

Южно-Уральские научные чтения

*Материалы
II Международной
научно-практической
конференции*

г. Уфа
15-16 июля 2016 г.

УДК 615.072

Касимова Д.Б.,
студент 4 курса факультета фармации
Ташкентского фармацевтического института
Гаибназарова Д.Т.,
научный руководитель, доцент
кафедры фармацевтической химии
Ташкентского фармацевтического института,
г. Ташкент, Республика Узбекистан

ВАЛИДАЦИЯ МЕТОДИКИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ АЗИТРОМИЦИНА В СУБСТАНЦИИ МЕТОДОМ ВЭЖХ

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 антибиотиком, 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 отличие в фармакокинетике препарата, антибактериальной активности, переносимости и лекарственном взаимодействии (3,4). Данная структурная перестройка обуславливает значительное повышение кислотоустойчивости препарата в 300 раз по сравнению 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 способность создавать очень высокие и стабильные концентрации в тканях.

Целью исследований явилось сравнительная оценка методов количественного определения азитромицина, определение макроколичеств которого является важным для оценки фармакологического действия и эффективности антибактериальной терапии, идентификации действующих веществ в лекарственных формах, а также его метаболитов в биологических матрицах. В настоящее время имеется сравнительно небольшое число работ

по определению азитромицина. Разработана и валидирована методика количественного определения субстанции азитромицина методом поляриметрии. 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. Наиболее близким является метод циклической вольтамперометрии (ЦВА), используемый для детектирования антибиотика после предварительного его выделения из пробы методом ВЭЖХ.

Экспериментальная часть.

Анализ проводили на жидкостном хроматографе «Agilent 1100» (США), оснащенным вакуумным дегазатором, градиентным насосом, автосамплером и термостатом колонок, а также масс-спектрометрическим детектором «Agilent 1100VL» (США) с ионизацией при атмосферном давлении в электроспрее (API-ES). 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 1-го сорта («Криохром», Санкт-Петербург), муравьиная кислота (Merck), ацетат аммония и ацетат натрия (Merck). Хроматографическое разделение осуществляли на колонке Eclipse SB-C18, 5 мкм, 4,6 x 150 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. в табл. 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

Проведено определение количественного содержания действующего вещества в субстанции азитромицина. Проведена валидация методик количественного определения субстанции азитромицина по параметрам: специфичность, правильность, сходимость, линейность и внутрिलाбораторная прецизионность. Результаты приведены в таблицах 3, 4, 5.

Таблица 2.

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

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

№	Уровень концентрации (%) и обозначение пробы	Навеска азитромицина	Найденное количество азитромицина	Отклик, %
1	Азитромицин	0,0165	0,015899	96,35
2	Азитромицин	0,0165	0,015891	96,31
3	Азитромицин	0,0165	0,015899	96,35
4	Азитромицин	0,0165	0,015891	96,31
5	Азитромицин	0,0165	0,015899	96,35

Таблица 4.

Результаты ВЭЖХ анализа азитромицина в субстанции (линейность)

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

Таблица 5.

**Результаты ВЭЖХ анализа азитромицина в субстанции
(промежуточная прецизионность)**

Обозначение	Сотрудник 1			Сотрудник 2		
	Навеска ЛВ	Площадь пика	Найденное количество	Навеска ЛВ	Площадь пика	Найденное количество
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

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 специфичность, линейность, правильность, сходимость, внутрилабораторная точность, промежуточная прецизионность.

Список использованной литературы

1. Белобородова Н.В. Оптимизация антибактериальной терапии в педиатрии: современные тенденции. Рус мед журн 1997; 5: 24: 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): 20-30.
4. Leclerg R., Counvalin 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; 31-40.

© Касимова Д.Б., Гаибназарова Д.Т., 2016

УДК 615.02

Мавлянова М.Б.,
Ташкентский фармацевтический институт,
г. Ташкент, Республика Узбекистан

РАЗРАБОТКА МЕТОДИК ИДЕНТИФИКАЦИИ И КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ИНГРЕДИЕНТОВ ПРЕПАРАТА «АНТИ-АКНЕ»

Возможность создания отечественных препаратов для лечения проблемной кожи очень велика, а разработка технологии их приготовления на основе регионального сырья весьма перспективна. Это позволит намного

снизить стоимость лечебной космецевтической продукции, учитывая довольно высокие цены на брендовые средства.

Объектом наших исследований явился лосьон «Анти-акне» предназначенный для лечения акне, в состав которого входит антибиотик эритромицин, салициловая и борная кислоты, сера и настойки календулы. [12, С.87-96]

Несомненно, качество любой продукции важно для потребителя, тем более качество продукции, влияющей на наше здоровье и эстетику внешнего вида. Можем ли мы быть уверены в безопасности и действительной ценности очередной новинки? Поэтому космецевтическая продукция должна соответствовать стандартам качества и контроль качества проводится в соответствии с нормами, предъявляемыми для медикаментов. [3, С.63-65.] Помимо основных параметров и характеристик, таких как: внешний вид, цвет, запах, объемная доля этилового спирта, водородный показатель, массовая доля суммы тяжелых металлов вся продукция должна быть исследована на качественный и количественный состав.

В своей работе мы попытаемся разработать методики контроля качества основных ингредиентов, входящих в состав исследуемого космецевтика.

Идентификацию салициловой кислоты и эритромицина проводили методом ВЭЖХ при следующих условиях:

-Колонка размером 3,0 x 150 мм, наполненная сорбентом Zorbax Eclipse ХОВ 18с с размером частиц 3,5мкм.

-Подвижная фаза: метанол-вода-ортофосфорная кислота (45:54,5:0,5).

-Анализ проводили в изократном режиме со скоростью потока элюента 0,4 мл/мин.

-Температура колонки 28°

-Объем вводимого образца препарата и РСО ингредиентов по отдельности в инжектор хроматографа – 10 мкл, продолжительность проведения анализа – 20 мин.

-УФ-детектор с рабочей длиной волны 220нм

Хроматографировали на высокоэффективном жидкостном хроматографе фирмы Agilent Technology (США) 1200 series программным обеспечением «ChemStation», снабженным 4-кратным насосом с вакуумным дозатором и автосамплером, термостатом колонок и UV/VISдиодно-матричным спектрофотометрическим детектором.

Последовательно хроматографируют равные объемы (0,01-0,05мл) испытуемого раствора и РСО эритромицина и салициловой кислоты.

Полученные результаты представлены на рисунках А, Б, В, Г.