



FARMATSEVTIKA JURNALI
ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ
ЖУРНАЛ

Фармацевтическому журналу – 25 лет!



1

2017

4. Темердиев А.З., Киселёва И.А. ГХ-МС и ВЭЖХ-МС определение некоторых наркотических средств природного и синтетического происхождения – производных N- алкил-3 индолкетонов, α-аминоарилкетонов, η-аминобензойных кислот, каннабиноидов и тропановых алкалоидов // Аналитика и контроль. 2012. Т. 16. №3. С. 240 – 247.

5. Recommended Methods for the Identification and Analysis of Cannabis and Cannabis Products NY: UN, 2009. 60 p.

6. Determination of cannabinoids in cannabis products using liquid chromatography-ion trap mass spectrometry / A.A.Stolker et al // J. Chromatogr. A. 2004. V. 1038. P. 143 -151.

F.S. Jalilov, L.T. Pulatova, F.A. Hakimova, Sh.S. Tashmukhamedova, T.X. Erova, S.Mingbayeva

APPLICATION OF THE CHROMATOGRAPHIC METHODS IN DEVELOPMENT OF AN INTEGRATED APPROACH OF DETECTION SYNTHETIC KANNABINOID DRUGS - "SPICES"

The markers allowing to establish the fact of existence in vegetable mixes the kannabinoid drugs - "spices" of NM-2201, 5F-PB-22, AB-Chminaca are given. Gaz chromatographic and mass-spectrometer characteristics of markers of new synthetic "spices" which can be useful in practice of the judicial and chemical and chemical and toxicological analysis are provided.

Key words: kannabinoid, spices, chromatography, examination.

Ф.С. Жалилов, Л.Т. Пулатова, Ф.А. Хакимова, Ш.С. Ташмухамедова, Т.Х. Эрова, С. Мингбаева

СИНТЕТИК КАННАБИНОИД НАРКОТИКЛАР – СПАЙСЛАРНИ АНИҚЛАШГА МАЖМУАВИЙ ЁНДАШУВНИ ИШЛАБ ЧИҚИШДА ХРОМАТОГРАФИЯ УСУЛЛАРИДАН ФОЙДАЛАНИШ

Ўсимлик аралашмалари таркибида NM-2201, 5F-PB-22, AB-Chminaca каннабиноид наркотиклар – спайсларнинг мавжудлигини тасдиқлаш имконини берувчи маркерлар келтирилган. Суд-кимёвий ва кимёвий-токсикологик таҳлил амалиётида қўллаш мумкин бўлган янги синтетик "спайслар"нинг маркерларининг газхроматографик ва масс-спектрометрик тавсифи ёритилган.

Тягич иборалар: каннабиноидлар, спайслар, хроматография, экспертиза.

Тошкент фармацевтика институти
Олий божхона институти
ИИБ эксперт криминалистика маркази

18.02.2017 й.
қабул қилинди

УДК 615.07

Д.Т.Гаибназарова, Д.Б.Касимова

ВАЛИДАЦИЯ МЕТОДИКИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ АЗИТРОМИЦИНА В СУБСТАНЦИИ МЕТОДОМ ВЭЖХ

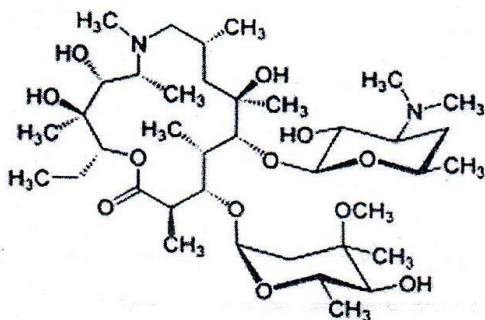
Проведена валидация ВЭЖХ методики количественного определения азитромицина в субстанции по показателям: сходимость, правильность, промежуточная прецизионность, определение микроколичеств которого является важным для оценки фармакологического действия и эффективности антибактериальной терапии, идентификации действующих веществ в лекарственных формах.

Ключевые слова: азитромицин, валидация, ВЭЖХ, прецизионность, сходимость, правильность.

Макролиды, стоящие на пороге пятидесятилетия своего создания, продолжают оставаться одним из наиболее часто используемых классов антибактериальных препаратов [1,2]. Это во многом связано с внедрением в клиническую практику новых макролидов, среди которых особое место занимает азитромицин, составляющий субкласс так называемых азалидов. Азитромицин является полусинтетическим ан-

тибиотиком, первым представителем подкласса азалидов, несколько отличающихся по структуре от классических макролидов. Азитромицин синтезирован из молекулы эритромицина А путем введения метилированного азота в положение 9а лактонного кольца. Созданное таким образом 15-членное кольцо обладает принципиально другими характеристиками по сравнению с исходной молекулой, что обуславливает отли-

чие в фармакокинетике препарата, антибактериальной активности, переносимости и лекарственном взаимодействии [3,4].



