На правах рукописи

КАЛИНКИНА ЕЛЕНА АЛЕКСАНДРОВНА

ИССЛЕДОВАНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ КУЛОНОМЕТРИЧЕСКОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ВОДЫ В АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВАХ

14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата фармацевтических наук

Самара – 2015

Работа выполнена в государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

Научный руководитель:
Доктор фармацевтических наук,
доцент Абдуллина Светлана Геннадиевна

Официальные оппоненты:
Браславский Валерий Борисович, доктор фармацевтических наук, доцент; государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра фармакогнозии с ботаникой и основами фитотерапии, доцент кафедры

Гармонов Сергей Юрьевич, доктор химических наук, профессор; федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Казанский национальный исследовательский технологический университет», кафедра аналитической химии, сертификации и менеджмента качества, профессор кафедры

Ведущая организация:
государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования «Башкирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Уфа

Защита диссертации состоится « »_____2015 г. в __ часов на заседании диссертационного совета Д 208.085.06 при государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации по адресу: 443079, г. Самара, ул. К.Маркса, 165Б.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации (443001, г. Самара, ул. Арцыбушевская, 171; http://www.samsmu.ru/science/referats/2015/).

Автореферат разослан: « » _____2015 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
кандидат фармацевтических наук, доцент И.К. Петрухина

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Приоритет качества лекарственных средств является одной из основных задач Стратегии развития фармацевтической промышленности Российской Федерации на период до 2020 года и заставляет совершенствовать имеющиеся и разрабатывать новые методы анализа. Одним из важных параметров при контроле качества фармацевтических субстанций, в том числе антибиотиков, и изготовленных из них лекарственных препаратов является «Вода» (Lambert P.A. et al., 2003). При несоблюдении условий изготовления или хранения лекарственных средств возможно протекание таких побочных процессов, как выветривание кристаллизационной воды в кристаллогидрате или поглощение влаги из воздуха гигроскопичными веществами, гидролиз, окисление, разложение, что непременно будет влиять как на содержание действующего вещества, так и возможное появление токсичных примесей. Кроме того, при количественном определении действующего вещества его содержание необходимо указывать с учётом количества влаги в веществе.

Степень разработанности темы. Перспективным методом определения воды в фармацевтических субстанциях и лекарственных препаратах является кулонометрическое титрование по Фишеру, который включен в Европейскую фармакопею, национальные фармакопеи США, Японии, Китая, Индии и других стран. Метод прямой и селективный по отношению к воде, основными контролируемыми параметрами являются время и сила тока, протекающего через электрохимическую ячейку. В настоящее время, как в нашей стране, так и за рубежом, выпускаются приборы, позволяющие измерять эти параметры автоматически с достаточно высокой точностью. Кулонометрическое титрование по Фишеру было предложено для определения воды в фармацевтических субстанциях клиндамицина (Stojanović B. et al., 2012), тиамина хлорида, дротаверина гидрохлорида и таблеточной массе рамиприла (Абдуллина С.Г., 2013), в дозированных лекарственных препаратах для ингаляции (Motalib M. et al., 2013). Метод отличается хорошей воспроизводимостью, простотой проведения эксперимента, экспрессностью, не требует построения градуировочных графиков и предварительной стандартизации титранта и актуален для определения содержания воды в фармацевтических субстанциях и лекарственных препаратах.

Цель и задачи исследования. *Целью* настоящей работы является совершенствование определения содержания воды в антибактериальных лекарственных средствах кулонометрическим титрованием по Фишеру с бипотенциометрической индикацией конечной точки титрования.

Задачи исследования:

1. Провести сопоставление методов определения содержания воды в антибактериальных лекарственных средствах, описанных в отечественной и зарубежной литературе.

2. Разработать унифицированные методики определения воды в субстанциях антибактериальных лекарственных средств по методу Фишера с помощью электрогенерированного в неводной среде йода с бипотенциометрической индикацией конечной точки титрования.

3. Разработать унифицированные методики определения содержания воды в лекарственных формах антибактериальных средств: порошок для приготовления раствора для внутривенного и внутримышечного введения, таблетки, капсулы, порошок/гранулы для приготовления суспензии для приёма внутрь, мазь с помощью кулонометрического титрования по Фишеру.

4. Подготовить проект изменения к ОФС «Определение воды», гармонизированный с международными требованиями.

Научная новизна. Впервые разработаны унифицированные методики кулонометрического определения воды в субстанциях антибактериальных средств: ампициллина натрия, ампициллина тригидрата, амоксициллина тригидрата, оксациллина натрия моногидрата, цефазолина натрия, цефуроксима натрия, цефотаксима натрия, цефоперазона натрия, цефтриаксона натрия, цефепима стерильного, эритромицина, моксифлоксацина гидрохлорида и левофлоксацина гемигидрата. Впервые разработаны методики кулонометрического определения воды в лекарственных формах: порошок для приготовления раствора для внутривенного и внутримышечного введения ампициллина, ампициллина/сульбактама, цефазолина, цефуроксима, цефотаксима, цефоперазона, цефтриаксона, цефепима, таблетки ампициллина, амоксициллина/клавулановой кислоты, капсулы амоксициллина, гранулы для приготовления суспензии для приёма внутрь амоксициллина, порошок для приготовления суспензии для приёма внутрь амоксициллина/клавулановой кислоты, мазь эритромицина и мазь глазная эритромицина. Впервые предложен подход к проведению валидационной оценки методик кулонометрического определения воды в субстанциях и лекарственных формах. Впервые предложено использовать для извлечения воды Аква М®-Кулон AG. Унификация аналитических методик на основе формирования единого подхода к определению воды в широком диапазоне (от 0,05 до 13,0%) в субстанциях и лекарственных формах обуславливает совершенствование и упрощение аналитического контроля, позволяет сократить не только время анализа, но и расход применяемых реагентов.

Предложен проект изменения к ОФС «Определение воды», гармонизированный с международными требованиями. По материалам исследования получен приоритет по заявке №2015109099 «Способ кулонометрического определения содержания воды в субстанции ампициллина тригидрата» (от 16.03.2015) и приоритет по заявке №2015109100 «Способ кулонометрического определения содержания воды в лекарственной форме мазь» (от 16.03.2015).

Практическая значимость. Разработаны методики кулонометрического определения воды в субстанциях и лекарственных формах антибактериальных средств на отечественном кулонометре «Эксперт-007» (ООО «Эконикс-эксперт») с использованием отечественных реагентов. Разработан и предложен проект изменения к ОФС «Определение воды». Предложенные методики позволяют значительно уменьшить расход дорогостоящих и токсичных реактивов, не требуют построения градуировочных графиков и предварительной стандартизации титранта, отличаются хорошей воспроизводимостью, точностью, экспрессностью, простотой эксплуатации прибора и возможностью полной автоматизации. Материалы о практической значимости подтверждены ак-

тами внедрения в практику работы Казанского филиала ФГБУ «ИМЦЭУАОСМП» Росздравнадзора и ОАО «Татхимфармпрепараты».

Методология и методы исследования. Методологической основой послужили результаты отечественных и зарубежных исследований по совершенствованию способов определения воды в различных объектах. Исследования проводились с использованием различных методов: кулонометрическое и волюмометрическое титрование по Фишеру, метод высушивания, pH-метрия. Валидацию методик и статистическую обработку результатов анализа проводили в соответствии рекомендациями «Руководство по валидации методик анализа лекарственных средств» (Н.В. Юргель и др., 2007) и требованиями ГФ XI, вып. 1, стр. 199-251 с использованием программ Microsoft Excel и Origin 5.0.

