

ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
ВЫСШЕГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ
КАЗАНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

КАЛИНКИНА ЕЛЕНА АЛЕКСАНДРОВНА

**ИССЛЕДОВАНИЕ ВОЗМОЖНОСТИ КУЛОНОМЕТРИЧЕСКОГО
ОПРЕДЕЛЕНИЯ ВОДЫ В АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫХ
ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВАХ**

14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия

Д и с с е р т а ц и я

на соискание учёной степени
кандидата фармацевтических наук

Научный руководитель:
Доктор фармацевтических наук,
доцент Абдуллина С.Г.

Казань – 2015

ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение.....	4
Глава 1. Методы определения содержания воды (обзор литературы).....	9
1.1. Метод высушивания.....	10
1.2. Химические методы	14
1.2.1. Газометрический метод.....	14
1.2.2. Волюмометрическое титрование по методу Карла Фишера.....	15
1.3. Электрические и электрохимические методы.....	17
1.3.1. Диэлькометрия.....	17
1.3.2. Кулонометрическое титрование по Фишеру.....	21
1.3.3. Кулонометрия в пленке пятиоксида фосфора.....	23
1.3.4. Вольтамперометрия.....	24
1.4. Методы разделения.....	26
1.4.1. Метод дистилляции.....	26
1.4.2. Хроматография.....	29
1.5. Оптические методы.....	32
1.5.1. Инфракрасная спектроскопия.....	32
1.5.2. Спектрофотометрия.....	35
1.5.3. Флюориметрия.....	36
1.6. Ядерно-физические методы.....	38
Выводы по главе 1.....	39
Экспериментальная часть.....	41
Глава 2. Объекты и методы исследования.....	41
2.1. Объекты исследования.....	41
2.2. Методы исследования.....	48
Глава 3. Определение воды в фармацевтических субстанциях	
антибактериальных средств.....	53
3.1. Субстанции полусинтетических пенициллинов.....	53
3.2. Субстанции цефалоспоринов.....	62

3.3. Субстанция эритромицина.....	68
3.4. Субстанции фторхинолонов.....	72
Выводы по главе 3.....	76
Глава 4. Определение содержания воды в лекарственных формах антибактериальных средств.....	77
4.1. Порошок для приготовления раствора для внутримышечного и внутривенного введения.....	77
4.2. Таблетки.....	84
4.3. Капсулы.....	90
4.4. Порошок/гранулы для приготовления суспензии для приёма внутрь.....	94
4.5. Мази.....	100
4.6. Проект изменения к общей фармакопейной статье «Определение воды».....	104
Выводы по главе 4.....	105
Общие выводы.....	107
Список использованных сокращений.....	109
Список литературы.....	110
Приложения.....	124

ВВЕДЕНИЕ

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. и др., 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), тиамин 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.

Для достижения поставленной цели необходимо решить следующие **задачи:**

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 (КФИ-Анод). 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 лекарственных средств на отечественном кулонометре «Эксперт-007» (ООО «Эконикс-эксперт», г. Москва) 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 актами 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, рН-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 стерильного, 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) с бипотенциометрической индикацией конечной точки титрования.

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

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 проведенного 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 волномеретрического 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» (Приложение А) и акты внедрения (Приложение Б).

Глава 1. Методы определения содержания воды (обзор литературы)

Существуют различные классификации методов определения содержания воды в зависимости от измеряемых параметров, их природы, самих применяемых методов и других факторов.

Прежде всего, методы разделяют на прямые и косвенные. В прямых методах измеряется непосредственно влага вещества (метод высушивания, метод Фишера, дистилляция). В косвенных методах определение проводится по параметру, который связан с содержанием влаги в веществе (инфракрасная спектроскопия, диэлькометрия), поэтому косвенные методы требуют предварительной калибровки по прямым методам [7, с. 26]. Косвенные методы, в свою очередь, разделяют на методы, основанные на электрических (кондуктометрия, диэлькометрия) или неэлектрических свойствах (инфракрасная спектроскопия, метод ядерно-магнитного резонанса) вещества [7, с. 29].

Ещё одна классификация основана на разделении самих методов на инструментальные, в котором измеряют сигнал, пропорциональный содержанию воды, и неинструментальные, в которых измеряют массу, плотность и другие показатели [31, с. 9].

Можно использовать классификацию, когда одна группа методов измеряет физические параметры при изменении содержания воды в самом веществе: массу (гравиметрия), плотность, вязкость, поверхностное натяжение, диэлектрическую проницаемость (диэлькометрия), электропроводность (кондуктометрия), окислительно-восстановительный потенциал, теплопроводность и т.д., а другая — основана на использовании химических и физико-химических свойств самой воды, например, поглощения электромагнитного излучения в УФ- и ИК-диапазоне, измерением сигналов ЯМР и т.д. [31, с.7].

Чаще всего методы принято классифицировать по природе измеряемого параметра. Тогда методы классифицируют на химические (метод Фишера, кальцийгидридный метод), электрохимические (кулонометрическое титрования, кулонометрия в пленке пятиоксида фосфора, кондуктометрия, потенциометрия),

физико-химические (хроматография, азеотропная дистилляция), физические (гравиметрия, диэлькометрия), оптические (инфракрасная спектроскопия, спектрофотометрия) и ядерно-физические (метод ядерного магнитного резонанса и т.д.) [31, с. 8].

В данном обзоре мы будем придерживаться классификации методов на основе измеряемых параметров и природы самих параметров. Метод высушивания выделен нами отдельно, так как с одной стороны, он является физическим методом, так как измеряется физический параметр (масса) при изменении содержания влаги, с другой стороны, метод высушивания можно отнести к химическим методам анализа, в частности, косвенному методу гравиметрии [53].

1.1. Метод высушивания

Метод определения содержания воды, основанный на уменьшении массы вещества при высушивании является первым, предложенным для определения содержания воды и летучих веществ в фармацевтических субстанциях. Уже в Государственной Фармакопее V 1902 года издания этот метод рекомендовался для контроля качества танина [19]. До настоящего времени метод высушивания не утратил своего актуального значения и включён во все национальные фармакопеи для проведения испытания «Потеря в массе при высушивании» [22, 58, 67, 77, 96, 109, 110]. Государственная Фармакопея XII рекомендует этот метод, например, для субстанций ацетилсалициловой кислоты, верапамила гидрохлорида, папаверина гидрохлорида [18].

В недавно утвержденной приказом МЗ РФ №768 от 21 ноября 2014 года ОФС «Потеря в массе при высушивании» [44] описано два способа проведения этого испытания. Способ 1: в сушильном шкафу в пределах температурного интервала, указанного в фармакопейной статье или нормативной документации до достижения постоянной массы, при отсутствии других указаний пробу сушат до постоянной массы при температуре от 100 до 105 °С. Способ 2: высушивание

проводят в эксикаторе над фосфора (V) оксидом одним из следующих методов: при атмосферном давлении и комнатной температуре; в вакууме при комнатной температуре или температуре, указанной в ФС или НД; в «глубоком вакууме»: при давлении не более 0,1 кПа при температуре, указанной в фармакопейной статье или НД [44]. Эти способы не ограничивают использование иных условий, указанных в фармакопейной статье или нормативной документации. Такие же способы предлагаются в Европейской Фармакопее [67] и Фармакопее США [110].

Дополнительно в Фармакопее США для определения содержания воды в антибиотиках предлагается специальная колба с капилляром, предназначенная для высушивания в вакууме, например, для субстанций паромидина сульфата, пенициллина, полимиксина В сульфата, стрептомицина сульфата, тетрациклина гидрохлорида и т.д. [110].

В настоящее время с целью сокращения времени высушивания и упрощения отнимающей много времени процедуры, состоящей из взвешивания, повторного взвешивания и расчёта разницы в массе, для определения содержания воды и летучих веществ используются термовесы. Термовесы представляют собой комбинацию автоматических весов и специального модуля с нагревательным элементом. В качестве нагревательного элемента используют инфракрасную [78] или галогеновую лампу [75], а также микроволновое излучение [55, 95]. Такие приборы понижают среднее время сушки до 5–50 минут, работая при этом с точностью, сравнимой с печной сушкой. Однако за один раз можно проанализировать только одну пробу. Метод широко применяется для определения воды в пестицидах [118], пищевых [79] и фармацевтических продуктах, таких как вспомогательные вещества таблеточной массы [55] и их композиции [63].

Описано определение потери в массе при высушивании с использованием микроволнового излучения в картофельном и кукурузном крахмале, гуаре, агаре, микрокристаллической целлюлозе и гипромеллозе. Результаты, полученные с использованием предлагаемой методики и обычным методом высушивания, сопоставимы. Относительное стандартное отклонение для разработанной

методики составляет от 0,1 до 1 % (для 6 повторностей). Время анализа было снижено в 2,4–15 раз по сравнению с обычным методом высушивания [55].

В национальных фармакопеях метод термогравиметрии для определения воды встречается редко, и используется в основном для определения потери в массе при высушивании дорогих субстанций - в связи с возможностью использования маленьких навесок испытуемого образца. Например, в ЕФ для кальципотриола безводного (навеска 5 мг), винкристина сульфата (навеска 3 мг), винбластина сульфата (навеска 3 мг), виндезина сульфата (навеска 9 мг) [67]. В Фармакопее США метод термогравиметрии используется для проведения испытания «потеря в массе при высушивании» в субстанции бромкриптина мезилата (навеска 10 мг), кальция глюцептата (навеска 10–25 мг), имипенема (навеска 5–10 мг), парикальцитола (навеска 8 мг), винбластина сульфата (10 мг), винкристина сульфата (навеска 10 мг) в качестве основного метода, и как дополнительный к определению воды волюмометрическим (объёмным) титрованием по Фишеру для азитромицина (навеска 10 мг) и к определению воды кулонометрическим титрованием по Фишеру для риседроната натрия (7–15 мг) [110]. Однако, из-за такой малой навески могут возникать проблемы, связанные с однородностью взвешиваемого вещества, к тому же требуется особая чувствительность весов (порядка 1 мкг). Преимуществами является экспрессность метода, малая навеска (3–10 мг в зависимости от прибора), а также возможность подключения к прибору устройства, например, масс-спектрометра, для анализа летучих веществ [82, 115].

В работе Н. Komatsu [82] рассматривается определение содержания воды в различных препаратах: динатрия эдетат, глицирризиновая кислота, натрия тартрат, дексаметазона сульфобензоат, строфантин G, тиамин гидрохлорид, метотрексат, ланатозид C, гидрокортизона натрия фосфат, фолиевая кислота, бетаметазон фосфат натрия, десланозид, цианокобаламин, лизоцим и винбластина сульфат. Результаты, полученные методом термогравиметрии, сравнивались со значениями, полученными методом высушивания и кулонометрическим титрованием по Фишеру. Определение содержания воды проводили

на термогравиметре TGA-50 (Shimadzu, Япония), совмещенном с масс-спектрометром GCMS-QP1100EX (Shimadzu, Япония) для идентификации летучих веществ, методом высушивания по методике Фармакопеи Японии XV и на кулонометре AQ-6 Karl-Fisher (Hiranuma, Япония). Полученные результаты показали, что метод термогравиметрии показывает сопоставимые значения с методом Фишера в тех препаратах, где летучим компонентом является только вода. Кроме того, метод термогравиметрии может быть использован для некоторых лекарственных средств, таких как лизоцим и динатриевая соль этилендиаминтетрауксусной кислоты, для которых метод Фишера не применяется из-за нерастворимости препаратов в реактиве Фишера [82].

В исследовании S. Yazgan и др. термогравиметрический анализ, совмещенный с масс-спектроскопией (ТГА-МС), был использован для определения причин различий между результатами метода высушивания и метода Фишера для пищевых продуктов. Определение потери в массе при высушивании проводили в вентилируемой печи (Heraeus Instruments, Германия) при 102 °С в 6 повторностях. Содержание воды измеряли с помощью объемного титрования по Фишеру на титраторе 758 KFD Titrino (Metrohm, Швейцария) в 10 повторностях. Термогравиметрический анализ был выполнен на приборе SetSys 16/18 TG-DTA (Setaram, Франция), связанном с масс-спектрометром Thermostar (Pfeifer Vacuum, Германия). Результаты показывают, что сухое цельное и обезжиренное молоко дают близкие значения в обоих методах. Для порошка капусты между потерей массы при высушивании и содержанием воды определена разница почти в 10 %, что обусловлено его высокой чувствительности к нагреванию и было подтверждено данными ТГА-МС-анализа. То же можно сказать об остальных образцах (рисовая мука, сушеная морковь, брюссельская капуста, овощная смесь, сушеные яблоки, пектин, крахмал, желатин, целлюлоза, казеин). Исследования ведутся для оптимизации условий высушивания с использованием ТГА-МС-анализа для получения сопоставимых результатов метода Фишера и высушивания [115].

Таким образом, несмотря на недостатки метода высушивания, такие как неселективность по отношению к воде, длительность и рутинность анализа, он остается эталонным методом для определения содержания воды наряду с методом Фишера.

1.2. Химические методы

Химические методы определения воды основаны на химическом взаимодействии воды с определенным реагентом, вступающим в реакцию только с водой. К химическим методам определения влаги относится метод Карла Фишера, газометрический метод с использованием карбида и гидрида кальция или других реагентов [31, С.12].

1.2.1. Газометрический метод

Газометрический метод основан на измерении количества выделившегося газа (водорода, ацетилена) при взаимодействии с водой, содержащейся в образце, специфического реагента, например, гидрида или карбида кальция, магнийорганических соединений (реактивы Гриньяра), алюмогидрида лития и т.д. [31, С.12-13]. Наибольшее распространение получил кальцийкарбидный метод в сочетании с газовой хроматографией для определения влажности в природных газах [68, 86].

В работе Н. Knight изучена возможность определения воды кальцийкарбидным методом в углеводородах. Объем выделившегося ацетилена определялся с помощью газожидкостной хроматографии. Точность определения воды была определена для образцов, содержащих менее 3 ppm воды. Повторяемость для концентрации воды 20 ppm и 0,3 ppm составила 7 и 15%, соответственно [81].

Бланк Т.А. и Экспериандова Л.П. [8] показали возможности использования кальцийгидридного метода на примере определения воды в этилацетате. Определение проводили на газометрической установке с реакционной колбой по Хмельницкому на трех концентрациях воды 0,33; 4,2 и 9,2 мг/мл. Показано, что

при содержании воды в этилацетате свыше 4,2 мг/мл, результаты кальцийгидридного метода и титрования по методу Фишера сопоставимы. Однако в области малых содержаний воды метод дает завышенные результаты. Время реакции составило от 40 мин до 3 ч [8].

Таким образом, газометрический метод не приобрел широкого распространения из-за существенных недостатков: выделения разного количества газа в зависимости от условий проведения реакции (температуры, скорости перемешивания), длительности реакции и ограниченности объектов, пригодных для анализа этим методом [31, с. 19].

1.2.2. Волунометрическое титрование по методу Карла Фишера

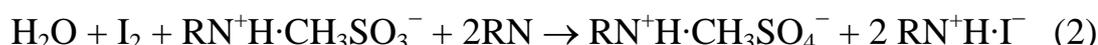
За последние 80 лет титрование по Карлу Фишеру стало ведущим аналитическим методом для определения содержания воды в различных химических [16], пищевых [14], нефтяных [15] и фармацевтических продуктах [43]. В 1935 году Карл Фишер опубликовал свой «Новый метод определения воды...» [71]. С тех пор проведено большое количество исследований по модификации предложенного Фишером реактива и его применения для определения воды в конкретных объектах [91, 102, 103].

В основе метода лежит химическая реакция компонентов реактива Фишера с водой. Классический реактив К. Фишера получают смешением двух растворов: № 1 – оксид серы (IV) в пиридине, № 2 – йод в метаноле. При смешивании компонентов реактива Фишера образуется метилсульфит пиридиния $RN^+H \cdot CH_3SO_3^-$:



где RN — пиридин [45, 100].

В присутствии воды метилсульфит пиридиния окисляется йодом до метилсульфата пиридиния:



Исследование кинетики и механизма реакции Фишера показали, что максимальная скорость реакции наблюдается при pH=6, когда почти весь диоксид

серы находится в виде метилсульфит-иона. Присутствие пиридина необходимо для создания оптимальной рН среды 5,5–8 [113]. Часто пиридин заменяют на другие, менее токсичные основания, например, имидазол [104].