Данная структурная перестройка обуславливает значительное повышение кислотоустойчивости препарата в 300 раз по сравнению с эритромицином. Антибактериальное средство широкого спектра действия, азалид, действует бактериостатически, в высоких концентрациях оказывает бактерицидный эффект. Действует на вне- и внутриклеточных возбудителей. Неактивен в отношении грамположительных бактерий, устойчивых к эритромицину. Все макролидные антибиотики нового поколения хорошо распределяются в организме, проникая во многие органы, ткани и среды. Достоинством азитромицина является также способность создавать очень высокие и стабильные концентрации в тканях. В настоящее время имеется сравнительно небольшое число работ по определению азитромицина. Разработана и валидирована методика количественного определения субстанции азитромицина методом поляриметрии (5). Известен метод микробиологического количественного определения, а также хроматографические методы анализа (тонкослойная хроматография (ТСХ), высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) препарата. Имеются также ограниченные сведения о применении электрохимических методов, в том числе и вольтамперометрических для определения азитромицина.

Из выше указанных методов анализа достаточно точным, ёмким, то есть позволяющим анализировать лекарственное вещество одновременно по нескольким показателям качества, таких как подлинность, сопутствующие вещества, количественное содержание, а также легко воспроизводимым и современным на наш взгляд является метод ВЭЖХ.

И поэтому, целью исследований явилось валидация ВЭЖХ методики количественного определения азитромицина в субстанции, в целях рекомендации её для анализа вещества в микроколичествах не только в субстанции, но и во многокомпонентных лекарственных формах, а также приравнения методики анализа к евро-стандартам.

Экспериментальная часть.

Анализ проводили на ВЭЖХ хроматографе, оснащённом «Agilent technologies infinity 1260» насосом, электрохимическим детектором жидкостном хроматографе «Agilent1260» (США), оснащённым вакуумным дегазатором, градиентным насосом, автосамплером и термостатом колонок. При приготовлении пробы использовались вакуумный концентратор DNA mini (Австрия) и картриджи для твердофазной экстракции AccuBond II ODS-C18, 100 мг, производства «Agilent» (США). В работе использовали следующие реактивы: ацетонитрил («Sigma-aldrich»), муравьиная кислота (Merck), ацетат аммония и ацетат натрия (Merck). Хроматографическое разделение осуществляли на колонке Eclipse XDB-C18, 5 мкм, 4,6x250 мм (США) при температуре 70°C. Элюирование проводили в изократическом режиме. Состав подвижной фазы: ацетонитрил - 0,1 М ацетат аммония - 0,002 М ацетат натрия (60:20:20, об/об). Скорость потока 0,7 мл/мин. Подлинность азитромицина устанавливали по времени удерживания. Результаты приведены в табл.1 и рис.1.

Таблица 1
Хроматографические характеристики метода ВЭЖХ анализа азитромицина в субстанции

Параметр	Значение
Время удерживания, мин	4,612
Коэффициент емкости	1,33
Число теоретических тарелок	4043
Степень извлечения, %	96,31-96,36

Ниже приводятся приготовление растворов, используемых для анализа азитромицина методом ВЭЖХ.

Приготовление 0,02 М раствора фосфатного буфера: 2,72 г двузамещённого ортофосфата калия растворяли в очищенной воде и доводили объём раствора до 1000 мл очищенной водой, тщательно перемешивали.