Основные положения, выносимые на защиту. Проект изменения к ОФС «Определение воды». Методики кулонометрического определения воды по Фишеру для 13 фармацевтических субстанций (ампициллина натрия, ампициллина тригидрата, амоксициллина тригидрата, оксациллина натрия моногидрата, цефазолина натрия, цефуроксима натрия, цефотаксима натрия, цефоперазона натрия, цефтриаксона натрия, цефепима, эритромицина, моксифлоксацина гидрохлорида и левофлоксацина гемигидрата) и 5 лекарственных форм (порошок для приготовления раствора для внутривенного и внутримышечного введения, таблетки, капсулы, порошок/гранулы для приготовления суспензии для приёма внутрь, мазь).

Апробация. Основные положения работы доложены и обобщены на: 87-ой Всероссийской научно-практической конференции студентов и молодых ученых (Казань, 2013), 88-ой Всероссийской научно-практической конференции студентов и молодых ученых (Казань, 2014, III место), Всероссийской конференции с международным участием «Роль провизора в современной системе здравоохранения» (Омск, 2013), II Всероссийской научно-практической конференции с международным участием «Инновации в здоровье нации» (Санкт-Петербург, 2014).

Личный вклад автора. Все экспериментальные результаты, приведенные в диссертации, получены автором лично. Автором разработаны методики кулонометрического определения воды по Фишеру для 13 субстанций антибактериальных лекарственных средств и их лекарственных форм с бипотенциометрической индикацией конечной точки титрования. Автором разработан проект изменения к общей фармакопейной статье «Определение воды». Диссертант лично выполнил статистическую обработку полученных данных, анализ результатов исследования, подготовку статей к публикации, написание глав диссертационной работы.

Связь исследования с проблемным планом фармацевтических наук. Диссертационная работа выполнена в рамках темы НИР «Исследование возможности кулонометрического определения воды в антибактериальных средствах» (регистрационный номер НИОКР 114100140003).

Диссертация соответствует паспорту специальности 14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия (фармацевтические науки). Результаты прове-

денного исследования соответствуют области исследования специальности, конкретно пункту 3 паспорта специальности.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 8 печатных работ, в том числе 4 статьи в журналах, рекомендуемых ВАК Минобрнауки РФ.

Объем и структура диссертации. Работа изложена на 123 страницах печатного текста и состоит из введения, обзора литературы, двух глав экспериментальных исследований и выводов, содержит 30 таблиц, 15 рисунков. Список литературы включает 119 источников, в том числе, 65 иностранных. Во введении обоснована актуальность темы, сформированы цель и задачи исследования, отмечена новизна и практическая значимость полученных результатов, изложены положения, выносимые на защиту. Глава 1 содержит аналитический обзор литературы по современным методам определения содержания воды. Обоснован выбор метода исследования. В главе 2 дана краткая характеристика фармацевтических субстанций и препаратов на их основе, изучаемых в данной работе, приведены приборы и реактивы, используемые в исследовании, представлены методики кулонометрического и волюмометрического определения воды по Фишеру. В главах 3-4 экспериментальной части приведены результаты собственных исследований по разработке методик кулонометрического определения воды в субстанциях антибактериальных средств и их лекарственных формах. В приложении приводятся материалы, подтверждающие практическую значимость проведенных исследований: проект изменения к общей фармакопейной статье «Определение воды» и акты внедрения результатов работы.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Кулонометрическое определение воды по методу Фишера проводили на кулонометре «Эксперт-007» («Эконикс-Эксперт», Россия) при силе тока 50 мА. Генераторный и вспомогательный электроды представляли собой платиновые спирали. Рабочими растворами служили модифицированный реактив Фишера – анолит Аква М®-Кулон AG («Акваметрия», Россия) и католит Аква М®-Кулон CG («Акваметрия», Россия). Конечную точку титрования определяли бипотенциометрически с поляризующим током 2 мкА. Контроль герметичности кулонометрической ячейки проводили путем измерения дрейфа, который не превышал 0,05 мг H_2O/мин. Правильность определения воды проверяли по стандартному раствору HYDRANAL®–Check Solution 1.00 с содержанием воды 1,00±0,03 мг H_2O/г (Riedel-de Haën, Германия).

Объектами служили образцы фармацевтических субстанций и лекарственных форм, отвечающие требованиям нормативной документации.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

1. Кулонометрическое определение содержания воды в **субстанциях** антибактериальных лекарственных средств.

Разработаны методики кулонометрического определения воды в субстанциях **полусинтетических пенициллинов**: ампициллин натрия, ампициллина тригидрат, амоксициллина тригидрат, оксациллин натрия. Содержание воды определяли на трех уровнях концентрации субстанций в диапазоне 70-130% от

уровня, принятого за 100% (табл. 1), и в 6 навесках на среднем уровне концентрации. Относительное стандартное отклонение не превышало 0,02.

Таблица 1

Определение воды на трёх уровнях концентрации в субстанциях полусинтетических пенициллинов (n=5, P=95%)

Субстанция	Содержание субстанции в пробе, %	Найдено воды, %	S_r
Ампициллин натрия, образец 1	7,0 10,0 13,0	0,87±0,02 0,87±0,01 0,87±0,01	0,017 0,009 0,012
Ампициллина тригидрат, образец 1	1,0 1,5 2,0	12,8±0,1 12,9±0,1 12,9±0,2	0,009 0,010 0,016
Ампициллина тригидрат, образец 2	1,0 1,5 2,0	12,9±0,2 13,0±0,1 12,9±0,2	0,017 0,010 0,016
Амоксициллина тригидрат, образец 1	1,0 1,5 2,0	12,89±0,02 12,95±0,02 12,96±0,02	0,011 0,011 0,013
Оксациллин натрия, образец 1	1,7 2,5 3,2	4,34±0,07 4,33±0,05 4,33±0,08	0,015 0,011 0,017
Оксациллин натрия, образец 2	1,7 2,5 3,2	4,39±0,03 4,36±0,04 4,36±0,03	0,006 0,010 0,005

Проведена валидационная оценка методики кулонометрического определения воды в **субстанции ампициллина тригидрата** (образец 1) по показателям: специфичность, линейность и диапазон применения, правильность и прецизионность.

Реакция, лежащая в основе метода Фишера, специфична в отношении воды. Определение воды проводили на трех уровнях концентрации ампициллина во вводимой пробе в диапазоне 70–130% от уровня, принятого за 100% (табл. 1). Как видно из табл.1, независимо от содержания вещества в пробе определяется одинаковое содержание воды, что подтверждает специфичность методики.

Линейность и диапазон применения методики устанавливали путем статистической обработки выборки, полученной в результате анализа 5 модельных проб с добавлением известного количества стандарта воды HYDRANAL®–Check Solution 1.00 на 5 уровнях концентрации. Исследование зависимости между найденным и рассчитанным содержанием воды показало, что она имеет линейный характер и описывается уравнением: $y=a+bx$, где a=0,016, b=0,983. Значение тангенса угла наклона (b) входит в допустимые пределы 0,975–1,025. Рассчитанное значение коэффициента линейной корреляции составляет 0,9989.

Правильность предлагаемой методики оценивали методом добавок путем внесения в субстанцию ампициллина тригидрата стандарта воды HYDRANAL®–Check Solution 1.00 на 3 уровнях концентрации. Правильность характеризуется величиной отношения найденного количества воды к введенному в процентах, которая входит в доверительный интервал 97,5–102,5 %, что позволяет считать предлагаемую методику соответствующей критерию «правильность» (табл. 2).