Титр реактива Фишера перед использованием определяют по стандарту воды, в качестве которого используют натрия тартрат дигидрат (с содержанием воды $15,66 \pm 0,05$ %) [16, 51] или воду (точная навеска по разности) [22, 110].

В настоящий момент волюмометрическое титрование по Фишеру включено в Британскую [58] и Европейскую фармакопею [67] и национальные фармакопеи США [110], Японии [109], Китая [96], Индии [77] и других стран.

В недавно утвержденной приказом МЗ РФ №768 от 21 ноября 2014 года отечественной ОФС «Определение воды» приводятся варианты прямого и обратного титрования с амперометрическим определением конечной точки титрования (к.т.т.). Допускается определение к.т.т. визуально по изменению окраски от жёлтой до красновато-коричневой. Метод рекомендован НД для определения воды в субстанциях азитромицина [18, С.581], лизиноприла [18, С. 598], а также в лекарственных формах: капсулы (пироксикам, линкомицин), таблетки ампициллина, порошок для приготовления раствора для приема внутрь (ставудин), порошок для приготовления суспензии для приема внутрь (амоксициллин), порошок для приготовления раствора для инъекций (ампициллин, цефотаксим), мазь эритромицина и т.д. [50].

В исследовании Lambert P.A. и др. проведено сравнение показателей качества оригинального препарата Роцефина и 34 дженерических препаратов цефтриаксона. Содержание воды определяли методом волюмометрического титрования по Фишеру с использованием реактивов Hydranal (Riedel de Haen, Германия). Установлено, что в 4-х препаратах содержание воды выходит за нормируемые пределы, эти же препараты не соответствовали требованиям НД по показателю "среднее значение массы сухого вещества" [83].

В работе E. Tavşar показана возможность спектрофотометрического обнаружения к.т.т. по методу К. Фишера для определения содержания воды в окрашенных образцах. Объектом исследования служил экстракт коры белой

пихты, который растворяли в полиэтиленгликоле. Реакция в этом случае происходит в герметичной кювете, детектирование проводится при 520 нм на спектрофотометре Perkin Elmer Lambda Bio+ (Perkin Elmer, США). К.т.т. определялась по графику зависимости интенсивности поглощения от объема титранта. Метод отличается соответствующей воспроизводимостью (относительное стандартное отклонение 4,3%), точностью и линейностью (коэффициент корреляции $R=0,997$) [108].

Несмотря на все достоинства метода, он имеет ограничения, связанные с окислением анализируемых образцов йодом. Возможность преодоления этого недостатка была показана в работах для субстанций аскорбиновой кислоты [106], цистеина [101], α -монотиоглицерола и таблеток каптоприла [105], с помощью последовательного окисления сначала анализируемого вещества, а затем определения воды. Другой вариант – блокирование окисляемой группы ($-SH$, $-S-$) предварительным взаимодействием со специфическим реактивом, например, N-этилмалеинимидом [110, с. 2433].

Таким образом, определение воды по методу Карла Фишера по праву считается эталонным методом определения воды за счёт его селективности и отсутствия необходимости построения калибровочных графиков.

1.3. Электрические и электрохимические методы

Электрические и электрохимические методы анализа основаны на изменении электрических (диэлектрическая проницаемость) или электрохимических параметров (количество электричества) в зависимости от содержания воды в образце.

1.3.1. Диэлькометрия

В основе диэлькометрического метода определения содержания воды лежит зависимость диэлектрической проницаемости от концентрации воды в исследуемом объекте. Необходима предварительная градуировка прибора путем

измерения диэлектрической проницаемости эталонов с известным содержанием воды [54].

Разработаны стандарты определения влажности строительных материалов [17], нефти и нефтепродуктов [15] диэлькометрическим методом. Для нефти – с применением влагомеров, состоящих из ёмкостных датчиков и измерительных блоков, преобразующих изменения электрической ёмкости датчика, вызываемые изменением влажности эмульсии в выходной сигнал, а для строительных материалов – электронного влагомера ВСКМ-12 или других приборов, отвечающих требованиям ГОСТ [15].

Бланк Т.А. с сотрудниками предложили к цифровому измерителю LCR (частота измерений – 1 МГц, амплитуда сигнала – 0,25 В) марки Е7-12 (г. Минск, Белоруссия) модифицированную ячейку для определения содержания воды в органических растворителях. Наилучшая чувствительность ячейки достигается увеличением площади электродов и уменьшением зазора между ними, цилиндрической геометрией электродов и впрессованностью одного из них в стенку ячейки, позволяющей уменьшить её объём, что важно при малом количестве исследуемой пробы. Градуировку осуществляли при помощи титриметрического метода Фишера. Полученные экспериментальные зависимости диэлектрической проницаемости от концентрации воды в метаноле при 18 °С и в этаноле при 20 и 27 °С имеют линейный характер, коэффициент линейной корреляции составляет 0,999; 0,9998 и 0,998, соответственно. При определении влажности спиртов в диапазоне 0-1000 мг воды/мл относительное стандартное отклонение изменяется в интервалах 0,003-0,006 для метанола и 0,004-0,02 для этанола [10].

Разновидностью диэлькометрического метода являются измерения влажности твердых и сыпучих материалов и жидкостей в диапазоне сверхвысоких частот, в котором изменения диэлектрических свойств материала оцениваются по его взаимодействию с радиоволнами дециметрового, сантиметрового и миллиметрового диапазонов [7, С. 129]. Значение комплексной диэлектрической проницаемости воды зависит от частоты, максимум дисперсии приходится на

диапазон 1–10 ГГц [46]. Существующие СВЧ-методы классифицируются на: методы свободного пространства, в которых измеряют амплитуду и (или) фазу прошедшего или отраженного сигнала; резонаторные; волноводные и зондовые методы [7, С. 130]. Наиболее востребован резонаторный метод измерения, ввиду высокой чувствительности к малому изменению параметров материала [46]. Резонаторные преобразователи обычно основаны на измерении добротности, частоты колебаний или ухода частоты резонатора, частично заполненного влажным материалом [85].

Разработана методика определения влажности α -формы оксида алюминия. Однако полученные результаты обрабатывались с использованием критерия Пагуровой, который применяется для сравнения средних значений в том случае, когда их дисперсии по критерию Фишера значимо (на несколько порядков) отличаются друг от друга. Показано, что диапазон применения методики составляет от 0,22 до 10,06 % содержания воды в образце, в котором определение влажности оперативно и достоверно [11].

В работе Р.Г. Абдеева рассматривается определение влажности кукурузы, клещевины, риса, пшеницы, гороха и подсолнуха на экспериментальном амплитудном СВЧ-влажномере. Показано, что наиболее существенный вклад в суммарную погрешность измерений вносят неоднородность, плотность, температура, распределение влаги по объёму образца и форма связи влаги с материалом [28].

Предложено использование резонаторного СВЧ-влажномера «Микрорадар 114» (ООО "Микрорадар-сервис", г. Минск, Белоруссия) для непрерывного контроля влажности сахара в свёклосохарном производстве. Предложены варианты его установки в технологической линии производства сахара. Абсолютная погрешность измерения влажности готового сахара составила не более 0,1 %. Указанный метод эффективен при сравнительно небольших колебаниях плотности заполнения (в пределах 2,5–3 раза) и относительно узком диапазоне изменения влагосодержания [85].

Изучена возможность применения микроволнового датчика для определения содержания воды в порошках и таблетках в режиме он-лайн. Объектами исследования являлись: микрокристаллическая целлюлоза, магния стеарат, парацетамол, гидроксипропилметилцеллюлоза, калия ацетат, натрия хлорид и магния нитрат. Исследование проводилось на микроволновом анализаторе влажности Sartorius LMA 320 PA (Sartorius Mechatronics, США), оснащенный сенсором LMA 330RE-026, который работает на частоте 2,5 ГГц. Эталонным методом служил метод Фишера: при содержании воды 1–5 % определение проводилось на волюмометрическом титраторе 758 KFD Titrino (Metrohm, Швейцария), при содержании воды 0,2–1 % – на кулонометрическом титраторе 756 KF Coulometer Titrino (Metrohm, Швейцария). В диапазоне 0,5–5% результаты микроволнового резонаторного метода и БИК сходимы, однако микроволновый резонаторный метод позволяет использовать меньшее число образцов для калибровки без сложного хемометрического программного обеспечения [62].

John Austin и др. изучили зависимость содержания влаги от насыпной плотности порошков микрокристаллической целлюлозы и α -лактозы в микроволновом резонаторном методе. Определение проводили с использованием микроволнового сенсора MDA-1000/MDA-1100L (KDC Technology Corporation, США) в частотном диапазоне 600–750 МГц. Правильность определения влаги оценивали сравнением результатов, полученных микроволновым резонаторным методом и методом высушивания. Результаты определения воды в микрокристаллической целлюлозе в диапазоне 0,568–6,163 % воды и в α -лактозе моногидрате в диапазоне 5,59–8,69 % воды не зависели от насыпной плотности в диапазоне 0,280–0,499 и 0,346–0,691 г/см³, соответственно, при использовании предложенной формулы расчетов [111].

Таким образом, важнейшими достоинствами СВЧ-влажномеров являются: возможность бесконтактных измерений (в свободном пространстве, например, на конвейере), высокая чувствительность и неограниченный верхний предел измерений, малое влияние на результаты измерений химического состава

материала. Существенным недостатком является построение градуировочного графика по эталонным образцам с известным содержанием воды, а также учёт влияний при расчетах таких факторов, как плотность, размер гранул, температура образца и т.д.

1.3.2. Кулонометрическое титрование по Фишеру

При кулонометрическом титровании необходимый для реакции К. Фишера йод образуется при анодном окислении йодид-ионов, присутствующих в фоновом электролите [43]:



Образующийся йод реагирует с имеющейся водой и диоксидом серы в присутствии основания фонового электролита (см. раздел 1.2.2). Йод потребляется до тех пор, пока в среде присутствует вода. Избыток йода указывает на достижение к.т.т. Количество оттитрованной воды пропорционально количеству электричества, пропущенному через ячейку.

В настоящий момент метод включен в Европейскую фармакопею и национальные фармакопеи США [110], Японии [109], Китая [96], а также в недавно утвержденную отечественную ОФС «Определение воды» [43]. Метод рекомендован НД для определения воды в субстанциях ламивудина (не более 2,0 %) [110, С. 4051], вазопрессина (не более 8,0 %) [110, С. 5548], ацикловира [109, с. 324], аторвастатина [109, с. 405], кальцитонина [109, с. 494] и т.д.

В работе В. Stojanović и др. изучена возможность кулонометрического определения воды в субстанции клиндамицина. Определение проводили на кулонометре Metrohm 831 KF (Metrohm, Швейцария). Валидационная оценка методики показала ее специфичность, линейность ($R=0,9998$), прецизионность (относительное стандартное отклонение 0,7%), правильность и робастность [66].

Abdul Motalib с сотрудниками провели валидационную оценку кулонометрического определения воды по Фишеру в дозированных лекарственных препаратах для ингаляции. Предложенная методика валидна по показателям: специфичность, линейность ($R=0,9997$), повторяемость ($n=6$,

RSD=6 %), межлабораторная прецизионность (n=12, RSD=7 %), правильность (95–105 %) [87].

Была изучена возможность определения воды кулонометрическим титрованием в субстанциях дротаверина гидрохлорида, тиамин хлорида, арбидола [2], цефалоспоринов [3], моксифлоксацина гидрохлорида [24], β -лактамных антибиотиков [27], эритромицина [1, 25] и его мази [26], в субстанциях и лекарственных формах аминопенициллинов [6] и ингибиторозащищённых пенициллинов [5].

При кулонометрическом определении воды рекомендуется вводить пробу в жидком виде шприцом путём прокалывания силиконовой мембраны. Это позволяет сохранять герметичность системы, тем самым повышая точность и воспроизводимость анализа. Кроме того, ОФС «Определение воды» допускает введение твердых проб при соблюдении мер по предотвращению поступления влаги из атмосферного воздуха (работа в атмосфере сухого инертного газа) и использование испарителя для извлечения влаги из образца [43].

Кулонометры, совмещенные с испарителями, могут применяться для определения воды в веществах, реагирующих с компонентами реактива Фишера или с неизвестным химическим поведением. Это преимущество показано в работе [76]. Однако, такой вариант метода даёт заниженные результаты при определении воды в кристаллогидратах, так как температура нагревания в печи обычно составляет 250 °С, и её недостаточно для испарения кристаллизационной воды.

Подробный обзор по применению волюмометрического и кулонометрического титрования, использованию реактивов, оборудования представлен в работе [4].

Таким образом, кулонометрическое титрование является вариантом определения воды по методу Фишера, однако, имеет существенные преимущества перед волюмометрическим титрованием: малый расход реактивов, возможность проведения до 100-150 титрований в одной ячейке без смены фонового электролита, простотой проведения эксперимента, экспрессностью и хорошей воспроизводимостью, отсутствием необходимости стандартизации титранта [4]. В

настоящий момент кулонометрическое определение воды по Фишеру всё чаще используется как арбитражный метод при разработке новых методов определения воды, таких как инфракрасная спектроскопия [92], вольтамперометрия [119], хроматография [94], рассмотренных в подглавах 1.3.4, 1.4.2, 1.5.1.

1.3.3. Кулонометрия в плёнке пятиоксида фосфора

Принцип действия кулонометрических влагомеров един: пары воды, выделяющиеся из образца, под действием высокой температуры, переносятся газом-носителем в кулонометрическую ячейку, где происходит гидролиз пятиоксида фосфора до метафосфорной кислоты, которую впоследствии электрохимически снова разлагают до пентаоксида фосфора. Содержание воды находят по количеству электричества, израсходованного на электрохимический процесс. Оба процесса обратимы и позволяют непрерывно определять влажность [31, с. 115].

Автором Hinz D. проведена оценка пяти различных методов для определения воды: метод высушивания, кулонометрия в пленке пятиоксида фосфора, ТГА в сочетании с ДСК, волюмометрическое титрование по Фишеру и метод Фишера с печью. В качестве образцов использовали пиперазина гексагидрат, трифенилфосфин, магния сульфат гептагидрат, кромазил, стандарт воды для печи Hydranal-Water standart KF-oven (содержание воды 5,55 %) и производное флюориненуклеозида. Кулонометрическое определение в пленке пятиоксида фосфора проводили на приборе WDS-400 (Sartorius, Германия). Результаты определения содержания воды в кромазиле, магния сульфате и стандарте воды Hydranal-Water standart KF-oven были сопоставимы с результатами определения по методу Фишера, в трифенилфосфине - с результатами метода Фишера с печью (субстанция реагирует с компонентами реактива Фишера при волюмометрическом титровании). Определение содержания воды в пиперазине и производное фторнуклеозида не удалось провести в связи с загрязнением датчика этими веществами [76].

В работе Иголина Н.Г. описано определение содержания воды в полимерных композиционных материалах (органопластике, базальтопластике, стеклопластике и углепластике) на кулонометрическом влагомере 903 (DuPont, США). Газом-носителем служил азот. Время эксперимента составило от 30 до 75 минут [23].

В настоящий момент выпускаются влагомеры ВТМ-МК (Электронприбор, Россия), предназначенные для определения массовой доли влаги в трансформаторном масле (Госреестр №35935-07), влагомер LMA 400 PE (Sartorius, Германия) предназначенный для определения влаги в покрытиях сварочных электродов, наполнителях порошковых и металлопорошковых проволок, флюсов сварочных и др. с диапазоном измерения 0,01–7,0 % (Госреестр №44155-10).

Таким образом, преимуществом метода кулонометрического определения воды в плёнке пятиоксида фосфора является количественное определение различных типов воды (поверхностная, кристаллизационная) в зависимости от температуры выпаривания. Недостатки метода – взаимодействие некоторых компонентов с пентаоксидом фосфора, например, этанола [76].

1.3.4. Вольтамперометрия

В основе инверсионной вольтамперометрии лежит выделение определённого вещества, например, производных хинона, электролизом на графитовом или стеклоуглеродном электроде, с ртутной пленкой или без, с последующим анодным растворением в присутствии воды [114, 119].

