедрола, рассчитанное из хроматограмм испытуемого раствора и раствора сравнения мирамистина и димедрола.

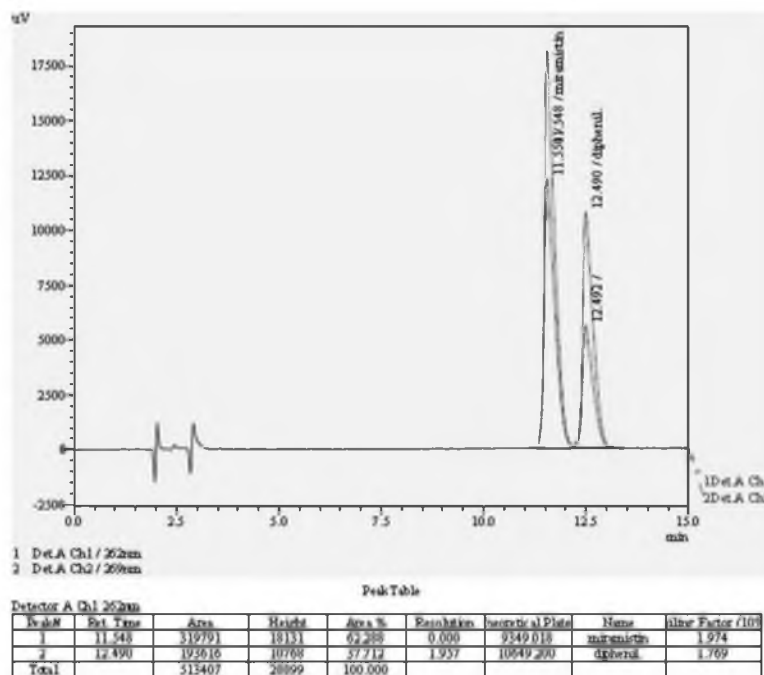


Рис. 3. Хроматограмма испытуемого раствора мирамистина и димедрола

Таким образом, разработанная методика отвечает необходимым критериям пригодности хроматографической системы и, следовательно, может быть использована для качественного и количественного анализа содержания мирамистина и димедрола в новых пролонгированных глазных каплях антимикробного действия.

Заключение

Разработана методика количественного определения мирамистина и димедрола методом ВЭЖХ с использованием хроматографических колонок заполненных сорбентом с привитыми нит-



рильными группами. Предложенная методика позволяет качественно и количественно определить мирамистин и димедрол в пролонгированных глазных каплях в присутствии полимеров. Содержание мирамистина в 1 мл препарата должно быть от 0.085 до 0.115 мг; содержание димедрола – от 0.90 до 1.10 мг.

Литература

Биткова Е. Е., Скала Л. З., Михайлова Н.Н., Хватов В.Б., Кириченко И. М. 2004. Кинетика роста условно-патогенных микроорганизмов. Мирамистин. Сборник трудов. Под ред. Ю. С. Кривошеина. М., Медицинское информационное агентство, 62-65.

Беликов В.Г. 2003. Фармацевтическая химия. В 2 ч.: Ч.1. Общая фармацевтическая химия; Ч. 2. Специальная фармацевтическая химия: Учеб. для вузов. Пятигорск, 720.

Кобзар Г.Л., Болотов В.В., Зареченский М.А. 2004. Розробка та дослідження твердоконтактного мірамистинселективного електроду. Журнал органічної та фармацевтичної хімії. Т. 2, 2(6):67-70.

Майчук Ю.Ф. 2005. Алгоритмы терапии бактериальных конъюнктивитов и кератитов. Справочник поликлинического врача, 4:73-76.

Майчук Ю.Ф. 2007. Фармакотерапия конъюнктивитов: выбор большой. Российские аптеки, 1:28-30.

Мирамистин: сб. материалов под ред. Ю.С. Кривошеина. 2001. М.: Инфамед, 87.

Моисеев Д.В., Куликов В.А., Моисеева А.М., Яранцева Н.Д. 2011. Определение дифенгидрамина гидрохлорида в таблетках методом жидкостной хроматографии. Вестник фармации, 4(54):55-58.

Новиков О.О., Жилиякова Е.Т., Попов Н.Н. 2013. Разработка состава и технологии пролонгированных комбинированных глазных капель антимикробного действия. Современные проблемы науки и образования, 6. Электронный ресурс. URL: www.science-education.ru/113-10813 (22 января 2015).

Патент Method for determining concentration of C₂₆H₄₇ClN₂O in an aqueous medium. WIPO Patent Application WO/2007/075101.

Способ определения концентрации C₂₆H₄₇ClN₂O (мирамистина) в водной среде. Патент РФ RU 2269774 С2; заявка 2004106127/15, 03.03.2004.

Тыжигирова В.В., Лапшина М.П. 2011. Фотометрическое определение дифенгидрамина гидрохлорида в лекарственном препарате Антигриппин-АНВИ. Сибирский медицинский журнал, 7(106):73-75.

Чернецкая Ю.Г., Белковская Ю.Г., Трухачева Т.В., Жебентяев А.И., Петров П.Т. 2010. Разработка и валидация методики определения мирамистина в гидрогелевых полимерных матрицах с использованием высокоэффективной жидкостной хроматографии. Вестник Фармации, 3(49):67-77.

Che W. 2012. Определение пяти антигистаминных остатков в косметике с использованием сочетания твердофазной экстракции и высокоэффективной жидкостной хроматографии. Fenxi ceshi xuebao, 8(33):1005-1008.