Приготовление мобильной фазы: Смешива-

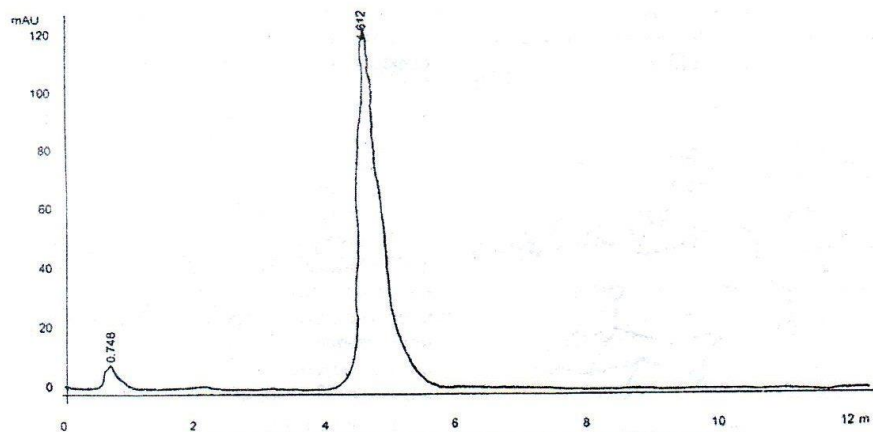


Рис 1. Хроматограмма азитромицина в субстанции

ли буферный раствор с ацетонитрилом в отношении 73:27, рН раствора довели до 11,0 с помощью раствора гидроксида калия. Полученный раствор фильтровали и дегазировали.

Приготовление базового стандартного раствора: В мерную колбу вместимостью 100 мл вносили около 16,5 мг (точная навеска) стандартного образца азитромицина, растворяли в 10 мл ацетонитрила, довели объем раствора до метки тем же растворителем, тщательно перемешивали.

Приготовление стандартного раствора: 2 мл базового стандартного раствора переносили в мерную колбу вместимостью 100 мл и довели объем раствора до метки мобильной фазой, перемешивали.

Приготовление испытуемого раствора для количественного определения азитромицина в субстанции: В мерную колбу вместимостью 100 мл вносили около 16,5 мг (точная навеска) испытуемой субстанции азитромицина, растворяли в 10 мл ацетонитрила, довели объем раствора до метки тем же растворителем, тщательно перемешивали; 2 мл полученного раствора переносили в мерную колбу вместимостью 100 мл, довели объем раствора до метки мобильной фазой и перемешивали.

Проведено определение количественного содержания действующего вещества в субстанции азитромицина. Расчет концентрации азитромицина в субстанции проводили по отношению оптической плотности ГСО азитромицина. Раствор ГСО азитромицина готовили аналогично приготовлению испытуемого раствора. На основании

полученных данных проведена валидация методики количественного определения субстанции азитромицина по параметрам: специфичность, правильность, внутрилабораторная и промежуточная прецизионность. Руководствуясь принципом параллельного определения валидационных характеристик, сходимость, правильность и внутрилабораторная прецизионность методики оценивали одновременно для пяти модельных образцов азитромицина.

Сходимость и правильность методики определяли по рассчитанным значениям среднего, стандартного отклонения, интервала неопределенности и систематической погрешности. Результаты приведены в таблицах 2 - 4.

Сходимость (промежуточная прецизионность) показана при помощи испытаний не менее 5 подготовленных проб при 100% концентрации действующего вещества в исследуемом растворе не менее 9 по 3 повтора. Оценка и расчет результатов проводили путём вычисления среднего значения, стандартного отклонения, КВ и доверительного интервала. Результаты приведены в табл. 2.

Правильность определяли методом добавок. Для этого проводили 9 испытаний с 3 концентрациями в определённом диапазоне применения методики. Оценку правильности методики проводили путём расчёта процента нахождения известного добавленного количества действующего вещества, стандартного отклонения, коэффициента вариации (КВ) и доверительного интервала среднего значения ($P=95\%$). Результаты приведены в табл.3.

С помощью *промежуточной прецизионности* показано, что аналитическая методика обеспечивает получение согласующихся результатов независимо от изменений от внешних обстоятельств при условии однородности пробы. При проведении валидации следует учесть все определенные ситуации для данной лаборатории. Типичными переменными, обуславливающими внутрилабораторную вариабельность, явились сотрудники, день проведения испытания. Исследования *внутрилабораторной прецизионности* проводили на 5 пробах раствора исследуемой субстанции азитромицина. Анализ проводился для каждой пробы в разные

дни, разными аналитиками, с использованием разной мерной посуды. Оценка проводилась путём расчёта средних значений, стандартных отклонений, КВ и доверительных интервалов для среднего значения. Как видно из табл., имеются различия между средними значениями и стандартными отклонениями для 1 и 2 сотрудников, что является случайным. Результаты приведены в табл.4.

Методика анализа азитромицина в субстанции методом ВЭЖХ показала, что при проведении анализов в одинаковых условиях обеспечивает получение сравнимых достоверных результатов.