Предварительное концентрирование осуществляется за счет перевода определяемого компонента из большого объема раствора с малой концентрацией на поверхность или в малый объем электрода. Перевод определяемого компонента из раствора на поверхность или в объем электрода может быть осуществлен за счет протекания соответствующей электрохимической реакции или за счет процесса адсорбции. После накопления на поверхности или в объеме электрода определяемое вещество подвергается электрохимическому

превращению (восстановлению или окислению), причем этот процесс можно проводить в разных режимах [52].

Изучена возможность определения воды в ионной жидкости 1-этил-3-метилимидазолия тетрафторборате электрохимическим и ИК-спектроскопическим методами. Электрохимические измерения проводились на потенциостате PAR283 (Cypress Systems / ESA). Рабочими электродами служили платиновый и стеклоуглеродный электроды диаметром 1 мм. Электродом индикации служил стеклянный хлорсеребряный электрод. Аналитический сигнал наблюдали при +2,4 В. Полученные результаты линейны ($R=0,9989$) до 40 мМ воды. Спектры снимали на ИК-Фурье спектрофотометре Nicolet Magna 860 (Thermo Scientific, США). Оптическая плотность полосы на 3550 см^{-1} линейно возрастает с концентрацией до 14 мМ, после чего появляется полоса в 3650 см^{-1} . Предел обнаружения воды составил 1 мМ для обоих методов [61].

Zhang L. и сотрудники предложили метод вольтамперометрии для определения воды в неводных растворителях, основанный на окислительно-восстановительной реакции производных хинона (тетрахлор-*n*-бензохинона, бензохинона, тетраметил-*n*-бензохинона) в присутствии воды. Циклические вольтамперные кривые снимали на приборе CHI 660A (CH Instruments, США) в растворе ацетонитрила, содержащего 0,10 М тетрабутиламмония перхлората, с тремя стеклоуглеродными электродами и одним платиновым электродом. Для индикации процесса выбран стеклянный-хлорсеребряный электрод. Результаты определения воды в ацетонитриле линейны при использовании тетрахлор-*n*-бензохинона в диапазоне 0,6-60 % ($R=0,9972$), бензохинона в диапазоне 0,04-6 % ($R=0,9989$), тетраметил-*n*-бензохинона в диапазоне 0,03-3 % ($R=0,9902$) [114].

В работе С. Zhao и др. [119] рассмотрено применение катодной инверсионной вольтамперометрии для определения воды в двух апротонных ионных жидкостях (1-*n*-бутил-3-метилимидазола гексафторфосфате, 1-*n*-бутил-3-метилимидазола тетрафторборате), и двух протонных ионных жидкостях (бис-(2-гидроксиэтил)ацетате аммония и триэтиламмония ацетате). Метод основан на реакции окисления золота до оксида золота в присутствии воды.

Вольтамперометрическое определение было проведено на приборе BAS 100B/W (Bioanalytical System, США). Электрохимическая ячейка состояла из трех электродов (платинового, золотого и стеклянного). Измерение проводили при потенциале 2,0 В, время поляризации 120 с. Правильность методики сравнивали с результатами, полученными кулонометрическим титрованием по Фишеру на кулометре 831 KF (Metrohm, Швейцария). Линейность методик была определена методом добавок, коэффициент корреляции составил 0,9914-0,9986. Результаты определения воды в 3-*n*-бутил-3-метилимидазола тетрафторборате, полученные разработанной методикой (1200 ± 100 ppm), сопоставимы с результатами титрования по Фишеру (1340 ± 80 ppm). Отмечено, что метод позволяет определять количество воды в производных карбоновых кислот, где метод Карла Фишера не может применяться из-за побочных реакций этерификации [119].

Таким образом, вольтамперометрия позволяет определять содержание воды в низких концентрациях, но требует предварительной градуировки прибора, к тому же, круг анализируемых веществ ограничен в силу особенностей метода.

1.4. Методы разделения

В данной подглаве мы рассматриваем методы, основанные на отделении воды от других компонентов (метод дистилляции, хроматография).

1.4.1. Метод дистилляции

Метод дистилляции (азеотропной отгонки) один из первых селективных методов определения содержания воды. Еще в 1902 году Хоффман описал метод дистилляции, который был разработан для определения влаги в зерне и зернопродуктах с использованием в качестве перегонных жидкостей нефтяных фракций и толуола [69]. Широкое развитие этот метод получает, в том числе и в фармацевтической области, когда в 1920 году Дин и Старк предложили очень удачную и простую конструкцию приемника-ловушки для определения воды в нефти. Суть метода состоит в измерении воды в калибровочном приёмнике-

ловушке, полученной азеотропной отгонкой исследуемого вещества с органическим растворителем – толуолом или ксилолом [64]. Официально в России для фармацевтических веществ метод Дина и Старка начинает применяться с 1948 года, когда выходит Государственная Фармакопея VIII издания, где этот метод рекомендовался для определения воды в таких препаратах, как, например, крезол (содержание воды не более 1%) [20], в ГФ IX – для дегтя берёзового (влаги не более 0,5%) [21].

Несмотря на более чем 100-летнюю историю, метод дистилляции по сей день включен в Европейскую фармакопею, национальные фармакопеи США, Китая, Индии и России. В ГФ XI метод рекомендуется для определения воды в эфирных маслах [22]. ЕФ предлагает метод дистилляции для определения воды в плодах аниса, листьях болдо, плодах тмина, листьях эвкалипта, плодах фенхеля, корневище имбиря, плодах можжевельника, цветках лаванды и т.д. [67]. Фармакопея США рекомендует метод дистилляции для определения воды в бензоине (не нормируется, но учитывается при количественном определении), оболочке семян подорожника блошного (не более 12,0%) [110].

Проведена сравнительная оценка различных методов определения воды в биомассе методом высушивания при трех различных температурах (80, 105 и 130 °С) методами азеотропной перегонки и сублимационной сушки. В методе дистилляции толуол был заменен ксилолом. Метод высушивания в печи был использован в качестве эталонного метода. Результаты были сопоставимы. Однако определение содержания влаги методами дистилляции и сублимационной сушки в смолистой древесине и мискантусе показало заниженные результаты по сравнению с эталонным методом высушивания в печи. Это объясняется наличием летучих веществ в этих образцах, что даёт завышенные результаты при определении влажности обычным высушиванием [99].

Veillet S. и др. предложили ускоренную методику определения воды методом дистилляции (Дина и Старка). Сокращение времени анализа достигалось путем использования для нагревания микроволновой печи с мощностью 1000 Вт (частота 2,45 ГГц). Определение проводили в образцах лука, чеснока, камамбера,

розмарина, фарша и оливок с навеской 20,0 г. Результаты, полученные ускоренной методикой, сопоставимы с обычным методом дистилляции. Относительное стандартное отклонение составило 3%. Разработанная методика позволяет существенно сократить время анализа со 120 минут до 10 минут [90].

В настоящее время всё больше внимания уделяется поиску новых экологичных растворителей для замены токсичного толуола [70, 73]. В работе Veillet S. и др. для определения воды методом Дина и Старка предложено использовать в качестве растворителя *d*-лимонен. Показано, что лимонен по сравнению с толуолом имеет более высокую температуру кипения 175 °С (против 111 °С), и температуру азеотропной перегонки 97,4 °С (против 84 °С), менее токсичен и может быть регенирирован. Определение воды проводили в образцах лука, моркови, чеснока, моцареллы, фарша, розмарина, лука-порея, шалфея, мяты с использованием в качестве растворителя толуола и *d*-лимонена. Обе методики показали сходимые результаты определения содержания воды. Относительное стандартное отклонение составило не более 1,6 % для толуола и не более 1,3% для лимонена [73].

Также Bertouche S. и сотрудники в качестве альтернативного толуолу растворителя предложили использовать α -пинен. Показано, что α -пинен имеет более высокую температуру кипения 154 °С (по сравнению с толуолом 111 °С) и менее токсичен. Использование α -пинена позволяет сократить время экстракции со 105 мин до 30 мин. Определение воды проводили в семенах кориандра, тмине, луке, чесноке, моркови, луке-порея, оливках, душице и мясном фарше. Результаты, полученные с использованием обоих растворителей, α -пинена и толуола, были сопоставимы. Относительное стандартное отклонение составило не более 1,6 % для толуола и не более 2,3% для α -пинена [70].

Таким образом, применение метода дистилляции ограничивается веществами, которые не вступают в химическую реакцию, не разлагаются при температуре кипения и не дают конденсата, смешивающегося с водой [31, С. 138]. К недостаткам метода относится длительность процедуры порядка двух часов,

большой расход исследуемого вещества (навеска около 10,0–20,0 г) и токсичных растворителей (толуол и ксилол относятся ко 2 классу токсичности [18]).

1.4.2. Хроматография

Существенным преимуществом хроматографических методов анализа по сравнению с другими физико-химическими методами является возможность анализировать многокомпонентные системы не только на наличие и содержание действующих веществ, но и примесей. При применении в хроматографической колонке сорбентов, способных быстро элюировать воду и отделять её от других компонентов, на хроматограмме будут проявляться пики, соответствующие воде. Если предварительно провести калибровку хроматографической системы по стандартным образцам, то можно оценить и её содержание.

R. Nußbaum и др. предложили определять воду в клемизола гидрохлориде, доксициклина хиклате, доксициклине и гатифлоксацине методом газовой хроматографии (ГХ). Хроматографирование проводили при температуре 200 °С на газовом хроматографе Chrompack CP 9000 с детектором по теплопроводности, газ-носитель – гелий (100 кПа), скорость потока – 30 мл/мин. Вещества растворяли в ацетоне и изопропаноле, объём вводимой пробы – 1-5 мкл. В качестве внутреннего стандарта использовали этанол. Результаты линейны в диапазоне 0,1–10% воды в пробе. Прецизионность оценивали по сходимости для образца с содержанием воды 0,5%, относительное стандартное отклонение составило 5,3%. Правильность оценивали сравнением результатов, найденных предложенным методом и волюмометрическим титрованием по Фишеру [97].

О'Keefe и др. проведена валидационная оценка определения воды в растворе метилизобутилкетона и его побочных продуктах синтеза в ацетоне методом ГХ с детектором по теплопроводности. Результаты линейны в диапазоне 0,04–15,2% воды в пробе, коэффициент корреляции 0,9999. Предел количественного определения составляет 0,346%, предел обнаружения – 13 ppm. Правильность оценивали сравнением результатов, найденных предложенным методом и кулонометрическим титрованием по Фишеру. Относительное стандартное

отклонение для образцов с содержанием воды выше предела количественного определения составило менее 0,8%. Для образца с наименьшим содержанием воды 0,04% относительное стандартное отклонение составило 1,1% [94].

Даутов Т.Р. и др. предложили метод газоадсорбционной хроматографии для определения содержания воды в триэтиленгликоле. Анализ проводили на приборе «Кристалл-2000М» с детектором по теплопроводности («Хроматэк», Россия). Стеклянную колонку длиной 1 м и внутренним диаметром 3 мм, заполняли полимерным сорбентом Rogarak Q; температура испарителя – 290 °С, температура детектора – 250 °С; объем вводимой пробы – 5 мкл. Время проведения анализа – 25 минут. Содержание воды рассчитывали по методу внутреннего стандарта, в качестве которого использовали ацетон. Чувствительность и правильность метода сравнивали с методом Фишера. Сходимость, повторяемость и стандартное отклонение методики удовлетворяют требованиям определения содержания воды в диапазоне концентраций от 0 до 3% [30].

Описано определение содержания воды в 50 органических растворителях на трёх колонках, содержащих специфические ионные жидкости: бис-3-гидроксиалкилимидазолполиэтиленгликоль трифталат (НАИМ-PEG), тригональный трипропилфосфоний трифталат (ТТР) и бис-2,3-диметилимидазолполиэтиленгликоль трифталат (DMIM-PEG). Результаты определения сравнивали с результатами, полученными на колонке с коммерческим полиэтиленгликолем и кулонометрическим титрованием по методу Фишера. Содержание воды рассчитывали с использованием внутреннего стандарта (ацетона или ацетонитрила). Показано, что все три колонки могут быть использованы для количественной оценки воды в 38 из 50 растворителей. Однако, наиболее успешно испытания прошли на колонке НАИМ-PEG, которая может быть использована для количественной оценки воды в 47 растворителях, предел обнаружения составил 2 нг воды. Результаты линейны в диапазоне 50-200 нг воды в 1 мл пробы, коэффициент корреляции составил 0,9998, время анализа 3-7 минут. Сообщается, что результаты, полученные разработанной методикой и методом Фишера, сопоставимы [80].

В работе С. Weatherly и др. предложен способ одновременного количественного определения этанола и воды в пиве, вине, ликёре, жидкости для полоскания рта и пищевых добавках методом капиллярной газовой хроматографии с двумя различными детекторами. Определение проводили на газовом хроматографе Agilent 6890N (Agilent Technologies Inc., США) с детектором по теплопроводности и с использованием системы Shimadzu Tracer GC, состоящую из ионизационного детектора барьерного разряда в сочетании с хроматографом Shimadzu GC-2010 Plus и автоинжектором Shimadzu AOC-5000 (Shimadzu Scientific Instruments Inc., Япония). Анализ в обоих случаях проходил на колонке SLB-IL107 - 30 м × 0,25 мм × 0,20 мкм (Supelco, США). Правильность результатов проверяли по стандартным образцам с известным содержанием этанола и воды. Результаты, полученные ГХ с ионизационным детектором барьерного разряда линейны на всех концентрациях воды 0-100% ($R=0,997$). Метод не требует использования внутреннего стандарта, в результате чего время анализа было сокращено до 3 мин [117].

Lillian A. Frink и др. предлагают метод газовой хроматографии в свободном пространстве для обнаружения и количественного определения воды в некоторых фармацевтических субстанциях (аскорбиновая кислота, бупивакаин, карнитин, эфедрин, этилэстрадиол, кетамина гидрохлорид, ибупрофен, лизоцим, пеницилламин, прометазин, пропранолол, рифампицин, скополамин, натрия тартрат дигидрат, тримипрамина малеат, верапамила гидрохлорид, варфарин). Определение проводили на газовом хроматографе 6890N (Agilent Technologies Inc., USA) с детектором по теплопроводности и газовом хроматографе Tracer GC-2010Plus (Shimadzu Scientific Instruments, Япония) с детектором барьерного разряда. Газ-носитель - гелий. Предварительно 1 мг образца растворяли в 400 мг подходящей ионной жидкости (в зависимости от растворимости), нагревали до 40 °С и перемешивали в течение часа. Правильность определения воды сравнивали с методом высушивания и по стандартам для титрования по Фишеру. Результаты методик сопоставимы. Относительное стандартное отклонение составило 0,9% для эфедрина (воды 2,8%) и 1,4% для натрия тартрата дигидрата

(воды 15,9%). Также показано, что оба детектора могут использоваться для определения воды в диапазоне от 0 до 1000 мкг. Детектор барьерного разряда более чувствителен, чем детектор по теплопроводности, однако, имеет большее значение относительного стандартного отклонения линейного отклика (15% против 11%) [72].

Таким образом, преимуществом хроматографического метода является возможность проводить контроль по нескольким показателям при удовлетворительной пригодности хроматографической системы. Однако, для определения содержания воды необходимо использовать внутренний стандарт или предварительно калибровать прибор по стандартным образцам с известным содержанием воды.

1.5. Оптические методы

Оптические методы достаточно широко применяются для определения влаги в лекарственных субстанциях [92], пищевых продуктах [88], неинвазивно в упакованных лекарственных формах [59], а также позволяют контролировать содержание влаги в фармацевтическом производстве при сублимационной сушке [89, 112]. Количественное определение воды оптическими методами анализа основано на изучении зависимости оптической плотности от содержания влаги в веществе.

1.5.1. Инфракрасная спектроскопия

Определение воды методом инфракрасной спектроскопии основано на появлении интенсивных полос поглощения воды в ближней области спектра в диапазоне от 780 нм до 2500 нм ($12\ 800\ \text{см}^{-1}$ до $4000\ \text{см}^{-1}$) [52, С. 152].