Таблица 2

Результаты определение содержания воды в субстанции ампициллина тригидрата с добавками стандарта воды на трех уровнях концентрации воды

Содержание воды в субстанции ампициллина, %	Добавлено стандарта воды от найденного, %	Рассчитанное содержание воды в пробе, %	Найденное содержание воды в пробе, %	Правильность, %	Метрологические характеристики
12,9	+25%	16,10 16,20 16,16	15,98 16,36 16,40	99,3 101,0 101,5	$X_{ср}$ = 100,1 $\Delta X_{ср}$ = 0,65 S = 0,8497 S_r = 0,009 $S_{x\,ср}$ = 0,2832 $\varepsilon_{ср},\%$ = 0,65
	+50%	19,36 19,30 19,41	19,28 19,38 19,20	99,6 100,4 98,9	
	+75%	22,50 22,62 22,58	22,55 22,70 22,45	100,2 100,4 99,4	

Прецизионность оценивали определяя повторяемость (сходимость) предлагаемой методики по результатам 6 определений ($X_{ср}$=12,92; $\Delta X_{ср}$=0,014) на одном уровне концентрации (P=95%). Для оценки рассчитаны параметры: стандартное отклонение (S=0,1320), относительное стандартное отклонение (S_r=0,010) и доверительный интервал ($\Delta X_{ср}$=0,014). На основании полученных результатов можно считать предлагаемую методику валидной по показателю «прецизионность».

Разработаны методики кулонометрического определения воды по Фишеру **в субстанциях цефалоспоринов.** Содержание воды в исследуемых субстанциях определяли на трех уровнях концентрации в диапазоне 70-130% от уровня, принятого за 100% (табл. 3), и в 6 навесках на среднем уровне концентрации. Относительное стандартное отклонение не превышало 0,02. Титрование по Фишеру имеет оптимальный диапазон pH 5,5-8, в котором реакция протекает быстро и стехиометрически. Ввиду того, что при введении натриевых солей цефалоспоринов, представляющих собой соль сильного основания и слабой кислоты, pH фонового электролита может сдвинуться в щелочную сторону и, как следствие, измениться стехиометрия реакции, проводили контроль pH фонового электролита. Наблюдаемая pH до и после титрования составила 5,7.

Таблица 3

Определение воды в субстанциях цефалоспоринов
на трёх уровнях концентрации (n=5, P=95%)

Субстанция	Содержание субстанции в пробе, %	Найдено воды, %	S_r
Цефазолин натрия, образец 1	2,0 3,0 4,0	0,95±0,02 0,95±0,01 0,96±0,02	0,016 0,014 0,018
Цефазолин натрия, образец 2	2,0 3,0 4,0	1,36±0,03 1,35±0,03 1,36±0,02	0,020 0,020 0,010
Цефотаксим натрия, образец 1	2,8 4,0 5,2	1,64±0,03 1,60±0,03 1,58±0,03	0,014 0,018 0,017
Цефотаксим натрия, образец 2	2,8 4,0 5,2	2,61±0,03 2,62±0,02 2,61±0,04	0,010 0,005 0,014
Цефтриаксон натрия, образец 1	1,8 2,5 3,3	8,78±0,12 8,77±0,09 8,76±0,14	0,011 0,010 0,013
Цефоперазон натрия, образец 1	2,3 3,3 4,2	3,54±0,06 3,51±0,03 3,53±0,07	0,016 0,007 0,019
Цефепим стерильный, образец 1	3,5 5,0 6,5	2,23±0,04 2,24±0,02 2,24±0,03	0,016 0,009 0,011

Проведена валидационная оценка методики кулонометрического определения воды в **субстанции цефотаксима натрия** (образец 1). Определение воды проводили на трех уровнях концентрации цефотаксима во вводимой пробе в диапазоне 70–130% от уровня, принятого за 100% (табл. 3). Результаты свидетельствуют о специфичности предложенной методики по отношению к воде.

Исследование зависимости между найденным и рассчитанным содержанием воды показало, что она имеет линейный характер и описывается уравнением: $y=a+bx$, где a=0,019, b=0,985. Рассчитанное значение коэффициента линейной корреляции составляет 0,9969.

Оценку правильности предлагаемой методики путем сравнения с арбитражным методом (метод высушивания) проводили по результатам 6 определений (табл. 4). Результаты эксперимента сопоставимы и не отягощены систематической ошибкой. Метод кулонометрического титрования валиден по показателям «правильность». Прецизионность оценивали определяя повторяемость (сходимость) предлагаемой методики по результатам 6 определений на одном уровне концентрации (табл. 4). Для оценки рассчитаны параметры: стандартное

отклонение (S=0,0293), относительное стандартное отклонение (S_r=0,018) и доверительный интервал ($\Delta X_{ср}$=0,03). На основании полученных результатов можно считать предлагаемую методику валидной по показателю «прецизионность».

Таблица 4

Метрологическая оценка определения содержания воды в субстанции цефотаксима (P=95%)

Метод	Найденное содержание воды, X_i, %	$X_{ср}$	$\Delta X_{ср}$	S	S_r	$\varepsilon_{ср}$,%
Кулонометрическое титрование по Фишеру	1,60; 1,57; 1,59; 1,58; 1,62; 1,65	1,60	0,03	0,0293	0,018	1,92
Метод высушивания	1,50; 1,60; 1,52; 1,58; 1,53; 1,59	1,55	0,04	0,0418	0,027	2,82

Разработана и валидирована методика кулонометрического определения воды в **субстанции эритромицина**. Результаты определения воды на трех уровнях концентрации эритромицина (табл. 5), свидетельствуют о специфичности предложенной методики. Линейность и диапазон применения методики устанавливали путем статистической обработки выборки, полученной в результате анализа 9 модельных проб с добавлением известного количества HYDRANAL®–Standard натрия тартрата двуводного на 9 уровнях концентрации в диапазоне от концентрации воды, обнаруженной в эритромицине (3,94%), до 120% от нормируемого содержания воды в эритромицине (не более 6,5%). Исследование зависимости между найденным и рассчитанным содержанием показало, что она имеет линейный характер и описывается уравнением: $y=a+bx$, где a= −0,017, b=1,021. Рассчитанное значение коэффициента линейной корреляции составляет 0,9991.

Таблица 5

Результаты кулонометрического определения воды на трёх уровнях концентрации в субстанции эритромицина (n=5, P=95%)

Содержание субстанции в пробе, %	Найдено воды, %	S_r
1,75	3,92±0,04	0,009
2,50	3,94±0,03	0,007
3,25	3,87±0,05	0,010

Правильность предлагаемой методики оценивали методом добавок и сравнением с арбитражным методом. Определение методом добавок проводили путем внесения в субстанцию эритромицина стандарта воды HYDRANAL®–Standard натрия тартрата двуводного в количестве 25, 50 и 75% от найденного содержания воды в эритромицине. Правильность характеризуется величиной отношения найденного количества воды к введенному в процентах, которая входит в доверительный интервал 97,5–102,5%, что позволяет считать предлагаемую методику соответствующей критерию «правильность» (табл. 6).

Таблица 6

Результаты определение содержания воды в субстанции эритромицина с добавками стандарта воды на трех уровнях концентрации воды

Содержание воды в субстанции эритромицина, %	Добавлено стандарта воды от найденного, %	Рассчитанное содержание воды в пробе, %	Найденное содержание воды в пробе, %	Правильность, %	Метрологические характеристики
3,94	+25%	4,98 5,00 5,08	5,03 5,01 5,16	101,0 100,2 101,6	$X_{ср}$ = 100,23 $\Delta X_{ср}$ = 0,52 S = 0,6823 S_r = 0,007 $S_{x\ ср}$ = 0,2276 $\varepsilon_{ср}$,% = 0,52
	+50%	5,92 5,86 5,67	5,93 5,82 5,65	100,2 99,3 99,6	
	+75%	6,81 6,91 6,99	6,83 6,92 7,01	100,3 100,1 100,3	

Оценку правильности предлагаемой методики путем сравнения с арбитражным методом проводили по результатам 6 определений (табл. 7). Результаты эксперимента сопоставимы, не отягощены систематической ошибкой и метод кулонометрического титрования валиден по показателю «правильность».