Таблица 2

Результаты ВЭЖХ анализа азитромицина в субстанции (внутрилабораторная прецизионность или сходимость)

№	Дата анализа	Площадь пика, мм ²	Количественное содержание, %
1	20.12.2015	2989,38525	96,3630
2	21.12.2015	2946,81250	96,3100
3	10.01.2016	2989,38525	96,3629
4	20.03.2016	2946,81250	96,3100
5	15.04.2016	2989,38525	96,3631

Статистическая характеристика, %	Результаты
Наименьшее значение	96,3100
Наибольшее значение	96,3630
Среднее значение	96,3418
Стандартное отклонение	0,01165
Коэффициент вариации (КВ)	0,0007
Доверительный интервал (P = 95%)	95

Таблица 3

Результаты ВЭЖХ анализа азитромицина в субстанции (правильность)

№	Навеска азитромицина, г	Найденное количество азитромицина, г	Отклик, %
1	0,0165	0,015899	96,35
2	0,0165	0,015891	96,31
3	0,0165	0,015899	96,35
4	0,0165	0,015891	96,31
5	0,0165	0,015899	96,35
6	0,0165	0,015899	96,35
7	0,0165	0,015891	96,31
8	0,0165	0,015899	96,35
9	0,0165	0,015891	96,31

Таблица 4

Результаты ВЭЖХ анализа азитромицина в субстанции (промежуточная прецизионность)

Обозначение	Сотрудник 1			Сотрудник 2		
	Навеска ЛВ, г	Площадь пика	Найденное кол-во, %	Навеска ЛВ, г	Площадь пика	Найденное кол-во, %
VP-1	0,0165	2989,38525	96,3630	0,0165	2989,38525	96,3630
VP-2	0,0165	2946, 81250	96,3100	0,0165	2946, 81250	96,3100
VP-3	0,0165	2989,38525	96,3631	0,0165	2989,38525	96,3631
VP-4	0,0165	2946, 81250	96,3100	0,0165	2946, 81250	96,3100
VP-5	0,0165	2989,38525	96,3629	0,0165	2989,38525	96,3629
VP-6	0,0165	2989,38525	96,3630	0,0165	2989,38525	96,3630

Статистическая характеристика, %	Результаты
Наименьшее значение, %	96,3100
Наибольшее значение, %	96,3630
Среднее значение, %	96,3418
Стандартное отклонение	0,01165
Коэффициент вариации (КВ)	0,0007
Доверительный интервал (P=95 %)	95
F (5%; 5; 5) = 5,05	Контрольное значение PGt 1,25
t (5% ; 10) = 2,28	Контрольное значение PGt 0,58

Заключение:

Проведена валидационная оценка методики ВЭЖХ анализа азитромицина в субстанции по таким параметрам, как правильность, сходимость, промежуточная прецизионность. По результатам внутрилабораторного эксперимента было установлено, что метрологические харак-

теристики таких валидационных параметров методики, как правильность, сходимость и внутрилабораторная прецизионность не превышают валидационные критерии. Методика может быть воспроизведена в условиях лаборатории, при доверительной вероятности 95%, отклонение единичного значения составляет $96,34 \pm 0,02\%$.

Литература:

1. Белобородова Н.В. «Оптимизация антибактериальной терапии в педиатрии: современные тенденции.» // Рус мед журн. - 1997; - № 5 - С.1597-1601.
2. Страчунский Л.С., Козлов С.Н. Клиническая фармакология макролидов. Рус мед журн 1997; 5: 21: 1392-1403.
3. Vanuffel H., Cocito C. «Mechanism of action of streptogramins and macrolides.» // Drugs- 1996; 51: (Suppl 1)-С. 20-30.
4. Leclerg R., Couvvalin P. «Resistance to macrolides, azalodes, and streptogramins.» New Macrolides, Azalides, and Streptogramins in Clinical Practice. H.C. Neu, L.S. Young, S.H. Zinner, J.F. Acar (Eds.). New York, etc. 1995 С. 31-40.

Д.Т. Gaibnazarova , D.B.Kasimova

VALIDATION OF QUANTITATIVE DETERMINATION METHOD OF AZITHROMYCINE IN SUBSTANCE BY HPLC METHOD

It has been carried out validation of HPLC method of quantitative determination of azithromycin in substance according to the following parameters: compatibility, correctness, intermediate affectation, determination of microquantities of which is important for evaluation of pharmacological action and effectiveness of anti-bacterial therapy, identification of active substances in medicinal forms and also its metabolites in biological matrices and for provision with high quality preparations the population with beforehand guaranteed quality.

Key words: azithromycin, validation, HPLC, compatibility, correctness, intermediate affectation.