Европейская Фармакопея наряду с методами высушивания и волюмометрического титрования по Фишеру рекомендует как альтернативный метод ближнюю инфракрасную спектроскопию (БИК) для определения воды в фибриногене человека, концентрате антитромбина III человеческого, фактора

свертывания VII человеческого, фактора свертывания VIII человеческого, фактора свертывания IX человеческого, фактора свертывания XI человеческого, иммуноглобулина нормального человеческого, протромбинового комплекса человеческого, иммуноглобулина ветряной оспы человеческого для внутривенного введения и т.д. [67].

Neville W.Broad и др. предложили неинвазивный метод для быстрого определения содержания этанола, пропиленгликоля и воды в многокомпонентных растворах для приёма внутрь непосредственно через пластиковую упаковку из полиэтилентерефталата. Определение проводили на спектрофотометре Фурье Nicolet Avatar 360N FT-NIR (Nicolet Instruments, Великобритания) с гелий-неоновым лазером, в качестве детектора использовали индий-галлий-мышьяковый фотодиод. Спектры регистрировали в диапазоне 7302-12000 см⁻¹. Точные значения содержания этанола и пропиленгликоля были получены методом газовой хроматографии, а для воды - объёмным методом Фишера на автоматическом титраторе Metrohm 701KF Titrino (Metrohm, Великобритания). Калибровку проводили по 14 образцам с различным содержанием воды от 11 до 20%. Определение проводили в 16 образцах. Разработанная методика линейна ($R=0,993$), показала хорошую повторяемость ($s=0,1$ и $RSD=0,8\%$), внутрилабораторную сходимость ($s=0,1$ и $RSD=0,8\%$) и робастность, что делает возможным ее применение для определения содержания воды в диапазоне 11-20% [59].

Описано определение содержания воды в сухом молоке методом БИК на спектрофотометре ELICO SL-153 с приставкой диффузного отражения. Спектры регистрировались в диапазоне 800-2500 нм. Калибровку проводили по 45 образцам с содержанием воды от 4 до 10%. Точные значения содержания воды получены волнометрическим методом Фишера на автоматическом титраторе KAFI (Индия). Калибровку выполняли методом наименьших квадратов для двух диапазонов длин волн: 1900-1950 нм и 1425-1475 нм, где наблюдались наибольшие колебания. Калибровка в диапазоне 1900-1950 нм показала лучший коэффициент корреляции 0,9942. Для неё была определена правильность путём

сравнения результатов с методом Фишера, коэффициент корреляции между результатами определения воды методом БИК и титрованием по методу Фишера составил 0,9345 [88].

Проведено определение воды методом БИК в субстанциях каптоприла, метронидазола, диклофенака натрия, диклофенака калия и фуросемида с многомерным хемометрическим анализом результатов. Определение проводилось на спектрометре GX Spectrum (Perkin-Elmer, США) с приставкой диффузного отражения. Каждый спектр снимали 16 раз в диапазоне между 7800 и 400 см^{-1} . Препараты растворяли в подходящем растворителе: изопропанол (каптоприл), метаноле (калия и натрия диклофенак) и ацетоне (фуросемид) и готовили 6 растворов с известным содержанием воды: 0; 0,012; 0,030; 0,072; 0,150 и 0,300 г воды на 100 г. Точное содержание воды в растворителях (кроме ацетона) было определено кулонометрическим титрованием по Фишеру на кулонометре Metrohm 831 (Metrohm, Швейцария). Изменения содержания воды соответствовали полосе 5209 см^{-1} . Коэффициент корреляции между результатами определения воды методом БИК и известным содержанием составил 0,95 [92].

В исследовании Т.Е. Елизаровой и др. показана возможность применения метода БИК для определения воды в лекарственных средствах на примере препарата "Аугментин" в форме порошка для приготовления суспензии. Для построения калибровки использовали 90 спектров препарата (для каждой из 10 серий снимали по 9 спектров). Полученные результаты сравнивали с методом Фишера. Спектры регистрировались в диапазоне 5000-5500 см^{-1} , так как полосы при 5145 и 5201 см^{-1} соответствуют изменениям содержания воды (ссылаются на ЕФ и США). Коэффициент корреляции между результатами определения воды методом БИК и титрованием методом Фишера составил 0,96902. Полученную калибровочную модель использовали для определения содержания воды в препарате «Аугментин» других серий. Параллельно определяли содержание воды титрованием по методу Фишера. Относительная ошибка определения воды для каждой серии составила не более 3% [52, с. 152-153].

1.5.2. Спектрофотометрия

Определение воды методом спектрофотометрии основано на взаимодействии воды с красителем, что приводит к изменению положения и интенсивности полос поглощения в спектре [57, 84, 107]. Изучен батохромный сдвиг пика поглощения хлораниловой кислоты и увеличение интенсивности поглощения за счет ее диссоциации в присутствии воды. На основе этого свойства разработан спектрофотометрический метод определения воды в метаноле, 2-пропаноле, ацетоне, бутаноне, ацетонитриле и тетрагидрофуране. Результаты определения воды в образцах технического и пищевого этанола показали линейную зависимость при содержании воды от 0,02% до 10% [84].

В работе Feng-Lin Zhao и др. была изучена реакция хлораниловой кислоты и воды в спирте. Был получен стабильный фиолетовый комплекс с максимумом поглощения при длине волны 530 нм. Закон Бера соблюдался в диапазоне от 0 до 6,0% с пределом обнаружения 0,13%. Относительное стандартное отклонение составило менее 2%. Разработанный метод был применен для определения воды в этаноле, муке и пищевом ароматизаторе. Открываемость составила 97-102% [107].

В исследовании Hai-Xin Bai и Xiu-Rong Yan изучены спектральные характеристики поглощения и механизм изменения цвета в реакции кобальта (II) хлорида с водой в спиртовых органических растворителях. Были выбраны оптимальные условия для определения содержания воды в растворителях. Максимум поглощения наблюдался при длине волны 656 нм. Результаты показали линейную зависимость между логарифмом оптической плотности и содержанием воды в этаноле, н-пропаноле, изопропаноле и н-бутаноле, коэффициент корреляции составил 0,9996–0,9998. Разработанным методом определено содержание воды в н-бутаноле в 21 повторностях. Показано, что метод обладает хорошей чувствительностью и воспроизводимостью: предел обнаружения составил 0,004 г/мл, относительное стандартное отклонение 0,128%. Определение правильности проводили методом добавок воды, открываемость воды в н-бутаноле составила 98,41–101,29% [57].

Разработан метод определения содержания воды в органических растворителях на основе изменения цвета кобальта (II) нитрата. Был исследован механизм изменения цвета и установлены оптимальные условия для определения содержания воды в этаноле, изопропаноле, н-бутаноле и ацетоне. Определение проводилось на спектрофотометре TU-1800 UV (Beijing Purkinje General Instrument, Китай) при длине волны 520 нм. При содержании кобальта (II) нитрата $2,612 \times 10^{-2}$ моль/л был получен комплекс розового цвета. Результаты показали линейную зависимость между поглощением комплексов кобальта (II) в органических растворителях и содержанием воды, коэффициент корреляции составил от 0,9989 до 0,9994. Результаты на 12 определениях воды в этаноле показали, что метод обладает высокой чувствительностью и хорошей воспроизводимостью: при пределе обнаружения 0,128 моль/л относительное стандартное отклонение составило 1,9%. Разработанным методом была определена влажность в муке 11,08%, RSD=1,85 %. Открываемость составила 97,81–101,24 % [56].

Предложена методика определения содержания воды в этиленгликоле, основанная на сольватохромных свойствах хлораниловой кислоты и смещением полосы поглощения в присутствии воды. Исследования проводили на спектрофотометре СФ-2000-02 (Спектр, Россия) и Lambda 35 (Perkin Elmer, США) при длине волны 540 нм. Правильность результатов анализа подтверждена данными титрования по методу Фишера. Разработанная методика позволяет определять содержание воды в этиленгликоле в диапазоне 1,31-133 мг/мл [9].

1.5.3. Флюориметрия

В основе количественного определения воды флюориметрией лежит изменение интенсивности флюоресценции индикатора в зависимости от содержания воды.

Chenggang Niu и сотрудники использовали флуоресцентный краситель N-амино-4-(2-гидроксиэтиламино)-1,8-нафталимид на основе 4-бром-1,8-нафталевого ангидрида в качестве флуоресцентного датчика для определения

содержания воды в органических растворителях: диоксане, ацетонитриле и этаноле. Спектры регистрировали на спектрофлуориметре LS-55 (Perkin-Elmer, США). Длины волн возбуждения и излучения составили 427 нм и 503 нм для диоксана, 435 нм и 519 нм для ацетонитрила, 443 нм и 527 нм для этанола. Интенсивность флуоресценции датчика уменьшалась с увеличением концентрации воды. В диапазоне 0–4,00 % результаты были линейны, коэффициент корреляции (R) для диоксана составил 0,9955, ацетонитрила – 0,9943 и этанола – 0,9987. Пределы обнаружения составили 0,019, 0,038 и 0,060% для диоксана, ацетонитрила и этанола, соответственно [65].

Zhiwei Li и др. синтезирована серия N-гетероарил-1,8-нафталимидов с хорошей чувствительностью к полярности растворителя. В качестве сенсора для определения воды был выбран 4-(1-пиперидил)-N-(2-пиримидинил) -1,8-нафталимид, так как интенсивность его флуоресценции наиболее сильно зависит от полярности растворителя. Синтезированный сенсор применили для определения содержания воды в шести растворителях: 1,4-диоксане, тетрагидрофуране, ацетоне, диметилформамиде, ацетонитриле и метаноле. Результаты показали линейную зависимость между интенсивностью флуоресценции и содержанием воды, коэффициент корреляции составил от 0,9930 до 0,9998. Нижний предел обнаружения воды в 1,4-диоксане, тетрагидрофуране, ацетоне, диметилформамиде, ацетонитриле и метаноле составил 0,049, 0,020, 0,016, 0,054, 0,021 и 0,291%, соответственно [93].

Abdolraouf Samadi-Maybodi и Reza Akhoondi предлагают для определения содержания воды в органических растворителях, таких как этанол и метанол, использовать зависимость интенсивности флуоресценции комплекса 2,3-дифенил-6-аминхиноксалина, бис-(2,4,6-трихлорфенил) оксалата и Zn^{2+} от концентрации воды. Спектры регистрировали на спектрофлуориметре LS-3B (Perkin-Elmer, США) и УФ-спектрофотометре CE 5501 UV-vis (5000series, Великобритания). Интенсивность флуоресценции измеряли при максимальной длине волны ($\lambda_{max}=518$ нм) с возбуждением на 435 нм. Полученные результаты показали хорошую линейную зависимость между интенсивностью флуоресценции и

содержанием воды в диапазоне 0,0094-1%, коэффициент корреляции составил 0,9922, предел обнаружения – 0,0026% [98].

Таким образом, оптические методы анализа позволяют быстро и неинвазивно определять содержание воды. Метод БИК требует сложных хемометрических расчетов и использования большого количества стандартных образцов для построения калибровочных графиков. Спектрофотометрический и флуориметрический методы также требуют предварительной градуировки прибора и их применение ограничено объектами исследования, позволяющими использовать сольватохромные или флюоресцентные индикаторы.

1.6. Ядерно-физические методы

К ядерно-физическим методам относятся методы активационного анализа элементного состава веществ, ядерного магнитного резонанса (ЯМР), протонного магнитного резонанса, электронного парамагнитного резонанса (ЭПР) и т.д. Эти методы позволяют получать информацию о состояниях воды в различных молекулярных взаимодействиях, что позволяет их использовать в практической акваметрии.

Метод ЯМР основан на измерении сигнала, обусловленного протонами молекулы воды в диапазоне линии ЯМР 1 мкТл-100 мкТл (для связанной воды) и свыше 100 мкТл (для кристаллизационной воды). Измеряемыми параметрами в методе ЯМР являются: амплитуда сигнала поглощения, интегральная интенсивность, ширина и форма резонансной линии и т.д. [31, с. 183].

Возможность применения метода ЯМР для определения содержания воды была показана в работе Веницианова Е.В. и Розенталя О.М. Установлено, что смеси кварцевого песка с водой в качестве стандартных образцов для построения калибровочных прямых, позволяют использовать этот метод для определения содержания воды в аммофосе, зерне и муке пшеницы, древесине берёзы и сосны с относительной погрешностью 2-3% [12].

Разработан метод определения влаги в оливковом масле с использованием ^{31}P ЯМР спектроскопии. Метод основан на замене атомов водорода в молекулах воды маркерами: 2-хлор-4,4,5,5-тетраметил-1,3,2-диоксанфосфолатом и дифенилфосфина хлоридом. Спектры ЯМР регистрировали на спектрометре Bruker AMX500. Правильность определения воды проверяли по методу Фишера. Оба реагента позволили определить содержание воды в оливковом масле с приемлемой точностью. Однако второй реагент показал более высокую линейность результатов [74].

Показана возможность определения воды методом ^1H ЯМР в пиролизном масле [116] и 1-октаноле [60].

В работе Гарифуллиной Р.Л. и др. предложен метод обнаружения наличия воды в дизельном топливе с использованием в качестве спиновой метки (молекул, содержащих неспаренный электрон) молекул нитроксильных радикалов ТЕМПО (2,2,6,6-тетраметил-пиперидин-1-оксил). Спектры ЭПР регистрировались на спектрометре "Брукер" при комнатной температуре, время записи составило 4 минуты. Установлено, что метод применим для определения содержания воды в дизельном топливе в диапазоне 0,5-10% [13].

Таким образом, методы ЯМР и ЭПР относятся к неразрушающим методам, однако, как и все косвенные методы нуждаются в предварительной калибровке по стандартным образцам, к тому же требуют дорогостоящего оборудования, высокой квалификации исполнителя и, в связи с этим, их использование недостаточно оправдано в рутинном анализе большого количества образцов.

Выводы по главе 1

Из большого разнообразия методов определения воды в различных объектах, применение прямых методов всегда предпочтительнее, чем косвенных. Среди прямых методов (высушивание, метод Фишера, дистилляция) существенное преимущество имеет метод Фишера в виду своей специфичности по отношению к воде и высокой точности. Из вариантов определения воды по

Фишеру (волюмометрическое и кулонометрическое титрование), кулонометрический метод наиболее перспективен ввиду своей простоты, хорошей воспроизводимости, малого расхода токсичного реактива Фишера, отсутствия необходимости стандартизации титранта, доступности оборудования и реактивов и всё чаще используется в качестве арбитражного метода, что свидетельствует о росте его популярности. В связи с этим для разработки методик определения воды в субстанциях и лекарственных формах антибактериальных лекарственных средств нами было предложено кулонометрическое титрование по методу Фишера.

Экспериментальная часть

Глава 2. Объекты и методы исследования

2.1. Объекты исследования

Объектами служили образцы фармацевтических субстанций и лекарственных форм антибактериальных лекарственных средств, отвечающие требованиям НД.