Таблица 7

Метрологическая оценка определения содержания воды в субстанции эритромицина (P=95%)

Метод	Найденное содержание воды, X_i, %	$X_{ср}$	$\Delta X_{ср}$	S	S_r	$\varepsilon_{ср}$,%
Кулонометрическое титрование по Фишеру	3,98; 3,91; 3,96; 3,95; 3,92; 3,94	3,94	0,03	0,0258	0,007	0,69
Волюмометрическое титрование по Фишеру	3,97; 4,02; 3,94; 4,05; 3,84; 3,89	3,95	0,08	0,0788	0,020	2,09

Прецизионность оценивали определяя повторяемость (сходимость) предлагаемой методики по результатам 6 определений на одном уровне концентрации (табл. 7). Для оценки рассчитаны параметры: стандартное отклонение (S=0,0258), относительное стандартное отклонение (S_r=0,007) и доверительный интервал ($\Delta X_{ср}$=0,03). На основании полученных результатов можно считать предлагаемую методику валидной по показателю «прецизионность».

Разработаны методики кулонометрического определения воды в **субстанциях фторхинолонов.** Определение воды проводили на трех уровнях концентрации левофлоксацина во вводимой пробе в диапазоне 70–130% от уровня, принятого за 100% (табл. 8), и в 6 навесках на одном уровне концентрации. Относительное стандартное отклонение (S_r) не превышает 0,02.

Таблица 8

Определение воды на трёх уровнях концентрации в субстанциях фторхинолонов (n=5, P=95%)

Субстанция	Содержание субстанции в пробе, %	Найдено воды, %	S_r
Моксифлоксацина гидрохлорид	2 3 4	3,4±0,1 3,4±0,03 3,4±0,1	0,02 0,01 0,02
Левофлоксацина гемигидрат	2,8 4,0 5,2	2,55±0,07 2,54±0,05 2,55±0,06	0,020 0,020 0,018

Проведена валидационная оценка методики кулонометрического определения воды в **субстанции левофлоксацина гемигидрата**. Определение воды проводили на трех уровнях концентрации левофлоксацина во вводимой пробе (табл. 8). Результаты свидетельствуют о специфичности методики по отношению к воде.

Исследование зависимости между найденным и рассчитанным содержанием воды показало, что она имеет линейный характер (R=0,9977) и описывается уравнением: $y=a+bx$, где a= −0,01, b=1,01.

Правильность предлагаемой методики оценивали методом добавок путем внесения в субстанцию левофлоксацина стандарта воды HYDRANAL®–Check Solution 1.00 на 3 уровнях концентрации. Методика соответствует критерию «правильность» (табл. 9).

Таблица 9

Результаты определение содержания воды в субстанции левофлоксацина с добавками стандарта воды на трех уровнях концентрации воды

Содержание воды в субстанции левофлоксацина, %	Добавлено стандарта воды от найденного,%	Рассчитанное содержание воды в пробе, %	Найденное содержание воды в пробе, %	Правильность, %	Метрологические характеристики
2,55	+25%	3,19 3,15 3,20	3,18 3,20 3,23	99,4 101,5 101,0	$X_{ср}$ = 100,1 $\Delta X_{ср}$ = 0,6 S = 0,8388 S_r = 0,008 $S_{x\,ср}$ = 0,2796 $\varepsilon_{ср}$,% = 0,64
	+50%	3,70 3,81 3,76	3,71 3,80 3,77	100,4 99,6 100,2	
	+75%	4,50 4,45 4,48	4,52 4,42 4,43	100,4 99,4 98,9	

Прецизионность оценивали определяя повторяемость (сходимость) предлагаемой методики по результатам 6 определений на одном уровне концентрации (табл. 10). На основании полученных результатов можно считать предлагаемую методику валидной по показателю «прецизионность».

Таблица 10

Метрологические характеристики определения воды на среднем уровне концентрации в субстанции левофлоксацина (n=6, P=95%)

Найденное содержание воды, X_i, %	$X_{ср}$	$\Delta X_{ср}$	S	S_r	$S_{x\ ср}$	$\varepsilon_{ср}$,%
2,59; 2,52; 2,51; 2,57; 2,60; 2,47	2,54	0,05	0,0513	0,02	0,0209	2,11

Для извлечения воды растворяли субстанцию в подходящем растворителе: моксифлоксацин в растворе Аква М®-Кулон AG, а левофлоксацин в смеси хлороформа и карбинола 7:3. Присутствие хлороформа в рабочей камере не изменяло стехиометрию и скорость реакции, что было подтверждено дополнительно проверкой правильности титрования по стандарту воды после окончания определений.

2. Кулонометрическое определение содержания воды в **лекарственных формах** антибактериальных лекарственных средств.

Определение воды в **лекарственной форме «порошок для приготовления раствора для внутривенного и внутримышечного введения» ампициллина, ампициллина/сульбактама, цефазолина, цефуроксима, цефотаксима, цефтриаксона, цефоперазона и цефепима** проводился по методикам, предложенным для субстанций этих веществ. Все вещества растворимы в выбранном растворителе. В случае препарата ампициллина/сульбактама («Амписид») было показано, что сульбактам не взаимодействует с компонентами реактива Фишера и не мешает определению воды. Кривые титрования идентичны (рис. 1).

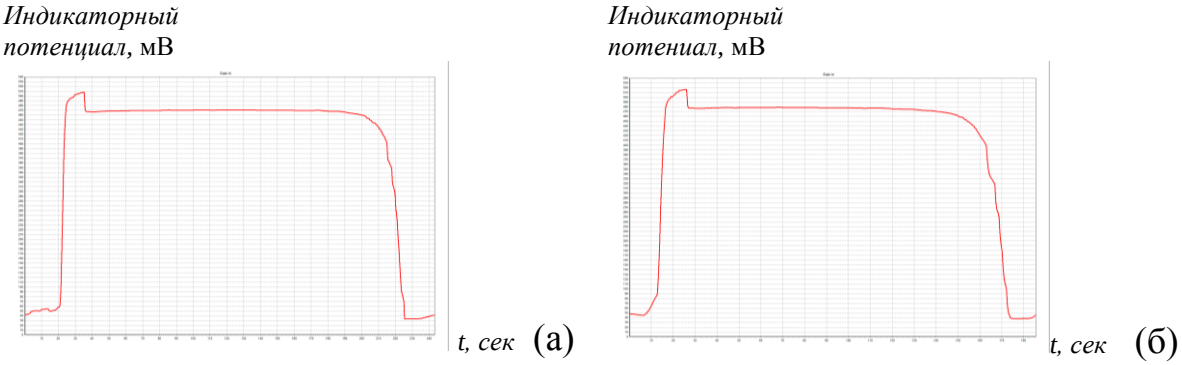


Рис. 1. Кривая кулонометрического титрования для субстанций ампициллина натрия (а) и препарата ампициллина/сульбактама (б).

Содержание воды определяли на трех уровнях концентрации лекарственного препарата (ЛП) в пробе в диапазоне 70-130% от уровня, принятого за 100% (табл. 11).

Таблица 11

Определение воды на трёх уровнях концентрации (n=5, P=95%)

Лекарственный препарат	Содержание ЛП в пробе, %	Найдено воды, %	S_r
Ампициллин (в виде натриевой соли), образец 1	7,0 10,0 13,0	0,68±0,02 0,71±0,02 0,70±0,02	0,019 0,020 0,020

Продолжение таблицы 11

Лекарственный препарат	Содержание ЛП в пробе, %	Найдено воды, %	S_r
Ампициллин (в виде натриевой соли), образец 2	7,0 10,0 13,0	1,47±0,04 1,48±0,04 1,44±0,03	0,020 0,020 0,019
Ампициллин/сульбактам, образец 1	7,0 10,0 13,0	0,60±0,01 0,62±0,01 0,61±0,02	0,019 0,017 0,020
Цефазолин (в виде натриевой соли), образец 1	2,0 3,0 4,0	1,37±0,03 1,39±0,04 1,40±0,04	0,020 0,020 0,020
Цефуроксим (в виде натриевой соли), образец 1	2,8 4,0 5,2	2,49±0,06 2,46±0,04 2,54±0,03	0,020 0,016 0,009
Цефотаксим (в виде натриевой соли), образец 1	2,8 4,0 5,2	0,40±0,01 0,40±0,01 0,41±0,01	0,020 0,020 0,016
Цефтриаксон (в виде натриевой соли), образец 1	1,7 2,5 3,3	9,19±0,03 9,20±0,04 9,19±0,04	0,013 0,015 0,005
Цефоперазон (в виде натриевой соли), образец 1	2,0 3,0 4,0	4,3±0,1 4,3±0,1 4,3±0,1	0,020 0,018 0,016
Цефепим, образец 1	2,8 4,0 5,2	2,18±0,04 2,23±0,04 2,22±0,03	0,010 0,016 0,016

Независимо от содержания образца в пробе находится одинаковое содержание воды. Было проведено определение воды в 6 навесках на среднем уровне концентрации. Относительная ошибка среднего составила 2-3%.