Д.Т.Гаибназарова, Д.Б.Касимова

**АЗИТРОМИЦИННИ СУБСТАНЦИЯДА ЮССХ УСУЛИДА
МИҚДОРИЙ ТАҲЛИЛИ УСЛУБИНИНГ ВАЛИДАЦИЯСИ**

Азитромицин дори моддасини ЮССХ миқдорий таҳлил услуги такрорланувчанлик, тўғрилиқ, қайтарилувчанлик каби кўрсаткичлар асосида валидация қилинди. Олинган қийматларга асосланиб, валидацияланган таҳлил услубини дори моддасининг микромиқдорини унинг фармакологик ва антибактериал фаоллигини баҳолаш, унинг дори шакллари ва биологик матрицалардаги метаболитларни аниқлаш, сифати кафолатланган ва жаҳон стандартларига мос келадиган юқори сифатли дори препаратлари билан аҳолини таъминлаш учун қўллаш тавсия этилади.

Таянч иборалар: азитромицин, валидация, ЮССХ, прецизионлик, такрорланувчанлик, тўғрилиқ.

Тошкент фармацевтика
институту

21.02.2017 й.
кабул қилинди

СОДЕРЖАНИЕ
ФАРМАЦЕВТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ
№ 1, 2017 г

Организация фармацевтического дела

- З.У. Маматқулов, Ш.Ф. Искандарова. Анализ ассортимента биологически активных добавок, зарегистрированных в Республике Узбекистан3
Ш.З. Умарова, Х.В. Таиров. Анализ основных средств аптечных учреждений8

Лекарственные растения

- Н.Т. Фарманова, Ф.Ф. Урманова. Диуретические средства растительного происхождения в современной фармакотерапии11
М.А. Ходжаева, Г.З. Хайдарова. Содержание токсичных тяжелых металлов и остаточного количества пестицидов в ягодах бузины черной17
Г.К. Рахимова. Определение остаточного содержания пестицидов и радионуклидов в траве иван-чая узколистного и сборе «Трибулепил»21

Фармацевтическая химия

- Р.А. Хусаинова, К.А. Убайдуллаев, С.Х. Кариев, Н.М. Ризаева. Валидация методики определения остаточного количества триэтиламина в препарате «Интралин»24
Н.А. Юнусходжаева, Қ.А. Убайдуллаев. Разработка и валидация методики количественного определения суммы флавоноидов жидкого экстракта «Гемостат»29
А.К. Саидвалиев, Ш.Х. Мухитдинов, Д.А. Юсупова. Определение биологически активных веществ в плодах ежевики – *Rubus caesius L.*33
Ф.С. Жалилов, Л.Т. Пулатова, Ф.А. Хакимова, Ш.С. Ташмухамедова, Т.Х. Эрова, С. Мингбаева. Применение хроматографических методов в разработке комплексного подхода обнаружения синтетических каннабиноидных наркотиков - «спайсов»37
Д.Т. Гаибназарова, Д.Б. Касимова. Валидация методики количественного определения азитромицина в субстанции методом ВЭЖХ42

Фармацевтическая технология

- Н.Б. Илхамова, Х.К. Джалилов. Фармакотехнологические аспекты рекомендуемых таблеток противовоспалительного и антигистаминного действия48
Н.Б. Илхамова, Х.К. Джалилов, Х.М. Юнусова. Исследование в области разработки технологии быстрорастворимых комбинированных таблеток отхаркивающего и муколитического действия53
З.Д. Бобоев, С.А. Фазлиев, А.Т. Шарипов, С.Н. Аминов, А.А. Холмұминов. Реологическое исследование серного геля58
Н.Б. Шодиева, Х.М. Юнусова. Исследование в области разработки капсул, рекомендуемых для детей, «Пирац» и «Стигер-S»62
Р.К. Умарова, В.Р. Хайдаров, Х.М. Комилов. Разработка состава и технологии капсулированной лекарственной формы из сухого экстракта на основе якорцев стелющихся67
К.Р. Хаджиметова, Ё.С. Кариева, Ф.Х. Максудова. Изучение реологических свойств геля декспантенола71
М.А. Ким, З.А. Назарова, Т.Ф. Ибрагимов. Разработка технологии гомеопатических таблеток, применяемых при лечении неврозов75
Ш.Ж. Дустмуродова, Н.М. Ризаева, Н.С. Файзуллаева. Разработка технологии и изучение местно-раздражающего действия мази для выведения бородавок79
Ш.Т. Арипов, Х.К. Бекчанов, Х.С. Зайнутдинов. Разработка состава и технологии таблеток Проксимин-RG методом математического планирования эксперимента83