Таблица 1

Нормы содержания воды и методы её определения по НД

Антибактериальное лекарственное средство (Производитель, серия)	Содержание воды	Метод определения содержания воды
Амоксициллин тригидрат $C_{16}H_{19}N_3O_5S \cdot 3H_2O$ («Жухай Юнайтед Лабораториз Ко, Лтд.», Китай, Серия 30812044008)	11,5–14,5% [67, monograph 0260; 110, monograph Amoxicillin]	Волюмометрическое титрование по Фишеру [67, monograph 0260; 110, monograph Amoxicillin]
Амоксициллина капсулы Амоксициллин 250 мг («Хемофарм А.Д.», Сербия, Серия 1301145) Амоксициллин 500 мг («Хемофарм А.Д.», Сербия, Серия 1301340) Амоксициллин 500 мг (Хемофарм А.Д., Сербия, Серия 1400323)	Не более 14,5% [36; 50, monograph Amoxicillin Capsules].	Волюмометрическое титрование по Фишеру [36; 50, monograph Amoxicillin Capsules]
Амоксициллин для приготовления суспензии для приёма внутрь Амоксициллин 250 мг/5 мл («Хемофарм А.Д.», Сербия Серия 1300814)	Не более 3,0% [110, monograph Amoxicillin for Oral Suspension] Не более 2,5% [35]	Волюмометрическое титрование по Фишеру [35; 110, monograph Amoxicillin for Oral Suspension]

Антибактериальное лекарственное средство (Производитель, серия)	Содержание воды	Метод определения содержания воды
<p align="center">Амоксициллин и калия клавуланат для приготовления суспензии для приёма внутрь</p> <p>Амоксиклав 125 мг+31,25 мг/5 мл («Лек Д.Д.», Словения, Серия ЕА4867)</p> <p>Амоксиклав 250 мг+62,5 мг в 5 мл («Лек Д.Д.», Словения, Серия ЕВ2035)</p> <p>Аугментин 400 мг+57,5 мг в 5 мл («Смит Кляйн Бичем ПиЭлСи», Великобритания, Серия 649468)</p> <p>Аугментин ЕС 600 мг+42,9 мг в 5 мл («Смит Кляйн Бичем ПиЭлСи», Великобритания, Серия 868)</p>	<p>Содержание воды не более 7,5%, если амоксициллина, менее 40 мг/мл; не более 8,5%, если амоксициллина, равное или больше 40 мг/мл и меньше или равное 50 мг/мл; не более 11,0%, если амоксициллина, больше 50 мг/мл и меньше или равное 80 мг/мл; и не более 12,0%, если амоксициллина, больше 80 мг/мл [110, monograph Amoxicillin and Clavulanate Potassium for Oral Suspension].</p> <p>Для дозировки 125 мг+31,25 мг/5 мл содержание воды не более 7,5%. Для дозировки 250 мг+ 62,5 мг/5 мл и 400 мг+57 мг/5 мл содержание не более 8,5% [34].</p> <p>Для дозировки 200 мг+28,5 мг/5 мл и 400 мг+57 мг/5 мл содержание воды не более 9,0% [32, 40].</p>	<p>Волюмометрическое титрование по Фишеру [32; 34; 40; 110, monograph Amoxicillin and Clavulanate Potassium for Oral Suspension]</p>

Антибактериальное лекарственное средство (Производитель, серия)	Содержание воды	Метод определения содержания воды
<p>Амоксициллина и калия клавуланата таблетки</p> <p>Аугментин 250 мг+125 мг (Смит Кляйн Бичем ПиЭлСи», Великобритания, Серия 647188)</p> <p>Аугментин 500 мг+125 мг (Смит Кляйн Бичем ПиЭлСи», Великобритания, Серия 654125)</p> <p>Амоксиклав 500 мг+125 мг («Лек Д.Д.», Словения, Серия ED6404)</p> <p>Экоклав 500 мг+125 мг («АВВА РУС», Россия, Серия 80414)</p> <p>Аугментин 875 мг+125 мг (Смит Кляйн Бичем ПиЭлСи», Великобритания, Серия 657554)</p>	<p>Содержание воды не более 7,5%, если количество амоксициллина в 1 таблетке составляет 250 мг и менее. Не более 10,0%, если количество амоксициллина в 1 таблетке составляет более 250 мг, но менее или равное 500 мг. Не более 11,0%, если количество амоксициллина в 1 таблетке составляет более 500 мг [110, monograph Amoxicillin and Clavulanate PotassiumTablets].</p> <p>Для дозировки 250 мг+125 мг содержание воды не более 7,5%. Для дозировки 500 мг+125 мг - не более 10,0%. Для дозировки 875 мг+125 мг - не более 10,5% [37; 38].</p>	<p>Волюмометрическое титрование по Фишеру [37; 38; 110, monograph Amoxicillin and Clavulanate PotassiumTablets]</p>
<p>Ампициллин натрия $C_{16}H_{18}N_3NaO_4S$</p> <p>Ампициллин натрия («Ауробиндо Фарма Лтд.», Индия, Серия EAP 0330106)</p>	<p>Не более 2,0% [67, monograph 0578; 110, monograph Ampicillin Sodium].</p>	<p>Волюмометрическое титрование по Фишеру [67, monograph 0578; 110, monograph Ampicillin Sodium]</p>

Продолжение таблицы 1

Антибактериальное лекарственное средство (Производитель, серия)	Содержание воды	Метод определения содержания воды
<p>Ампициллин для инъекций</p> <p>Ампициллин 1000 мг (ОАО «Синтез», Россия, Серия 630214) Ампициллин 1000 мг, (ОАО «Синтез», Россия, Серия 1890913)</p>	<p>Не более 2,0% [41; 110, monograph Ampicillin for Injection].</p>	<p>Волюмометрическое титрование по Фишеру [41; 110, monograph Ampicillin for Injection].</p>
<p>Ампициллин и сульбактам для инъекций</p> <p>Амписид 1000 мг/500 мг («Мустафа Невзат Илач Санаи А.Ш. », Турция, Серия 12К36041А)</p>	<p>Не более 2,0% [39; 110, monograph Ampicillin and Sulbactam for Injection]</p>	<p>Волюмометрическое титрование по Фишеру [39; 110, monograph Ampicillin and Sulbactam for Injection]</p>
<p>Ампициллина тригидрат $C_{16}H_{19}N_3O_4S \cdot 3H_2O$</p> <p>Ампициллина тригидрат («Жухай Юнайтед Лабораториз Ко, Лтд.», Китай, Серия 31012115018А)</p> <p>Ампициллина тригидрат («Шицзячжуан Фарм Групп Хэбэй Чжун-жунь Фармасьютикл Ко., Лтд», Китай, Серия 401009091)</p>	<p>12,0-15,0% [67, monograph 0168; 110, monograph Ampicillin].</p>	<p>Волюмометрическое титрование по Фишеру [67, monograph 0168; 110, monograph Ampicillin].</p>
<p>Ампициллина таблетки</p> <p>Ампициллин 250 мг ЗАО («Производственная фармацевтическая компания Обновление», Россия, Серия 51113)</p> <p>Ампициллин 250 мг ОАО («Биохимик», Россия, Серия 091113)</p>	<p>9,5-12,0% [110, monograph Ampicillin Tablets] 10,0-15,0% [33, 42]</p>	<p>Волюмометрическое титрование по Фишеру [33; 42; 110, monograph Ampicillin Tablets].</p>
<p>Левофлоксацин $C_{18}H_{20}FN_3O_4 \cdot \frac{1}{2}H_2O$</p> <p>(«Jingxin Pharm», Китай, Серия DK21-1003011)</p>	<p>2,0-3,0% [110, monograph Levofloxacin]</p>	<p>Волюмометрическое титрование по Фишеру [110, monograph Levofloxacin]</p>

Антибактериальное лекарственное средство (Производитель, серия)	Содержание воды	Метод определения содержания воды
<p>Моксифлоксацина гидрохлорид $C_{21}H_{25}ClFN_3O_4$ «MSM Pharmachem Pvt/Limited», Индия, ММ0010111</p>	<p>Не более 4,5% [67, monograph 2254; 110, monograph Moxifloxacin Hydrochloride]</p>	<p>Волюмометрическое титрование по Фишеру [67, monograph 2254; 110, monograph Moxifloxacin Hydrochloride]</p>
<p>Оксациллина натрия моногидрат $C_{19}H_{18}N_3NaO_5S \cdot H_2O$ «Сучжоу Эжуй Фармасьютикал Ко., Ltd», Китай, Серия 101135 «Фармацевтическая фабрика Сюйчжоу №2», Китай, Серия 101139</p>	<p>3,5-5,0% [67, monograph 2260; 110, monograph Oxacillin Sodium]</p>	<p>Волюмометрическое титрование по Фишеру [67, monograph 2260; 110, monograph Oxacillin Sodium]</p>
<p>Цефазолин натрия $C_{14}H_{13}N_8NaO_4S_3$ «Харбин Фармасьютикал Груп Ко., Лтд, Дженерал Фарм. Фэктори», Китай, Серия A12120130210 «Цилу Антибиотикос Фармасьютикал Ко., Лтд», Китай, Серия 20326LJ81B</p>	<p>Не более 6,0% [67, monograph 0988; 110, monograph Cefazolin Sodium]</p>	<p>Волюмометрическое титрование по Фишеру [67, monograph 0988; 110, monograph Cefazolin Sodium]</p>
<p>Цефазолин порошок для приготовления раствора для внутривенного и внутримышечного введения Цефазолин 1,0 г, ООО «Компания «Деко», Россия, Серия 30114</p>	<p>Не более 6,0% [110, monograph Cefazolin for Injection].</p>	<p>Волюмометрическое титрование по Фишеру [110, monograph Cefazolin for Injection].</p>
<p>Цефепима гидрохлорид моногидрат $C_{19}H_{25}ClN_6O_5S_2 \cdot HCl \cdot H_2O$ «Orchid Chemicals Pharmaceuticals Ltd», Индия, Серия 100030</p>	<p>3,0-4,5% [67, monograph 2126; 110, monograph Cefepime]</p>	<p>Волюмометрическое титрование по Фишеру [67, monograph 2126; 110, monograph Cefepime]</p>

<p>Антибактериальное лекарственное средство (Производитель, серия)</p>	<p>Содержание воды</p>	<p>Метод определения содержания воды</p>
<p>Цефепим порошок для приготовления раствора для внутривенного и внутримышечного введения Цефепим-Виал 1,0 г, ООО «Виал», Россия, Серия 140503</p>	<p>Не более 4,0% [110, monograph Cefepime for Injection]</p>	<p>Волюмометрическое титрование по Фишеру [110, monograph Cefepime for Injection]</p>
<p>Цефоперазон натрия $C_{25}H_{26}N_9NaO_8S_2$ «Цилу Антибиотикос Фармасьютикал Ко., Лтд», Китай, Серия 20403LJ81D-A</p>	<p>Не более 5,0% [67, monograph 1404; 110, monograph Cefoperazone Sodium]</p>	<p>Волюмометрическое титрование по Фишеру [67, monograph 1404; 110, monograph Cefoperazone Sodium]</p>
<p>Цефоперазона порошок для приготовления раствора для внутривенного и внутримышечного введения Цефобид 1,0 г «Пфайзер Инк.», США, Серия 13600700</p>	<p>Не более 5,0 % [110, monograph Cefoperazone for Injection].</p>	<p>Волюмометрическое титрование по Фишеру [110, monograph Cefoperazone for Injection].</p>
<p>Цефотаксим натрия $C_{16}H_{16}N_5NaO_7S_2$ «Жухай Юнайтед Лабораториз Ко., Лтд», Китай, Серия 3041303003 «Сузхоу Данрайс Фармасьютикал Ко., Лтд», Китай, Серия 130440106</p>	<p>Не более 3,0 % [67, monograph 0989] Не более 3,0% (потеря в массе при высушивании) [110, monograph Cefotaxime Sodium]</p>	<p>Волюмометрическое титрование по Фишеру [67, monograph 0989] Метод высушивания [110, monograph Cefotaxime Sodium]</p>
<p>Цефотаксима порошок для приготовления раствора для внутривенного и внутримышечного введения Цефотаксим 1,0 г, ОАО «Биосинтез», Россия, Серия 530412</p>	<p>Не более 3,0% (потеря в массе при высушивании) [110, monograph Cefotaxime for Injection].</p>	<p>Метод высушивания [110, monograph Cefotaxime for Injection].</p>

Антибактериальное лекарственное средство (Производитель, серия)	Содержание воды	Метод определения содержания воды
Цефтриаксон натрия $C_{18}H_{16}N_8Na_2O_7S_3, 3 \frac{1}{2}H_2O$ «Жухай Юнайтед Лабораториз Ко., Лтд», Китай, Серия 3051212402	8,0-11,0% [67, monograph 0991; 110, monograph Ceftriaxone Sodium].	Волюмометрическое титрование по Фишеру [67, monograph 0991]. [110, monograph Ceftriaxone Sodium].
Цефотриаксона порошок для приготовления раствора для внутривенного и внутримышечного введения Цефтриаксон ЛЕКСВМ, ОАО «Редкинский опытный завод», Россия, Серия 0920814	8,0-11,0% [110, monograph Ceftriaxone for Injection].	Волюмометрическое титрование по Фишеру [110, monograph Ceftriaxone for Injection].
Цефуроксим натрия $C_{16}H_{15}N_4NaO_8S$ «ЭнСиПиСи Орхид Фармасаеутикал Ко., Лтд», Китай, Серия Н2091301010	не более 3,5% [67, monograph 0992; 110, monograph Cefuroxime Sodium]	Волюмометрическое титрование по Фишеру [67, monograph 0992; 110, monograph Cefuroxime Sodium]
Цефуроксима порошок для приготовления раствора для внутривенного и внутримышечного введения Зинацеф, «ГлаксоСмитКляйн», Италия, Серия Р503	Не более 3,5% [110, monograph Cefuroxime for Injection]	Волюмометрическое титрование по Фишеру [110, monograph Cefuroxime for Injection]
Эритромицин $C_{37}H_{67}NO_{13}$ «Хубей Максфарм Индастриз Ко Лтд», Китай, Серия 1012191	Не более 6,5% [67, monograph 0179] Не более 10,0% [110, monograph Erythromycin]	Волюмометрическое титрование по Фишеру [67, monograph 0179; 110, monograph Erythromycin].

Продолжение таблицы 1

Антибактериальное лекарственное средство (Производитель, серия)	Содержание воды	Метод определения содержания воды
Эритромицина мазь ОАО «Биосинтез», серия 50514	Не более 1,0% [110, monograph Erythromycin Ointment]	Волнометрическое титрование по Фишеру [110, monograph Erythromycin Ointment]
Эритромицина мазь глазная ОАО «Татхимфармпрепараты», серия 20214	Не более 1,0% [110, monograph Erythromycin Ophthalmic Ointment]	Волнометрическое титрование по Фишеру [110, monograph Erythromycin Ophthalmic Ointment]

2.2. Методы исследования

Кулонометрическое определение воды по методу Фишера проводили на отечественном кулонометре «Эксперт-007» компании «Эконикс-Эксперт» (рис.1).



Рис.1. Внешний вид кулонометра «Эксперт-007» («Эконикс-Эксперт», Россия)

Одним из основных блоков прибора является кулонометрическая ячейка (рис. 2), состоящая из большего по объему анодного отделения, в котором протекает реакция Фишера, и меньшего катодного отделения. В каждое отделение

опущен платиновый электрод. Анодная камера заполняется анолитом, в качестве которого используется модифицированный реактив Фишера – Аква М[®]-Кулон АГ («Акваметрия», Россия), содержащий йодид-анион вместо йода, катодная – католитом Аква М[®]-Кулон СГ («Акваметрия», Россия), предыдущее название реактивов: КФИ-Анод и КФИ-Катод («Акваметрия», Россия), соответственно. Камеры разделены диафрагмой, предотвращающей смешение двух растворов. Титрование осуществляется электрогенерированным йодом в анодной камере, в которую вносят испытуемый образец. Конечная точка титрования определяется бипотенциометрически с поляризующим током 2 мкА. Изоляция внутреннего объема ячейки от атмосферной влаги достигалась герметизацией шлифовых соединений и использованием осушительной трубки, которую заполняли индикаторным силикагелем (ГОСТ 8984-75). Контроль герметичности кулонометрической ячейки проводился путем измерения дрейфа, который не превышал 0,05 мг Н₂О/мин.

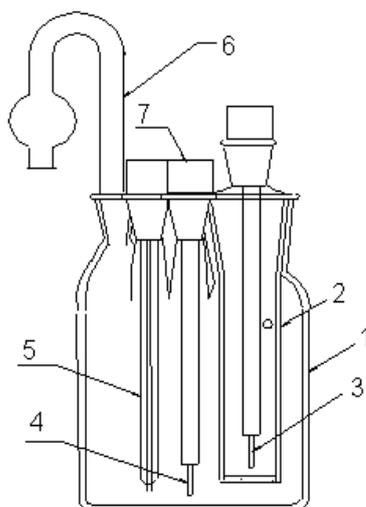


Рис.2. Схема кулонометрической ячейки титратора Фишера «Эксперт-007»:

1 – стеклянный корпус, 2 – катодная камера, 3 – катод, 4 – анод,
5 – индикаторный электрод, 6 – осушительная трубка, 7 – порт ввода пробы.