Проведена валидационная оценка методики кулонометрического определения воды в лекарственной форме цефотаксима «порошок для приготовления раствора для внутривенного и внутримышечного введения».

Результаты определения воды на трех уровнях концентрации цефотаксима во вводимой пробе в диапазоне 70–130% от уровня, принятого за 100% (табл. 11), свидетельствуют о специфичности предложенной методики.

Исследование зависимости между найденным и рассчитанным содержанием воды в пробе показало, что она имеет линейный характер (R=0,9970) и описывается уравнением: $y=a+bx$, где a=0,016, b=0,987.

Оценку правильности предлагаемой методики проводили путем сравнения с арбитражным методом по результатам 6 определений на одном уровне концентрации (табл. 12). Результаты эксперимента сопоставимы, метод кулонометрического титрования валиден по показателям «правильность».

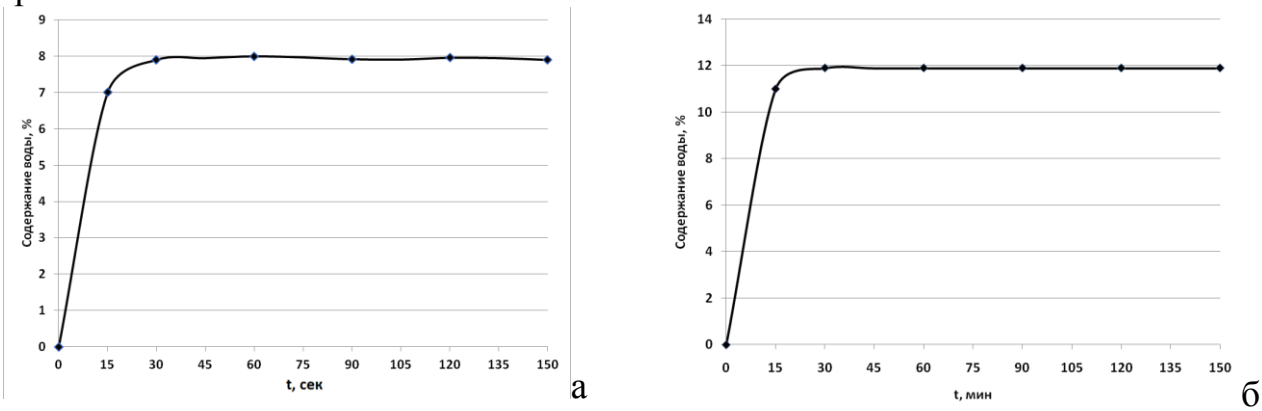
Таблица 12

Метрологическая оценка определения содержания воды в порошке для приготовления раствора для внутривенного и внутримышечного введения цефотаксима (P=95%)

Метод	$X_{ср}$	$\Delta X_{ср}$	S	S_r	$\varepsilon_{ср}$,%
Кулонометрическое титрование по Фишеру	0,40	0,01	0,0110	0,027	2,86
Метод высушивания	0,41	0,02	0,0187	0,050	4,62

Прецизионность оценивали определяя повторяемость (сходимость) предлагаемой методики по результатам 6 определений на одном уровне концентрации (табл. 12). На основании полученных результатов можно считать предлагаемую методику валидной по показателю «прецизионность».

В качестве растворителя для определения воды в **таблетках** предложено использовать Аква М®-Кулон AG. Ввиду того, что некоторые вспомогательные вещества таблеток не полностью растворяются в выбранном растворителе, было проведено определение содержания воды в зависимости от времени растворения на примере таблеток амоксициллина/клавулановой кислоты 500 мг+125 мг (а) и ампициллина 250 мг (б) (рис. 2). Как видно из рис. 2, через 30 минут вода полностью извлекается из пробы и найденное содержание воды с течением времени не изменяется.



а б

Рис. 2. Содержание воды в таблетках амоксициллина/клавулановой кислоты (а) и ампициллина (б) в зависимости от времени растворения в растворителе.

Содержание воды в лекарственных препаратах с лекарственной формой «таблетки» определяли на трех уровнях концентрации вещества в диапазоне 70-130% от уровня, принятого за 100% (табл. 13), и в 6 навесках на среднем уровне концентрации. Относительное стандартное отклонение не превышает 0,02.

Таблица 13

Определение воды в таблетках на трёх уровнях концентрации (n=5, P=95%)

МНН	Коммерческое название, производитель, серия	Содержание ЛП в пробе, %	Найдено воды, %	S_r
Ампициллин (в форме тригидрата)	Ампициллин 250 мг ЗАО «Обновление», Россия, Серия 51113	1,0	11,9±0,2	0,013
		1,5	11,9±0,1	0,011
		2,0	11,9±0,2	0,013

Продолжение таблицы 13

МНН	Коммерческое название, производитель, серия	Содержание ЛП в пробе, %	Найдено воды, %	S_r
Ампициллин (в форме тригидрата)	Ампициллин 250 мг ОАО «Биохимик», Россия, Серия 091113	1,0 1,5 2,0	11,9±0,3 11,9±0,3 11,9±0,2	0,018 0,017 0,013
Амоксициллин/ клавулановая кислота	Аугментин 250 мг+125 мг «Смит Кляйн Бичем Пи-ЭлСи», Великобритания, Серия 647188	1,0 1,5 2,0	7,26±0,12 7,25±0,15 7,28±0,15	0,012 0,017 0,017
Амоксициллин/ клавулановая кислота	Аугментин 500 мг+125 мг «Смит Кляйн Бичем Пи-ЭлСи», Великобритания, Серия 654125	1,0 1,5 2,0	7,42±0,14 7,43±0,11 7,41±0,13	0,015 0,012 0,014
	Амоксиклав 500 мг+125 мг «Лек Д.Д.», Словения, Серия ED6404	1,0 1,5 2,0	7,96±0,16 7,93±0,11 7,90±0,12	0,016 0,011 0,012
	Экоклав 500 мг+125 мг «АВВА РУС», Россия, Серия 80414	1,0 1,5 2,0	7,26±0,12 7,29±0,12 7,23±0,09	0,014 0,013 0,018
	Аугментин 875 мг+125 мг «Смит Кляйн Бичем Пи-ЭлСи», Великобритания, Серия 657554	1,0 1,5 2,0	6,87±0,04 6,92±0,06 6,91±0,08	0,005 0,008 0,008

Проведена валидационная оценка методики кулонометрического определения воды в таблетках Амоксиклава 500 мг+125 мг. Результаты определения воды на трех уровнях концентрации таблеточной массы во вводимой пробе в диапазоне 70–130% от уровня, принятого за 100% (табл. 13), свидетельствуют о специфичности предложенной методики.

Исследование зависимости между найденным и рассчитанным содержанием воды в пробе показало, что она имеет линейный характер (R=0,9982) и описывается уравнением: $y=a+bx$, где a=0,02, b=0,98.

Прецизионность оценивали определяя повторяемость (сходимость) предлагаемой методики по результатам 6 определений на одном уровне концентрации (табл. 14). На основании полученных результатов можно считать предлагаемую методику валидной по показателю «прецизионность».