Donna DiGregorio, Joseph Sherma. 1999. Determination of the sleep aid ingredients diphenhydramine hydrochloride and doxylamine succinate in pharmaceutical products by quantitative HPTLC. J. Liq. Chromatogr. and Relat. Technol, 10(22):1599-1606.

Literature

Bitkova E. E., Skala L. Z., Mikhaylova N.N., Khvatov V.B., Kirichenko I. M. 2004. Kinetika rosta uslovno-patogennykh mikroorganizmov. Miramistin. Sbornik trudov [Kinetics of growth opportunistic pathogens. Miramistin. Proceedings]. Ed. Yu.S. Krivoshein. M. Medical News Agency, 62-65. (in Russian)

Belikov V.G. 2003. Farmatsevticheskaya khimiya. V 2 ch.: Ch.1. Obshchaya farmatsevticheskaya khimiya; Ch.2. Spetsial'naya farmatsevticheskaya khimiya: Ucheb. dlya vuzov [Pharmaceutical chemistry. The 2 parts.: Part 1. General Pharmaceutical Chemistry; Part 2: Special Pharmaceutical Chemistry: Textbook for universities.]. Pyatigorsk, 720. (in Russian)

Kobzar G.L., Bolotov V.V., Zarechens'kiy M.A. 2004. Rozrobka ta doslidzhennya tverdokontaktnogo miramistinselektivnogo elektrodu. Zhurnal organichnoï ta farmatsevtichnoï khimii [Research and development solid contact miramistin selective electrode. Journal of Organic and Pharmaceutical Chemistry]. Т. 2, 2(6):67-70. (in Ukrainian)

Maychuk Yu.F. 2005. Algoritmy terapii bakterial'nykh kon'yunktivitoŭ i keratitov. Spravochnik poliklinicheskogo vracha [Algorithms for treatment of bacterial conjunctivitis and keratitis. Directory of outpatient physician], 4:73-76. (in Russian)

Maychuk Yu.F. 2007. Farmakoterapiya kon'yunktivitoŭ: vybor bol'shoy. Rossiyskie apteki [Pharmacotherapy conjunctivitis: choice big. Russian Pharmacies]. 1:28-30. (in Russian)

Miramistin: sb. materialov pod red. Yu.S. Krivosheina 2001 [Miramistin: collection of materials ed. Yu.S. Krivoshein]. М.: Infamed, 87. (in Russian)



Moiseev D.V., Kulikov V.A., Moiseeva A.M., Yarantseva N.D. 2011. Opredelenie difengidramina gidrokhlorida v tabletkakh metodom zhidkostnoy khromatografii. Vestnik farmatsii [Determination of diphenhydramine hydrochloride tablets by liquid chromatography. Journal of Pharmacy], 4(54):55-58. (in Russian)

Novikov O.O., Zhilyakova E.T., Popov N.N. 2013. Razrabotka sostava i tekhnologii prolongirovannykh kombinirovannykh glaznykh kapel' antimikrobnogo deystviya. Sovremennyye problemy nauki i obrazovaniya, 6 [Development of technology and composition of combined prolonged eye drops antimicrobial action. Modern problems of science and education]. Available at: www.science-education.ru/113-10813 (22 January 2015). (in Russian)

Patent Method for determining concentration of C₂₆H₄₇ClN₂O in an aqueous medium. WIPO Patent Application WO/2007/075101. (in Russian)

Sposob opredeleniya kontsentratsii C₂₆H₄₇ClN₂O (miramistina) v vodnoy srede [A method for determining the concentration C₂₆H₄₇ClN₂O (miramistin) in an aqueous medium]. Russian patent RU 2269774 C2; Application 2004106127/15, 03.03.2004. (in Russian)

Tyzhigirova V.V., Lapshina M.P. 2011. Fotometricheskoe opredelenie difengidramina gidrokhlorida v lekarstvennom preparate Antigrippin-ANVI. Sibirskiy meditsinskiy zhurnal [Photometric determination of diphenhydramine hydrochloride in the drug Antigrippin-ANVI. Siberian Medical Journal], 7(106):73-75. (in Russian)

Chernetskaya Yu.G., Belkovskaya Yu.G., Trukhacheva T.V., Zhebentyaev A.I., Petrov P.T. 2010. Razrabotka i validatsiya metodiki opredeleniya miramistina v gidrogelevykh polimernykh matritsakh s ispol'zovaniem vysokoeffektivnoy zhidkostnoy khromatografii. Vestnik Farmatsii [Development and validation of methods for determining of miramistin in hydrogel polymer matrices using high performance liquid chromatography. Journal of Pharmacy], 3(49):67-77. (in Russian)

Che W. 2012. Opredelenie pyati antigistaminnykh ostatkov v kosmetike s ispol'zovaniem sochetaniya tverdogaznoy ekstraktsii i vysokoeffektivnoy zhidkostnoy khromatografii [Determination of five antihistamine residues in cosmetics using a combination of solid phase extraction and HPLC]. Fenxi ceshi xuebao, 8(33):1005-1008. (in Russian)

Donna DiGregorio, Joseph Sherma. 1999. Determination of the sleep aid ingredients diphenhydramine hydrochloride and doxylamine succinate in pharmaceutical products by quantitative HPTLC. J. Liq. Chromatogr. and Relat. Technol, 10(22):1599-1606.