Подготовка кулонометрической ячейки к работе. Осушительную трубку заполняли индикаторным силикагелем. Смазывали шлифы ячейки водорастворимой смазкой. В ячейку устанавливали индикаторный и

генераторный электроды, осушительную трубку, порт ввода пробы. В анодную камеру кулонометрической ячейки помещали магнитную мешалку, наливали около 130 мл раствора Аква М[®]-Кулон АГ (ТУ 2638-001-33699038-131-09), затем в катодную камеру аккуратно наливали около 5 мл раствора Аква М[®]-Кулон СГ (ТУ 2638-001-33699038-132-09), избегая попадания раствора католита в анодную камеру, и устанавливали вспомогательный электрод.

Включали кнопку «Измерение» для удаления влаги в фоновом электролите, попавшей в ячейку при ее заполнении. При смене полярности добавляли водно-карбинольную смесь 1:1 для удаления избытка йода до установления рабочего потенциала (40 мВ).

Измеряли дрейф и вводили в память прибора. Проверяли пригодность кулонометрической ячейки к работе по стандартному раствору HYDRANAL – Check Solution 1.00 с содержанием воды $1,00 \pm 0,03$ мг Н₂О/г (Fluka, Германия), правильность определения воды в стандарте составляла 97,5–102,5%.

В качестве основного растворителя нами предложено использовать раствор Аква М[®]-Кулон АГ (предыдущее название КФИ-Анод), который является фоновым электролитом. Для уменьшения времени растворения некоторых образцов использовали лабораторный шейкер «Vortex Genius 3» (ИКА, Германия). В тех случаях, когда субстанция не растворялась в Аква М[®]-Кулон АГ, использовали карбинол либо смеси растворителей толуол:карбинол, Аква М[®]-Кулон АГ: карбинол.

Приготовление раствора для кулонометрического определения воды: Во взвешенный пустой стеклянный флакон с резиновой пробкой без проколов вносили рассчитанную навеску субстанции, укупоривали, взвешивали, наливали растворитель через воронку с маленьким носиком, следя за тем, чтобы растворитель не попал на горлышко флакона, до предварительно нанесенной метки, соответствующей объёму 5 г растворителя, укупоривали, взвешивали.

Методика кулонометрического определения воды: включали кнопку «Измерение». По сигналу прибора вносили в кулонометрическую ячейку с

помощью шприца точно взвешенную пробу (по разнице в массе шприца до и после ввода). По окончании измерения содержание воды в мг выводится на цифровой дисплей прибора. Параллельно проводили контрольный опыт.

Рассчитывали по формуле:

$$X, \% = \frac{\frac{m_2 \cdot m_4}{m_3} - m_7 \cdot W \cdot 10}{m_1}$$

$$W, \% = \frac{m_5 \cdot 10^{-3} \cdot 100}{m_6}$$

где m_1 – масса вещества, г;

m_2 – масса раствора (субстанция в растворителе), г;

m_3 – масса пробы, г; (*введено*)

m_4 – найдено воды (мг) в пробе на кулонометре;

m_5 – найдено воды (мг) в контрольном опыте на кулонометре;

m_6 – масса растворителя в контрольном опыте;

m_7 – масса растворителя, г; (во флаконе)

W – содержание влаги в растворителе, %.

Расчетные формулы были введены в программу Microsoft Excel.

Приготовление водорастворимой смазки: 8 г водорастворимого крахмала, 2 г сахарозы, 25 г глицерина осторожно нагревали в выпарительной чашке до 140 °С. Охлаждали до комнатной температуры.

Волюмометрическое титрование проводили на автоматическом титраторе Фишера V30 (Mettler Toledo, Швейцария) с применением титранта HYDRANAL®–Titrant 5, растворителя HYDRANAL®–Solvent для волюмометрического титрования по Фишеру (Sigma Aldrich, США) и молекулярных сит 0,3 нм (Merck, Германия) в качестве осушителя. В работе использовали стандарт воды HYDRANAL®–Standard натрия тартрат двуводный (Sigma Aldrich, США) с содержанием воды 15,64%.

Методика волюмометрического определения воды: точную навеску анализируемого образца растворяли в 20 мл растворителя HYDRANAL® – Solvent и титровали HYDRANAL® – Titrant 5. По окончании измерения содержание воды в пробе в мг и в процентах выводится на цифровой дисплей автоматического титратора по Фишеру. Предварительно определяли титр реактива Фишера по стандарту воды HYDRANAL® – Standard натрия тартрат двуводный.

Определение потери в массе при высушивании проводили с помощью сушильного шкафа Binger VD23 (Binger, Германия) по методике, указанной в ГФ XI., вып. 1, стр. 176.

Взвешивание проводили на аналитических весах HTR-220CE (Shinko Denshi, Япония). Контроль pH фонового электролита в кулонометрической ячейке проводили на pH-метре, встроенном в кулонометр «Эксперт-006», с использованием комбинированного стеклянного электрода ЭСК-10614. Встроенный в кулонометр pH-метр калибровали по буферным растворам с pH 4 и 9 («Metrohm», Швейцария). Используемые реактивы имели марку х.ч. или ч.д.а.

Статистическую обработку экспериментальных данных исследований ($P=95\%$) проведена по ГФ XI, вып. 1, стр. 199 с помощью программ Microsoft Excel с вычислением среднего значения результата анализа, стандартного отклонения выборки, относительного стандартного отклонения, стандартного отклонения среднего значения, доверительного интервала среднего значения и относительной ошибки среднего. С использованием программы Origin 5.0 вычислены данные уравнения линейной регрессии: свободный член линейного уравнения и тангенс угла наклона прямой, а также коэффициент линейной корреляции.

Глава 3.

Определение воды в фармацевтических субстанциях антибактериальных лекарственных средств

3.1. Субстанции полусинтетических пенициллинов

К группе полусинтетических пенициллинов относятся препараты ампициллина, амоксициллина и оксациллина, которые продолжают занимать значительное место в терапии инфекционных болезней. Основное клиническое значение оксациллина заключается в его эффективности в отношении штаммов *S. aureus*, продуцирующих пенициллиназу и поэтому резистентных к действию пенициллина, аминопенициллинов, антисинегнойных пенициллинов. Расширенным антимикробным спектром действия обладают аминопенициллины – ампициллин и амоксициллин, но они подвержены гидролизу всеми β -лактамазами. Для преодоления антибиотикорезистентности были созданы комбинированные препараты, одним из компонентов которых является ингибитор β -лактамаз (клавулановая кислота, сульбактам). Они предотвращают инактивацию аминопенициллинов и расширяют их спектр активности, включая бактерии, обычно резистентные к амоксициллину и ампициллину [47].

НД рекомендует определять воду в данных субстанциях волюмометрическим титрованием по Фишеру (табл.1).

Перспективно применение кулонометрического определения содержания воды. При кулонометрическом титровании проба вводится в ячейку в жидком виде. Растворитель для субстанции должен быть совместим с фоновым электролитом кулонометрической ячейки и должен содержать воды не более 0,05%. Следует отметить, что в начале рабочего дня проверяется пригодность кулонометрической ячейки по стандарту воды. При введении 1 г стандарта воды HYDRANAL – Check Solution 1.00 с содержанием воды $1,00 \pm 0,03$ мг H_2O /г (Fluka, Германия) должно определяться 0,975–1,025 мг воды, так как отношение

найденного количества воды к введенному должно лежать в интервале 97,5–102,5% [43, 67].

Для приготовления раствора анализируемой субстанции данных полусинтетических пенициллинов навеску рассчитывали таким образом, чтобы при введении 1 г раствора в кулонометрическую ячейку определялся 1 мг воды, подобно стандарту, по которому проверялась пригодность кулонометрической ячейки.

Как видно из таблицы 1, субстанция оксациллина натрия моногидрата должна содержать от 3,5 до 5,0% воды. Так как мы не знаем номинальное содержание воды в этой субстанции, то предполагаем, что оно лежит в середине нормируемого диапазона, и для оксациллина натрия составляет 4,25%.

Для расчета навески для приготовления анализируемого раствора для кулонометрического определения воды в работе [4] предложено использовать формулу:

$$\frac{0,1 \times V \text{ раствора}}{\% \text{ воды в субстанции}} = x \text{ г навески}$$

Однако ввиду того, что удобнее работать с концентрациями, а не с массой, формулу видоизменили:

$$\frac{0,1 \times 100}{\% \text{ воды в субстанции}} = C \%$$

где C % – концентрация раствора для введения в кулонометрическую ячейку.

Таким образом, для того чтобы в анализируемом растворе определялся 1 мг воды в 1 г, необходимо приготовить $0,1 \times 100 / 4,25 = 2,2\%$ раствор оксациллина натрия моногидрата в безводном растворителе.

В качестве растворителя нами предложено использовать анолит Аква М[®]-Кулон АГ («Акваметрия», Россия), который, во-первых, является фоновым электролитом кулонометрической ячейки, во-вторых, восполняет расходуемый при протекании реакции Фишера диоксид серы. Предварительная проверка показала, что содержание воды в нём не превышает 0,05%.

Так как для эксперимента нам нужно 5 г раствора (5 повторностей по 1 г), тогда $5 \times 2,2 / 100 = 0,11$ г оксациллина натрия моногидрата необходимо растворить в 5 г анолита Аква М[®]-Кулон АГ. В данных условиях субстанция растворилась полностью.

Далее проводили пробное титрование для того, чтобы найти содержание воды в субстанции, и при отличии найденного значения от предполагаемого провести корректирующие расчеты навески.

Установлено, что содержание воды в субстанции оксациллина натрия моногидрата составляет 4,3%, что близко к предполагаемому значению и нет необходимости в корректировке навески. Таким образом, принимаем концентрацию субстанции оксациллина натрия моногидрата 2,2% за средний уровень – 100%. Тогда для уровней 70 и 130% концентрация субстанции составит 1,5 и 2,9%, соответственно. Далее готовили по одному раствору на трех уровнях концентрации и 6 растворов для среднего уровня и определяли содержание воды, проводя 5 параллельных измерений для каждого раствора. Параллельно проводили контрольный опыт. Ввиду гигроскопичности растворитель вводили во флаконы с субстанцией и во флакон для контрольного опыта одновременно, чтобы учесть в расчетах возможное попадание атмосферной влаги в растворитель при приготовлении растворов.

Для ампициллина натрия концентрация субстанции на среднем уровне должна быть $0,1 \times 100 / 1 = 10\%$. Предполагаем, что содержание воды в субстанции ампициллина натрия составляет 1%. Ввиду того, что $5 \times 10 / 100 = 0,5$ г ампициллина натрия в 5 г анолита Аква М[®]-Кулон АГ растворяется не полностью, в качестве растворителя нами было предложено взять карбинол, так как он входит в состав фонового электролита и совместим с ним. 0,5 г ампициллина натрия в 5 г карбинола растворилось полностью. Пробным титрованием установлено, что содержание воды в субстанции ампициллина натрия составляет 0,87%, что близко к предполагаемому значению и нет необходимости в корректировке массы навески. Принимаем концентрацию субстанции ампициллина натрия 10% за средний уровень – 100%. Тогда для

уровней 70 и 130% концентрация субстанции составит 7 и 13%, соответственно. Проводили титрование на трех уровнях концентрации и в 6 навесках на среднем уровне.

В случае ампициллина тригидрата по НД (табл. 1) содержание воды составляет 12,0–15,0%. Тогда нам необходимо приготовить раствор с содержанием ампициллина тригидрата $0,1 \times 100 / 13,5 = 0,7\%$. Таким образом, растворяли 0,038 г ампициллина тригидрата в 5 г растворителя. Пробным титрованием установлено, что содержание воды в субстанции ампициллина тригидрата составляет 13%. Так как номинальное значение 13% воды ниже 13,5%, которую мы брали за точку отсчета, проводили корректировку среднего уровня: $0,1 \times 100 / 13 = 0,77\%$. Концентрацию 0,77% ампициллина натрия принимали за средний уровень – 100%. Для уровней 70 и 130% концентрация субстанции составит 0,5 и 1%, соответственно. Проводили титрование на трех уровнях концентрации и в 6 навесках на среднем уровне. После проведения серии экспериментов установлено, что при низкой концентрации вещества (менее 1%) и, следовательно, малой навеске, результаты обладают плохой сходимостью (относительное стандартное отклонение более 5%), что, по-видимому, может быть связано с неоднородностью взвешиваемого вещества.

Поэтому для того, чтобы находился 1 мг воды во вводимой пробе мы решили уменьшить ее объем до 0,5 мл, что позволит увеличить концентрацию субстанции в растворе в 2 раза. Таким образом, при растворении 0,075 г ампициллина тригидрата в 5 г (концентрация 1,5%), найдено 12,9% воды. Концентрацию 1,5% ампициллина натрия принимаем за средний уровень – 100%. Для уровней 70 и 130% концентрация субстанции составит 1 и 2%, соответственно. Такие же расчеты проводились для амоксициллина тригидрата. Следует отметить, что субстанции ампициллина и амоксициллина тригидрата в анолите Аква М[®]-Кулон AG растворялись медленно, поэтому для уменьшения времени растворения использовали шейкер.

Разработаны методики кулонометрического определения воды по Фишеру в субстанциях полусинтетических пенициллинов: ампициллина натрия,

ампициллина тригидрат, амоксициллина тригидрат, оксациллина натрия моногидрат.

Таким образом, содержание воды определяли на трех уровнях концентрации субстанций в диапазоне 70-130% от уровня, принятого за 100% (табл. 2), и в 6 навесках на среднем уровне концентрации (табл. 3). Относительное стандартное отклонение не превышало 0,02. Относительная ошибка среднего составила 0,99-1,24%.

Таблица 2

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

Субстанция	Производитель, серия	Содержание субстанции в пробе, %	Найдено воды, %	S_r
Ампициллин натрия	«Ауробиндо Фарма Лтд.», Индия, Серия EAP 0330106	7,0	0,87±0,02	0,017
		10,0	0,87±0,01	0,009
		13,0	0,87±0,01	0,012
Ампициллина тригидрат	«Жухай Юнайтед Лабораториз Ко, Лтд.», Китай, Серия 31012115018A	1,0	12,9±0,2	0,017
		1,5	13,0±0,1	0,010
		2,0	12,9±0,2	0,016
Ампициллина тригидрат	«Шицзячжуан Фарм Групп Хэбэй Чжун-жунь Фармасьютикал Ко., Лтд.», Китай, Серия 401009091	1,0	12,8±0,1	0,009
		1,5	12,9±0,1	0,010
		2,0	12,9±0,2	0,016
Амоксициллина тригидрат	«Жухай Юнайтед Лабораториз Ко, Лтд.», Китай, Серия 30812044008	1,0	12,89±0,02	0,011
		1,5	12,95±0,02	0,011
		2,0	12,96±0,02	0,013
Оксациллин натрия	«Сучжоу Эжуй Фармасьютикал Ко., Ltd», Китай Серия 101135	1,7	4,34±0,07	0,015
		2,5	4,33±0,05	0,011
		3,2	4,33±0,08	0,017
Оксациллин натрия	«Фармацевтическая фабрика Сюйчжоу №2», Китай Серия 101139	1,7	4,39±0,03	0,006
		2,5	4,36±0,04	0,010
		3,2	4,36±0,03	0,005

Метрологические характеристики определения воды на среднем уровне концентрации в субстанциях полусинтетических пенициллинов ($n=6$, $P=95\%$)

Субстанция	Производитель, серия	Найдено воды, %	Метрологические характеристики
Ампициллин натрия	«Ауробиндо Фарма Лтд.», Индия Серия EAP 0330106	0,86 0,88 0,87 0,89 0,87 0,87	$X_{cp} = 0,87$ $\Delta X_{cp} = 0,009$ $S = 0,00011$ $S_r = 0,009$ $S_{x\ cp} = 0,0042$ $\varepsilon_{cp} = 1,24\%$
Ампициллина тригидрат	«Жухай Юнайтед Лабораториз Ко, Лтд.», Китай Серия 31012115018A	12,93 13,18 12,91 12,78 12,99 13,02	$X_{cp} = 12,97$ $\Delta X_{cp} = 0,14$ $S = 0,1329$ $S_r = 0,010$ $S_{x\ cp} = 0,0542$ $\varepsilon_{cp} = 1,08\%$
Ампициллина тригидрат	«Шицзячжуан Фарм Групп Хэбэй Чжун-жунь Фармасьютикл Ко., Лтд.», Китай, Серия 401009091	13,11 12,96 12,87 13,02 12,77 12,80	$X_{cp} = 12,92$ $\Delta X_{cp} = 0,14$ $S = 0,1320$ $S_r = 0,010$ $S_{x\ cp} = 0,0539$ $\varepsilon_{cp} = 1,07\%$
Амоксициллина тригидрат	«Жухай Юнайтед Лабораториз Ко, Лтд.», Китай Серия 30812044008	12,91 12,99 12,84 13,07 13,13 12,77	$X_{cp} = 12,95$ $\Delta X_{cp} = 0,14$ $S = 0,1375$ $S_r = 0,011$ $S_{x\ cp} = 0,0561$ $\varepsilon_{cp} = 1,11\%$
Оксациллин натрия	«Сучжоу Эжуй Фармасьютикал Ко., Ltd», Китай Серия 101135	4,35 4,38 4,24 4,30 4,34 4,34	$X_{cp} = 4,33$ $\Delta X_{cp} = 0,05$ $S = 0,0113$ $S_r = 0,011$ $S_{x\ cp} = 0,0200$ $\varepsilon_{cp} = 1,19\%$

Продолжение таблицы 3

Субстанция	Производитель, серия	Найдено воды, %	Метрологические характеристики
Оксациллин натрия	«Фармацевтическая фабрика Сюйчжоу №2», Китай Серия 101139	4,37	$X_{cp} = 4,36$
		4,32	$\Delta X_{cp} = 0,04$
		4,36	$S = 0,0413$
		4,32	$S_r = 0,010$
		4,43	$S_{x\ cp} = 0,0169$
		4,38	$\varepsilon_{cp} = 0,99\%$

Проведена валидационная оценка методики кулонометрического определения воды в субстанции ампициллина тригидрата («Шицзячжуан Фарм Групп Хэбэй Чжун-жунь Фармасьютикл Ко., Лтд», Китай, Серия 401009091), соответствующая всем требованиям НД. Валидационная оценка проведена по показателям: специфичность, линейность и диапазон применения, правильность и прецизионность [48, 49].