Таблица 14

Метрологическая оценка определения содержания воды в таблетках Амоксиклава 500 мг+125 мг (n=6, P=95%)

Найденное содержание воды, X_i, %	$X_{ср}$	$\Delta X_{ср}$	S	S_r	$\varepsilon_{ср}$,%
7,80; 8,06; 7,97; 7,85; 7,91; 7,86	7,91	0,1	0,0941	0,012	1,25

Правильность предлагаемой методики оценивали методом добавок путем внесения в таблеточную массу известного количества стандарта воды HYDRANAL®–Check Solution 1.00 в количестве 25, 50 и 75% от найденного со-

держания воды в таблетках Амоксиклава (табл. 15). Метод кулонометрического титрования валиден по показателям «правильность».

Таблица 15

Результаты определение содержания воды в таблетках с добавками стандарта воды на трех уровнях концентрации воды

Содержание воды в таблетках	Добавлено воды в % от найденного	Теоретически рассчитанное содержание воды в пробе,%	Найденное содержание воды в пробе, %	Правильность, %	Метрологические характеристики
7,90%	+25%	9,85 9,88 9,91	9,93 9,94 9,85	100,8 100,6 99,4	$X_{ср}$ = 100,3 $\Delta X_{ср}$ = 0,95 S = 1,2414 S_r = 0,012 $S_{x\ ср}$ = 0,4138 $\varepsilon_{ср}$,% = 1
	+50%	11,84 11,85 11,90	12,08 12,00 11,84	102,0 101,3 99,5	
	+75%	13,83 13,80 13,79	14,01 13,53 13,75	101,3 98,0 99,7	

В качестве растворителя для определения воды в **капсулах** было предложено использовать Аква М®-Кулон AG. Ввиду того, что некоторые вспомогательные вещества таблеток не полностью растворяются в выбранном растворителе, было проведено определение содержания воды в зависимости от времени растворения на примере капсул амоксициллина 500 мг (рис. 3). Как видно из рис. 3, через 30 минут вода полностью извлекается из пробы и найденное содержание воды с течением времени не изменяется.

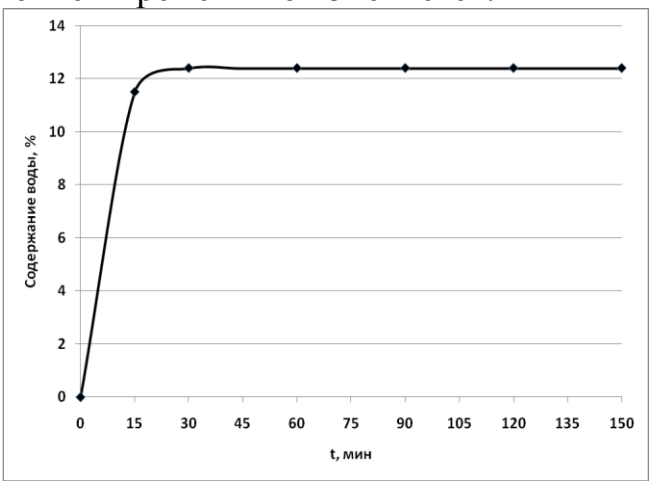


Рис. 3. Содержание воды в капсулах амоксициллина 500 мг в зависимости от времени растворения в растворителе.

Содержание воды в лекарственных препаратах (ЛП) с лекарственной формой «капсулы» определяли на трех уровнях концентрации вещества в диапазоне 70-130% от уровня, принятого за 100% (табл. 16), и в 6 навесках на среднем уровне концентрации. Относительное стандартное отклонение не превышает 0,02.

Таблица 16

Определение воды в капсулах на трёх уровнях концентрации (n=5, P=95%)

МНН	Коммерческое название, серия	Содержание ЛП в пробе, %	Найдено воды, %	S_r
Амоксициллин (в форме тригидрата)	Амоксициллин[1] 250 мг Серия 1301145	1	12,3±0,2	0,012
		1,5	12,3±0,2	0,015
		2	12,3±0,2	0,013
	Амоксициллин[1] 500 мг Серия 1301340	1	12,5±0,1	0,008
		1,5	12,4±0,2	0,013
		2	12,5±0,2	0,011
	Амоксициллин[1] 500 мг Серия 1400323	1	11,5±0,2	0,017
		1,5	11,5±0,2	0,015
		2	11,5±0,2	0,014

[1] «Хемофарм А.Д.», Сербия

Проведена валидационная оценка методики кулонометрического определения воды в **капсулах** амоксициллина (серия 1400323).

Результаты определения воды на трех уровнях концентрации содержимого капсул амоксициллина (табл. 16) свидетельствуют о специфичности предложенной методики.

Исследование зависимости между найденным и рассчитанным содержанием воды в пробе показало, что она имеет линейный характер (R=0,9982) и описывается уравнением: $y=a+bx$, где a=0,008, b=0,992.

Правильность предлагаемой методики оценивали методом добавок путем одновременного внесения в ячейку пробу анализируемого вещества и стандарта воды HYDRANAL®–Check Solution 1.00 на трех уровнях концентрации воды (125, 150, 175% от найденного). Предлагаемая методика соответствует критерию «правильность» (табл. 17).

Таблица 17

Результаты определение содержания воды в капсулах амоксициллина с добавками стандарта воды на трех уровнях концентрации воды

Содержание воды в капсулах амоксициллина	Добавлено воды в % от найденного	Теоретически рассчитанное содержание воды в пробе,%	Найденное содержание воды в пробе, %	Правильность, %	Метрологические характеристики
11,5%	+25%	14,79	14,86	100,47	$X_{ср}$ = 99,83 $\Delta X_{ср}$ = 0,61 S = 0,7994 S_r = 0,008 $S_{x\,ср}$ = 0,2665 $\varepsilon_{ср},\%$ = 0,95
		14,27	14,36	100,63	
		14,88	15,01	100,87	
	+50%	17,74	17,57	99,04	
		18,11	18,00	99,39	
		17,56	17,52	99,77	
	+75%	20,23	20,00	98,86	
		22,07	21,84	98,96	
		23,32	23,44	100,51	

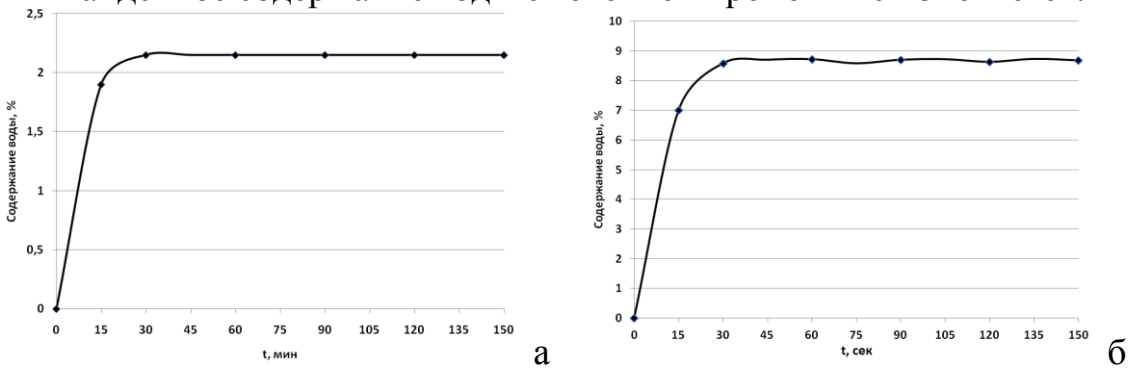
Прецизионность оценивали определяя повторяемость (сходимость) предлагаемой методики по результатам 6 определений на одном уровне концентрации (табл. 18). На основании полученных результатов можно считать предлагаемую методику валидной по показателю «прецизионность».