Реакция, лежащая в основе метода Фишера, специфична в отношении воды [100]. Определение воды проводили на трех уровнях концентрации ампициллина во вводимой пробе в диапазоне 70–130% от уровня, принятого за 100% (табл. 2). Как видно из табл. 2, 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 HYDRANAL®–Check Solution 1.00 на 5 уровнях концентрации. Готовили пять растворов ампициллина тригидрата для введения в кулонометрическую ячейку на одном уровне концентрации ампициллина тригидрата. В ячейку одновременно вводили раствор ампициллина тригидрата, который содержит 0,7 мг воды (найденно предварительно), и различные количества стандарта воды HYDRANAL®–Check Solution 0–0,15–0,3–0,45–0,6 г. В результате получаем 5 модельных проб с содержанием воды 0,7–0,85–1,0–1,15–1,3 мг, так как в 1 г стандарта содержится 1 мг воды. Проводили определение содержания воды кулонометрическим

титрованием. 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 (рис. 3).

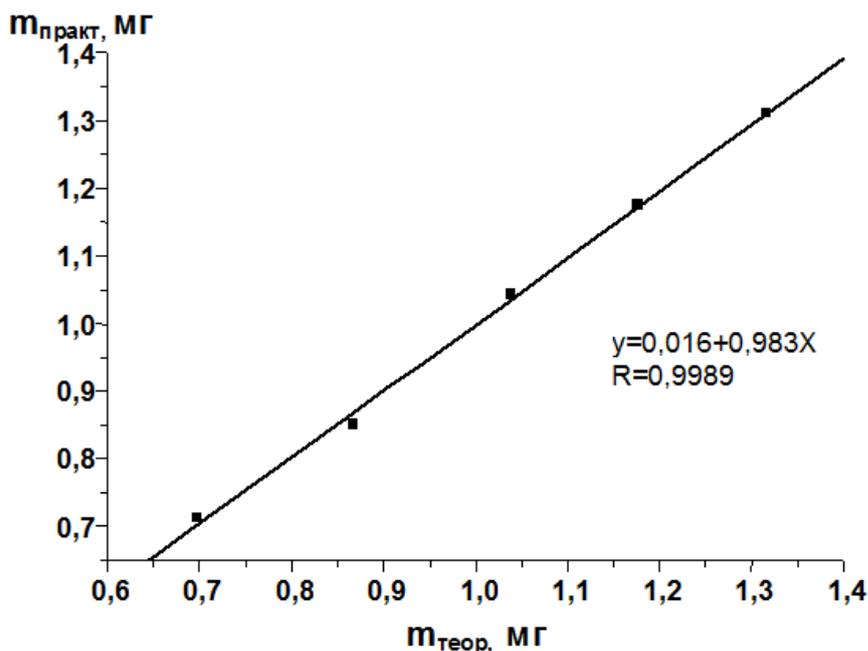


Рис. 3. Зависимость между найденным ($m_{\text{практик}}, \text{ МГ}$) и рассчитанным ($m_{\text{теор}}, \text{ МГ}$) содержанием воды в пробе.

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. 4). Прецизионность оценивали, определяя повторяемость (сходимость) предлагаемой методики по результатам 6 определений на одном уровне концентрации (табл. 3). Для оценки рассчитывали параметры: стандартное отклонение ($S=0,1320$), относительное стандартное отклонение ($S_r=0,010$) и доверительный интервал

($\Delta X_{cp}=0,014$). На основании полученных результатов можно считать предлагаемую методику валидной по показателю «прецизионность».

Таблица 4

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	15,98	99,3	$X_{cp} = 100,08$ $\Delta X_{cp} = 0,65$ $S = 0,8497$ $S_r = 0,009$ $S_{x\ cp} = 0,2832$ $\varepsilon_{cp}, \% = 0,65$
		16,20	16,36	101,0	
		16,16	16,40	101,5	
	+50%	19,36	19,28	99,6	
		19,30	19,38	100,4	
		19,41	19,20	98,9	
	+75%	22,50	22,55	100,2	
		22,62	22,70	100,4	
		22,58	22,45	99,4	

Методика: около 0,5 г (точная навеска) ампициллина натрия, или 0,08 г амоксициллина, или 0,08 г ампициллина тригидрата, или 0,13 г оксациллина растворяют в 5 г раствора Аква М[®]-Кулон AG (ампициллин натрия – в карбиноле) с использованием лабораторного шейкера «Vortex Genius 3» (ИКА, Германия) в течение одной минуты (для амоксициллина и ампициллина тригидрата). В кулонометрическую ячейку вводят 1 г приготовленного раствора (амоксициллина и ампициллина тригидрата – 0,5 г) шприцом, который взвешивают до и после ввода пробы. Перемешивают в течение 15 с. По окончании измерения содержание воды в пробе в мг выводится на цифровой дисплей прибора. Параллельно проводят контрольный опыт. Время титрования одной пробы – около 4 минут.

Таким образом, разработаны унифицированные методики кулонометрического определения воды по Фишеру в субстанциях ампициллина натрия, ампициллина тригидрата, амоксициллина тригидрата и оксациллина

натрия моногидрата. Методики отличаются хорошей сходимостью ($S_r=0,009-0,010$). Проведена валидационная оценка методики определения воды в субстанции ампициллина тригидрата. Методика валидна по показателям: специфичность, линейность и диапазон применения ($R=0,9989$), правильность ($100,08\pm 0,65\%$) и прецизионность ($S=0,1320$, $S_r=0,010$, $\Delta X_{cp}=0,014$).

3.2. Субстанции цефалоспоринов

Антибиотики группы цефалоспоринов занимают одно из важных мест в лечении инфекций различной локализации. В зависимости от структуры, спектра действия и устойчивости к β -лактамазам в настоящее время выделяют 4 поколения цефалоспоринов. Цефазолин (I поколения), цефуроксим (II поколения), цефотаксим, цефоперазон, цефтриаксон (III поколения) применяются парентерально в виде натриевых солей, цефепим (IV поколения) – парентерально в виде дигидрохлорида моногидрата, как самостоятельно, так и в смеси с аргинином (цефепим стерильный) и выпускаются во флаконах в виде порошка для инъекционных растворов [29]. НД рекомендует определять воду в данных субстанциях волюмометрическим титрованием по Фишеру или высушиванием (табл. 1).

При разработке методики для определения воды кулонометрическим титрованием подобраны оптимальная масса навесок и растворитель для извлечения воды из субстанций (табл. 5).

Таблица 5

Растворитель для извлечения воды из субстанций цефалоспоринов

Субстанция	Растворитель
Цефазолин натрия	Аква М [®] -Кулон АГ
Цефуроксим натрия	Аква М [®] -Кулон АГ:карбинол 1:1
Цефотаксим натрия	Аква М [®] -Кулон АГ
Цефтриаксон натрия	Аква М [®] -Кулон АГ
Цефоперазон натрия	Аква М [®] -Кулон АГ
Цефепим стерильный	Аква М [®] -Кулон АГ

Содержание воды в исследуемых субстанциях определяли на трех уровнях концентрации в диапазоне 70-130% от уровня, принятого за 100% (табл. 6). Относительное стандартное отклонение не превышало 0,02.

Таблица 6

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

Субстанция	Производитель, серия	Содержание субстанции в пробе, %	Найдено воды, %	S_r
Цефазолин натрия	«Харбин Фармасьютикал Груп, Ко., Лтд, Дженерал Фарм. Фэктори», Китай Серия А12120130210	2,0	0,95±0,02	0,016
		3,0	0,95±0,01	0,014
		4,0	0,96±0,02	0,018
Цефазолин натрия	«Цилу Антибиотикос Фармасьютикал Ко., Лтд», Китай Серия 20326LJ81В	2,0	1,36±0,03	0,020
		3,0	1,35±0,03	0,020
		4,0	1,36±0,02	0,010
Цефуроксим натрия	«ЭнСиПиСи Орхид Фармесеутикал Ко., Лтд», Китай Серия Н2091301010	3,5	2,49±0,03	0,010
		5,0	2,47±0,04	0,015
		6,5	2,48±0,04	0,013
Цефотаксим натрия	«Жухай Юнайтед Лабораториз Ко., Лтд», Китай Серия 3041303003	2,8	2,61±0,03	0,010
		4,0	2,62±0,02	0,005
		5,2	2,61±0,04	0,014
Цефотаксим натрия	«Сузхоу Данрайс Фармасьютикал Ко., Лтд», Китай, Серия 130440106	2,8	1,64±0,03	0,014
		4,0	1,60±0,03	0,018
		5,2	1,58±0,03	0,017
Цефтриаксон натрия	«Жухай Юнайтед Лабораториз Ко., Лтд», Китай Серия 3051212402	1,8	8,78±0,12	0,011
		2,5	8,77±0,09	0,010
		3,3	8,76±0,14	0,013
Цефоперазон натрия	«Цилу Антибиотикос Фармасьютикал Ко., Лтд», Китай Серия 20403LJ81D-А	2,3	3,54±0,06	0,016
		3,3	3,51±0,03	0,007
		4,2	3,53±0,07	0,019

Продолжение таблицы 6

Субстанция	Производитель, серия	Содержание субстанции в пробе, %	Найдено воды, %	S_r
Цефепим стерильный	«Orchid Chemicals Pharmaceuticals Ltd», Индия Серия 100030	3,5	2,23±0,04	0,016
		5,0	2,24±0,02	0,009
		6,5	2,24±0,03	0,011

Проведено определение воды в 6 навесках на среднем уровне концентрации (табл. 7, 8). Относительная ошибка среднего составила 1-2%.

Таблица 7

Определение воды в субстанциях цефалоспоринов на среднем уровне концентрации ($n=6$, $P=95\%$)

Субстанция	Производитель, серия	Найдено воды, %	Метрологические характеристики
Цефазолин натрия	«Харбин Фармасьютикал Груп, Ко., Лтд, Дженерал Фарм. Фэктори», Китай Серия A12120130210	0,95	$X_{cp} = 0,95$
		0,97	$\Delta X_{cp} = 0,02$
		0,93	$S = 0,0160$
		0,95	$S_r = 0,017$
		0,94	$S_{xcp} = 0,0065$
		0,97	$\varepsilon_{cp} = 1,77\%$
Цефазолин натрия	«Цилу Антибиотикос Фармасьютикал Ко., Лтд», Китай Серия 20326LJ81B	1,35	$X_{cp} = 1,35$
		1,32	$\Delta X_{cp} = 0,03$
		1,39	$S = 0,0306$
		1,33	$S_r = 0,02$
		1,32	$S_{xcp} = 0,0125$
		1,38	$\varepsilon_{cp} = 2,38\%$
Цефуроксим натрия	«ЭнСиПиСи Орхид Фармесеутикал Ко., Лтд», Китай Серия H2091301010	2,49	$X_{cp} = 2,47$
		2,52	$\Delta X_{cp} = 0,04$
		2,50	$S = 0,0148$
		2,45	$S_r = 0,015$
		2,43	$S_{xcp} = 0,0149$
		2,44	$\varepsilon_{cp} = 1,55\%$
Цефотаксим натрия	«Жухай Юнайтед Лабораториз Ко., Лтд», Китай Серия 3041303003	2,63	$X_{cp} = 2,62$
		2,62	$\Delta X_{cp} = 0,02$
		2,60	$S = 0,0126$
		2,63	$S_r = 0,005$
		2,63	$S_{xcp} = 0,00583$
		2,61	$\varepsilon_{cp} = 0,51\%$

Продолжение таблицы 7

Субстанция	Производитель, серия	Найдено воды, %	Метрологические характеристики
Цефтриаксон натрия	«Жухай Юнайтед Лабораториз Ко., Лтд», Китай Серия 3051212402	8,84	$X_{cp} = 8,77$
		8,90	$\Delta X_{cp} = 0,09$
		8,76	$S = 0,0900$
		8,66	$S_r = 0,010$
		8,78	$S_{xcp} = 0,0357$
		8,69	$\varepsilon_{cp} = 1,08\%$
Цефоперазон натрия	«Цилу Антибиотикос Фармасьютикал Ко., Лтд», Китай Серия 20403LJ81D-A	3,54	$X_{cp} = 3,51$
		3,49	$\Delta X_{cp} = 0,03$
		3,53	$S = 0,0242$
		3,48	$S_r = 0,007$
		3,49	$S_{xcp} = 0,0099$
		3,51	$\varepsilon_{cp} = 0,72\%$
Цефепим стерильный	«Orchid Chemicals Pharmaceuticals Ltd», Индия Серия 100030	2,24	$X_{cp} = 2,24$
		2,26	$\Delta X_{cp} = 0,02$
		2,22	$S = 0,0210$
		2,25	$S_r = 0,009$
		2,21	$S_{xcp} = 0,0086$
		2,26	$\varepsilon_{cp} = 0,98\%$

Проведена валидационная оценка методики кулонометрического определения воды в субстанции цефотаксима натрия («Сузхоу Данрайс Фармасьютикал Ко., Лтд», Китай, Серия 130440106), по показателям: специфичность, линейность и диапазон применения, правильность и прецизионность [48, 49].

Реакция, лежащая в основе метода Фишера, специфична в отношении воды [100]. Определение воды проводили на трех уровнях концентрации цефотаксима во вводимой пробе в диапазоне 70–130% от уровня, принятого за 100% (табл. 7). Результаты свидетельствуют о специфичности предложенной методики по отношению к воде. Относительное стандартное отклонение (S_r) не превышает 0,02.

Линейность и диапазон применения методики устанавливали путем статистической обработки выборки, полученной в результате анализа 5 модельных проб с добавлением известного количества HYDRANAL®–Check Solution 1.00 на 5 уровнях концентрации. Исследование зависимости между

между найденным и рассчитанным содержанием воды показало, что она имеет линейный характер и описывается уравнением: $y=a+bx$, где $a=0,019$, $b=0,985$. Значение тангенса угла наклона (b) входит в допустимые пределы 0,975-1,025. Рассчитанное значение коэффициента линейной корреляции составляет 0,9969 (рис. 4).