Таблица 18

Метрологическая оценка определения содержания воды в капсулах Амоксициллина 500 мг (P=95%)

Найденное содержание воды, X_i, %	$X_{ср}$	$\Delta X_{ср}$	S	S_r	$\varepsilon_{ср}$,%
11,46; 11,74; 11,46; 11,75; 11,30; 11,48	11,5	0,2	0,0315	0,015	1,62

В качестве растворителя для определения воды в **порошке или гранулах для приготовления суспензии для приёма внутрь** предложено использовать Аква М®-Кулон AG. Ввиду того, что некоторые вспомогательные вещества не полностью растворяются в выбранном растворителе, было проведено определение содержания воды в зависимости от времени растворения в гранулах амоксициллина 250 мг/5 мл (а) и в порошке амоксициллина/клавулановой кислоты 400+57,5 мг в 5 мл (б) для приготовления суспензии для приёма внутрь (рис. 4). Как видно из рис. 4, через 30 минут вода полностью извлекается из пробы и найденное содержание воды с течением времени не изменяется.



а б

Рис. 4. Содержание воды в гранулах амоксициллина (а) и в порошке амоксициллина/клавулановой кислоты (б) для приготовления суспензии для приёма внутрь в зависимости от времени растворения в растворителе

Содержание воды в лекарственных препаратах определяли на трех уровнях концентрации вещества в диапазоне 70-130% от уровня, принятого за 100% (табл. 19). Относительное стандартное отклонение не превышает 0,02.

Таблица 19

Определение воды в порошке/гранулах для приготовления суспензии для приёма внутрь на трёх уровнях концентрации (n=5, P=95%)

МНН	Коммерческое название, производитель, серия	Содержание ЛП в пробе, %	Найдено воды, %	S_r
Амоксициллин (в виде тригидрата)	Амоксициллин[1] 250 мг/5 мл Серия 1300814	3,5 5,0 6,5	2,17±0,05 2,15±0,05 2,18±0,05	0,02 0,02 0,02

Продолжение таблицы 19

МНН	Коммерческое название, производитель, серия	Содержание ЛП в пробе, %	Найдено воды, %	S_r
Амоксициллин + клавулановая кислота	Амоксиклав[2]	1,4	4,55±0,09	0,016
	125 мг+31,25 мг/5мл	2,0	4,51±0,11	0,019
	Серия ЕА4867	2,6	4,57±0,10	0,018
	Амоксиклав[2]	1,4	5,01±0,09	0,014
	250 мг+62,5 мг/5мл	2,0	5,09±0,10	0,015
	Серия ЕВ2035	2,6	5,10±0,06	0,009
	Аугментин[3]	1,0	8,63±0,16	0,015
	400 мг+57,5 мг/5 мл	1,5	8,64±0,08	0,007
	Серия 649468	2,0	8,60±0,12	0,011
	Аугментин ЕС[3]	1,0	9,95±0,12	0,010
	600 мг+42,9 мг/5 мл	1,5	9,95±0,13	0,011
	Серия 868	2,0	10,00±0,17	0,013

[1] «Хемофарм А.Д. », Сербия [2] «Лек Д.Д.», Словения
[3] «Смит Кляйн Бичем ПиЭлСи», Великобритания

Было проведено определение воды в 6 навесках на среднем уровне концентрации. Относительная ошибка среднего составила 1-2%.

Проведена валидационная оценка методики кулонометрического определения воды в лекарственной форме **«порошок для приготовления суспензии для приёма внутрь»** амоксициллина/клавулановой кислоты (Аугментин 400 мг+57,5 мг/5 мл, «Смит Кляйн Бичем ПиЭлСи», Великобритания).

Результаты определения воды на трех уровнях концентрации препарата во вводимой пробе в диапазоне 70–130% от уровня, принятого за 100% (табл. 19), свидетельствуют о специфичности предложенной методики.

Исследование зависимости между найденным и рассчитанным содержанием воды в пробе показало, что она имеет линейный характер (R=0,9981) и описывается уравнением: $y=a+bx$, где a= −0,025, b=1,022.

Прецизионность оценивали определяя повторяемость (сходимость) предлагаемой методики по результатам 6 определений на одном уровне концентрации (табл. 20). Предлагаемая методика валидной по показателю «прецизионность».

Таблица 20

Метрологическая оценка определения содержания воды в порошке для приготовления суспензии для приёма внутрь Аугментина (P=95%)

Найденное содержание воды, X_i, %	$X_{ср}$	$\Delta X_{ср}$	S	S_r	$\varepsilon_{ср}$,%
8,58; 8,60; 8,72; 8,63; 8,73;8,68	8,66	0,07	0,0628	0,007	0,76

Правильность предлагаемой методики оценивали методом добавок путем внесения известного количества стандарта воды HYDRANAL®–Check Solution 1.00 в количестве 25, 50 и 75% от найденного содержания воды в порошке для

приготовления суспензии для приёма внутрь Аугментина. Методика соответствует критерию «правильность» (табл. 21).

Таблица 21

Результаты определение содержания воды в порошке для приготовления суспензии для приёма внутрь Аугментина с добавками стандарта воды на трех уровнях концентрации воды

Содержание воды в ЛФ	Добавлено воды в % от найденного	Теоретически рассчитанное содержание воды в пробе, %	Найденное содержание воды в пробе, %	Правильность, %	Метрологические характеристики
8,60%	+25%	10,72 10,81 10,76	10,48 10,86 10,52	97,8 100,5 97,8	$X_{ср}$ = 99,4 $\Delta X_{ср}$ = 1,1 S = 1,3797 S_r = 0,014 $S_{x\ ср}$ = 0,4599 $\varepsilon_{ср}$,% = 1,07
	+50%	12,85 12,92 12,90	12,88 12,80 12,84	100,2 99,0 99,5	
	+75%	14,95 15,05 15,01	15,01 14,73 15,25	100,4 97,9 101,6	

Для извлечения воды из **мази** предварительно растворяли навеску в смеси растворителей толуола и карбинола в соотношении 7:3. Навеска образца полностью растворялась в предложенном растворителе.

Содержание воды в лекарственных препаратах определяли на трех уровнях концентрации вещества в диапазоне 70-130% от уровня, принятого за 100% (табл. 22). Относительное стандартное отклонение не превышает 0,08. Было проведено определение в 6 навесках на среднем уровне концентрации. Относительная ошибка среднего составила 5,79-7,99%.

Таблица 22

Результаты кулонометрического определения воды в мази на трёх уровнях концентрации препарата (n=5, P=95%)

Лекарственный препарат	Содержание препарата в пробе, %	Найдено воды, %	S_r
Эритромицина мазь	5,0 7,0 10,0	0,073±0,005 0,071±0,007 0,074±0,005	0,05 0,08 0,05
Эритромицина мазь глазная	5,0 7,0 10,0	0,059±0,005 0,056±0,003 0,052±0,003	0,06 0,04 0,04

Проведена валидационная оценка методики кулонометрического определения воды в препарате «Эритромицина мазь глазная 10000 ЕД/г». Результаты определения воды на трех уровнях концентрации мази во вводимой пробе свидетельствуют о специфичности предложенной методики (табл.22).

Исследование зависимости между найденным и рассчитанным содержанием воды в пробе показало, что она имеет линейный характер и описывается уравнением: $y=a+bx$, где a=-0,028, b=1,021. Рассчитанное значение коэффициента линейной корреляции составляет 0,9983.

Правильность предлагаемой методики оценивали методом добавок путем внесения в мазь эритромицина стандарта воды с добавлением известного количества стандарта воды HYDRANAL®–Check Solution 1.00 в количестве 25, 50 и 75% от найденного содержания воды в мази эритромицина. Методика соответствует критерию «правильность» (табл. 23).

Таблица 23

Результаты определение содержания воды в мази эритромицина с добавками стандарта воды на трех уровнях концентрации воды

Содержание воды в мази	Добавлено воды в % от найденного	Теоретически рассчитанное содержание воды в пробе, %	Найденное содержание воды в пробе, %	Правильность, %	Метрологические характеристики
0,055%	+25%	0,070 0,074 0,068	0,068 0,075 0,066	97,14 101,35 97,06	$X_{ср}$ = 99,22 $\Delta X_{ср}$ = 1,81 S = 2,3575 S_r = 0,02 $S_{x\,ср}$ = 0,7858 $\varepsilon_{ср}$,% = 1,83
	+50%	0,081 0,079 0,084	0,083 0,077 0,082	102,47 97,47 97,62	
	+75%	0,105 0,110 0,102	0,107 0,111 0,099	101,90 100,91 97,05	

Прецизионность оценивали определяя повторяемость (сходимость) предлагаемой методики по результатам 6 определений на одном уровне концентрации (табл. 24). Методика валидна по показателю «прецизионность».

Таблица 24

Метрологическая оценка определения содержания воды в глазной мази эритромицина (P=95%)

Найденное содержание воды, X_i, %	$X_{ср}$	$\Delta X_{ср}$	S	S_r	$\varepsilon_{ср}$,%
0,051; 0,055; 0,057; 0,059; 0,056; 0,052	0,055	0,003	0,0030	0,055	5,79

На основании полученных данных и разработанных методик для определения воды в субстанциях и лекарственных формах антибактериальных средств кулонометрическим титрованием по Фишеру, разработанных на кафедре фармацевтической химии с курсами аналитической и токсикологической химии ГБОУ ВПО «Казанский государственный медицинский университет» Минздрава России, был предложен проект изменения к ОФС «Определение воды».

ВЫВОДЫ

1. Проведённый сравнительный анализ прямых и косвенных методов определения содержания воды показал актуальность применения прямого и селективного метода Фишера для определения воды в субстанциях и лекарственных формах антибактериальных средств.

2. Сравнение волюмометрического и кулонометрического вариантов титрования по Фишеру показало перспективность применения кулонометрического метода определения воды в антибактериальных лекарственных средствах ввиду отсутствия необходимости стандартизации титранта, простоты проведения эксперимента, доступности отечественного оборудования и реактивов.

3. Разработаны унифицированные методики кулонометрического определения воды в субстанциях ампициллина и оксациллина (в виде натриевой соли), ампициллина и амоксициллина (в виде тригидрата); цефазолина, цефуроксима, цефотаксима, цефоперазона, цефтриаксона (в виде натриевых солей), цефепима, эритромицина, моксифлоксацина гидрохлорида и левофлоксацина гемигидрата, которые рекомендованы для включения в раздел нормативной документации «Вода». Относительное стандартное отклонение не превышает 0,02.

4. Валидационная оценка методик кулонометрического определения воды в субстанциях ампициллина тригидрата, цефотаксима натрия, эритромицина и левофлоксацина гемигидрата показала их специфичность (независимо от содержания вещества в пробе определяется одинаковое содержание воды), линейность (коэффициент линейной корреляции не менее 0,9969), правильность (отношение найденного количества воды к введенному в процентах, которая входит в доверительный интервал 97,5–102,5%) и прецизионность (относительное стандартное отклонение составило 0,007−0,020).

5. Разработаны унифицированные методики кулонометрического определения воды в лекарственных формах антибактериальных средств: порошок для приготовления раствора для внутривенного и внутримышечного введения ампициллина, ампициллина/сульбактама, цефазолина, цефуроксима, цефотаксима, цефоперазона, цефтриаксона, цефепима, таблетки ампициллина, амоксициллина/клавулановой кислоты, капсулы амоксициллина, гранулы для приготовления суспензии для приёма внутрь амоксициллина, порошок для приготовления суспензии для приёма внутрь амоксициллина/клавулановой кислоты, мазь эритромицина и мазь глазная эритромицина, которые рекомендованы для включения в раздел нормативной документации «Вода». Относительное стандарное отклонение составило 0,06-0,08 при содержании воды 0,06-0,07% и составило 0,01-0,03 при содержании воды 0,7-12,5%.

6. Валидационная оценка методик кулонометрического определения воды в порошке для приготовления раствора для внутривенного и внутримышечного введения цефотаксима, таблетках амоксициллина/клавулановой кислоты, порошке для приготовления суспензии для приёма внутрь амоксициллина/клавулановой кислоты и глазной мази эритромицина показала их специфичность (независимо от содержания вещества в пробе определяется одинаковое содержание воды), линейность (коэффициент линейной корреляции не менее 0,9970), правильность (отношение найденного количества воды к введенному в процентах, которая входит в доверительный интервал 97,5–102,5%) и прецизионность (относительное стандарное отклонение составило 0,012-0,06).

7. Методики, разработанные на отечественном кулонометре «Эксперт-007» с использованием отечественных реактивов, отличаются хорошей воспроизводимостью результатов, точностью и позволяют уменьшить расход реактива Фишера по сравнению с волюмометрическим титрованием.

8. Предложен проект изменения к ОФС «Определение воды», гармонизированный с международными требованиями. Предложено кулонометрическое определение воды в лекарственных формах: порошок для приготовления раствора для внутривенного и внутримышечного введения, таблетки, капсулы, порошок/гранулы для приготовления суспензии для приёма внутрь, мази.

Перспективы дальнейшей разработки темы диссертационного исследования. Предлагаемый принцип унификации и валидации методик кулонометрического титрования по Фишеру рекомендован для определения содержания воды в других группах лекарственных средств.

СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Абдуллина, С.Г. Применение кулонометрического титрования для определения воды в аминопенициллинах / С.Г. Абдуллина, Е.А. Калинкина // **Современные проблемы науки и образования**. – 2014. – № 5; URL: http://www.science-education.ru/119-14610 (дата обращения: 24.09.2014).
2. Абдуллина, С.Г. Валидационная оценка методики кулонометрического определения воды в субстанции эритромицина / С.Г. Абдуллина, Е.А. Калинкина // **Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии.** - 2014. – №11. – С. 32–35.
3. Абдуллина, С.Г. Определение воды в ингибиторозащищённых пенициллинах методом гальваностатической кулонометрии / С.Г. Абдуллина, Е.А. Калинкина // **Фундаментальные исследования**. – 2015. – №2-2. – С. 315–318.
4. Абдуллина, С.Г. Кулонометрическое определение воды в субстанциях антибиотиков группы цефалоспоринов / С.Г. Абдуллина, Е.А. Калинкина // **Фармация**. – 2015. – №2. – С. 10–12.
5. Калинкина, Е.А. Кулонометрическое определение воды в субстанции моксифлоксацина гидрохлорида / Е.А. Калинкина // 87-ая Всероссийская научно-практическая конференция студентов и молодых ученых, посвященной 155-летию со дня рождения Л.О. Даркшевича (Казань, 21-22 марта 2013 года). Материалы конференции. – Казань, 2013. – С. 343.
6. Калинкина, Е.А. Определение воды в субстанции эритромицина методом гальваностатической кулонометрии / Е.А. Калинкина, С.Г. Абдуллина // Роль провизора в современной системе здравоохранения. Материалы конференции. (Омск, 16-17 мая 2013 года) – Омск, 2013. – С. 75–77.
7. Калинкина, Е.А. Разработка способов кулонометрического определения воды в субстанциях бета-лактамных антибиотиков/ Е.А. Калинкина// 88-ая Всероссийская научно-практическая конференция студентов и молодых ученых, посвященная 200-летию Казанского государственного медицинского университета (Казань, 22 марта 2014 года). Сборник тезисов. – Казань, 2014. – С. 397.
8. Калинкина, Е.А. Разработка методики кулонометрического определения воды в мази эритромицина / Е.А. Калинкина, С.Г. Абдуллина // Сборник материалов II Всероссийской научно-практической конференции с международным участием "Инновации в здоровье нации" (Санкт-Петербург, 17 ноября 2014 года). – СПб.: Изд-во СПХФА, 2014. – С. 366–369.