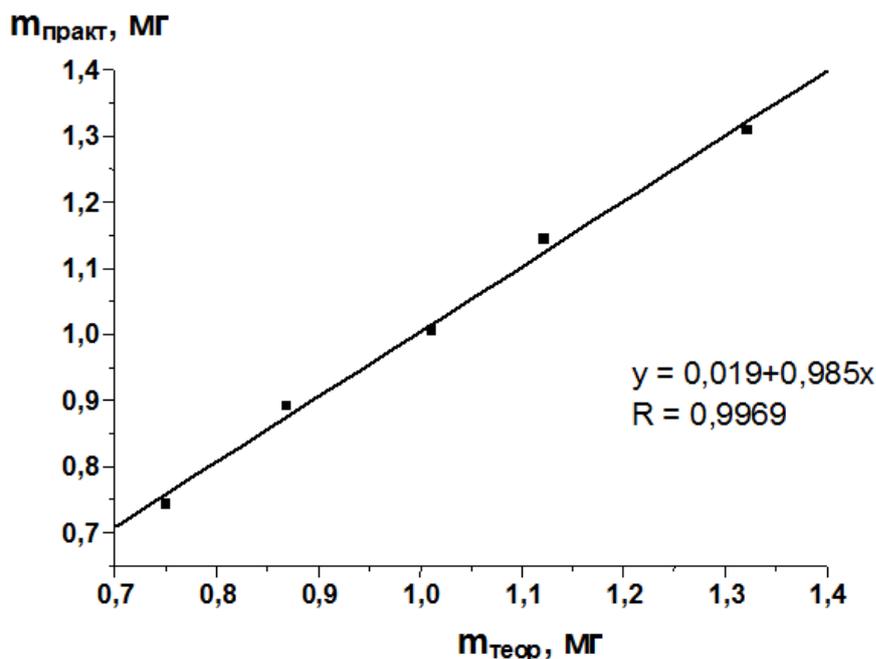


Рис. 4. Зависимость между найденным ($m_{\text{практик}}, \text{МГ}$) и рассчитанным ($m_{\text{теор}}, \text{МГ}$) содержанием воды в пробе.

Оценку правильности предлагаемой методики путем сравнения с арбитражным методом (метод высушивания) проводили по результатам 6 определений (табл. 8). Результаты эксперимента сопоставимы и не отягощены систематической ошибкой, что позволяет считать метод кулонометрического титрования валидным по показателю «правильность». Прецизионность оценивали, определяя повторяемость (сходимость) предлагаемой методики по результатам 6 определений на одном уровне концентрации (табл. 8). Для оценки рассчитаны параметры: стандартное отклонение ($S=0,0293$), относительное стандартное отклонение ($S_r=0,018$) и доверительный интервал ($\Delta X_{\text{ср}}=0,03$). На основании полученных результатов можно считать предлагаемую методику валидной по показателю «прецизионность».

Метрологическая оценка определения содержания воды в субстанции
цефотаксима ($n=6, P=95\%$)

Параметр	Метод кулонометрического титрования по Фишеру	Метод высушивания [110, С. 2869]
$X_i, \%$	1,60; 1,57; 1,59; 1,58; 1,62; 1,65	1,50; 1,60; 1,52; 1,58; 1,53; 1,59
$X_{cp}, \%$	1,60	1,55
S	0,0293	0,0418
S_r	0,018	0,027
$\Delta X_{cp}, \%$	0,03	0,04
$\varepsilon_{cp}, \%$	1,92	2,82

Титрование по Фишеру имеет оптимальный диапазон pH 5,5-8, в котором реакция протекает быстро и стехиометрически [113]. 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.

Методика: около 0,15 г (точная навеска) цефазолина, или 0,25 г цефуросима, или 0,20 г цефотаксима, или 0,13 г цефтриаксона, или 0,16 г цефоперазона, или 0,25 г цефепима стерильного растворяют в 5 г раствора Аква М[®]-Кулон AG (цефуросим – в смеси Аква М[®]-Кулон AG:карбинол 1:1) с использованием лабораторного шейкера «Vortex Genius 3» (ИКА, Германия) в течение одной минуты (цефазолин, цефтриаксон, цефоперазон, цефепим стерильный). В кулонометрическую ячейку вводят 1 г (цефазолина – 2 г, цефтриаксона – 0,5 г) приготовленного раствора шприцом, который взвешивают

до и после ввода пробы. Перемешивают в течение 15 с. По окончании измерения содержание воды в пробе выводится на цифровой дисплей прибора. Параллельно проводят контрольный опыт. Время титрования одной пробы – около 4 минут.

Таким образом, разработаны унифицированные методики кулонометрического определения воды по Фишеру в субстанциях натриевых солей цефазолина, цефуроксима, цефотаксима, цефтриаксона, цефоперазона и цефепима стерильного. Проведена валидационная оценка методики определения воды в субстанции цефотаксима натрия. Методика валидна по показателям: специфичность, линейность и диапазон применения, правильность и прецизионность.

3.3. Субстанция эритромицина

С момента получения эритромицина в 50-х годах XX века и до настоящего времени он с успехом применяется при лечении различных инфекций. Эритромицин относится к группе макролидов и эффективен в отношении грамположительных и некоторых грамотрицательных микроорганизмов. Редко вызывает тяжелые побочные эффекты. Является препаратом выбора при коклюше, легионеллезе, хламидиозе у беременных и детей до 8 лет, дифтерии (в сочетании с антидифтерийной сывороткой), резервным препаратом при непереносимости пенициллинов и некоторых других антибиотиков [47].

Одним из показателей качества фармацевтической субстанции эритромицина является содержание воды: не более 6,5% [67, с. 1802] и не более 10,0% [110, с. 3443], которое определяется волюмометрическим титрованием по Фишеру (табл.1).

Разработана и валидирована методика кулонометрического определения воды в субстанции эритромицина по показателям: специфичность, линейность и диапазон применения, правильность и прецизионность [48, 49]. В качестве растворителя нами предложено использовать фоновый электролит Аква М[®]-Кулон AG.

Результаты определения воды на трех уровнях концентрации эритромицина во вводимой пробе в диапазоне 70–130% от уровня, принятого за 100% (табл. 9) свидетельствуют о специфичности предложенной методики. Относительное стандартное отклонение (S_r) не превышает 0,01.

Таблица 9

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

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% (рис. 5).

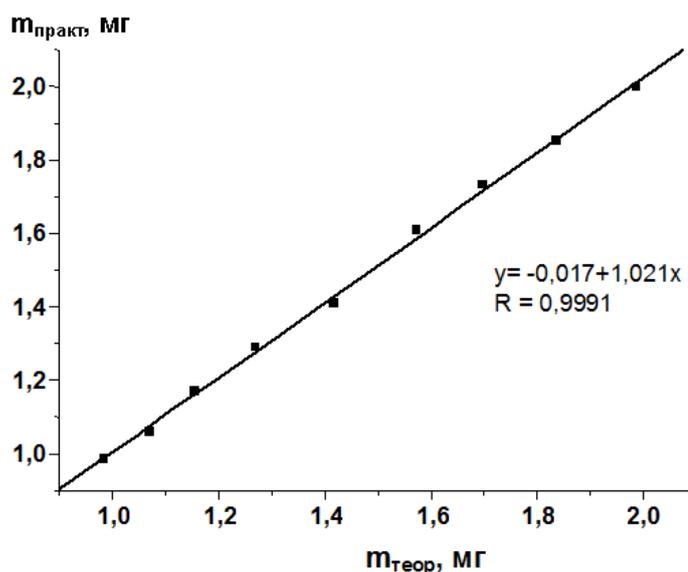


Рис. 5. Зависимость между найденным ($m_{\text{практик}}$, мг) и рассчитанным ($m_{\text{теор}}$, мг) содержанием воды в пробе.

Исследование зависимости между найденным и рассчитанным содержанием воды 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

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. 10). Оценку правильности предлагаемой методики путем сравнения с арбитражным методом, проводили по результатам 6 определений (табл. 11). Результаты сопоставимы и не отягощены систематической ошибкой. Метод кулонометрического титрования валиден по показателям «правильность».

Таблица 10

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	5,03	101,0	$X_{cp} = 100,23$ $\Delta X_{cp} = 0,52$ $S = 0,6823$ $S_r = 0,007$ $S_{x\ cp} = 0,2276$ $\varepsilon_{cp}, \% = 0,52$
		5,00	5,01	100,2	
		5,08	5,16	101,6	
	+50%	5,92	5,93	100,2	
		5,86	5,82	99,3	
		5,67	5,65	99,6	
	+75%	6,81	6,83	100,3	
		6,91	6,92	100,1	
		6,99	7,01	100,3	

Метрологическая оценка определения содержания воды в субстанции
эритромицина ($n=6$, $P=95\%$)

Параметр	Метод кулонометрического титрования по Фишеру	Метод волюмометрического титрования по Фишеру
X_i , %	3,98; 3,91; 3,96; 3,95; 3,92; 3,94	3,97; 4,02; 3,94; 4,05; 3,84; 3,89
X_{cp} , %	3,94	3,95
S	0,0258	0,0788
S_r	0,007	0,020
ΔX_{cp} , %	0,03	0,08
ε_{cp} , %	0,69	2,09

Прецизионность оценивали, определяя повторяемость (сходимость) предлагаемой методики по результатам 6 определений на одном уровне концентрации (табл. 11). Для оценки рассчитаны параметры: стандартное отклонение ($S=0,0258$), относительное стандартное отклонение ($S_r=0,007$) и доверительный интервал ($\Delta X_{cp}=0,03$). На основании полученных результатов можно считать предлагаемую методику валидной по показателю «прецизионность».

Методика: около 0,125 г (точная навеска) эритромицина растворяют в 5 г раствора Аква М[®]-Кулон AG с содержанием воды не более 0,05%. В кулонометрическую ячейку вносят 1 г приготовленного раствора шприцом, который взвешивают до и после ввода пробы. Перемешивают в течение 15 с. По окончании измерения содержание воды в пробе в мг выводится на цифровой дисплей кулонометра. Параллельно проводят контрольный опыт. Время титрования одной пробы – около 4 минут.

Таким образом, разработана и валидирована методика кулонометрического определения воды по Фишеру в субстанции эритромицина. Методика валидна по показателям: специфичность, линейность и диапазон применения, правильность и прецизионность.

3.4. Субстанции фторхинолонов

Моксифлоксацин и левофлоксацин относятся к группе "респираторных" фторхинолонов, отличительным свойством которых является высокая активность против пневмококков, включая пенициллинорезистентные штаммы, микоплазм и хламидий. Применяются для лечения инфекций дыхательных путей, инфекций кожи и мягких тканей [47].

Нормативная документация рекомендует определять содержание воды волнометрическим титрованием по Фишеру в субстанции моксифлоксацина и левофлоксацина (табл. 1).

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 реакции и скорость реакции, что было подтверждено дополнительно проверкой правильности титрования по стандарту воды после окончания определений. Содержание воды определяли на трех уровнях концентрации в диапазоне 70-130% от уровня концентрации, принятого за 100% (табл. 12). Относительное стандартное отклонение не превышало 0,02.

Таблица 12

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

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

Проведено определение воды в 6 навесках на среднем уровне концентрации (табл. 13). Относительная ошибка среднего составила 1,19-2,11%.

Таблица 13

Определение воды на среднем уровне концентрации ($n=6, P=95\%$)

Субстанция	Производитель, серия	Найдено воды, %	Метрологические характеристики
Моксифлоксацина гидрохлорид	«MSM Pharmachem Pvt/Limited», Индия, MM0010111	3,35	$X_{cp} = 3,40$
		3,45	$\Delta X_{cp} = 0,04$
		3,38	$S = 0,0383$
		3,36	$S_r = 0,01$
		3,41	$S_{x\ cp} = 0,0157$
		3,42	$\varepsilon_{cp} = 1,19\%$
Левифлоксацина гемигидрат	«Jingxin Pharm», Китай, Серия DK21-1003011	2,59	$X_{cp} = 2,54$
		2,52	$\Delta X_{cp} = 0,05$
		2,51	$S = 0,0513$
		2,57	$S_r = 0,02$
		2,60	$S_{x\ cp} = 0,0209$
		2,47	$\varepsilon_{cp} = 2,11\%$

Проведена валидационная оценка методики кулонометрического определения воды в субстанции левофлоксацина гемигидрата по показателям: специфичность, линейность и диапазон применения, правильность и прецизионность [48, 49].

Определение воды проводили на трех уровнях концентрации левофлоксацина во вводимой пробе в диапазоне 70–130% от уровня, принятого за 100% (табл. 12). Результаты свидетельствуют о специфичности предложенной методики по отношению к воде. Относительное стандартное отклонение (S_r) не превышает 0,02.

Линейность и диапазон применения методики устанавливали путем статистической обработки выборки, полученной в результате анализа 5 модельных проб с добавлением известного количества HYDRANAL®–Check Solution 1.00 с содержанием воды $1,00 \pm 0,03$ мг H_2O /г (Fluka, Германия) 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 $a= -0,01$, $b=1,01$. Рассчитанное значение коэффициента линейной корреляции составляет 0,9977 (рис. 6).

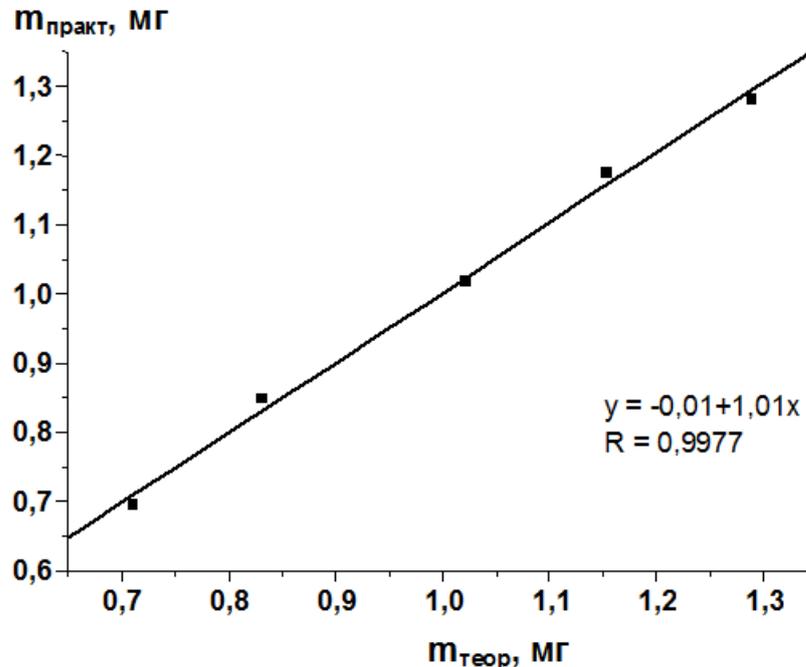


Рис. 6. Зависимость между найденным ($m_{\text{практик}}$, МГ) и рассчитанным ($m_{\text{теор}}$, МГ) содержанием воды в пробе.

Правильность предлагаемой методики оценивали методом добавок путем внесения в субстанцию левофлоксацина 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. 14). Прецизионность оценивали, определяя повторяемость (сходимость) предлагаемой методики по результатам 6 определений на одном уровне концентрации (табл. 13). Для оценки рассчитаны параметры: стандартное отклонение ($S=0,0513$), относительное стандартное отклонение ($S_r=0,02$) и доверительный интервал ($\Delta X_{\text{ср}}=0,05$). На основании полученных результатов можно считать предлагаемую методику валидной по показателю «прецизионность».

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	3,18	99,4	$X_{cp} = 100,1$ $\Delta X_{cp} = 0,6$ $S = 0,8388$ $S_r = 0,008$ $S_{x\ cp} = 0,2796$ $\varepsilon_{cp, \%} = 0,64$
		3,15	3,20	101,5	
		3,20	3,23	101,0	
	+50%	3,70	3,71	100,4	
		3,81	3,80	99,6	
		3,76	3,77	100,2	
	+75%	4,50	4,52	100,4	
		4,45	4,42	99,4	
		4,48	4,43	98,9	

Методика: около 0,15 г (точная навеска) моксифлоксацина или 0,2 г левофлоксацина растворяют в 5 г раствора Аква М[®]-Кулон АГ (моксифлоксацин) или в 5 г смеси хлороформа:карбинола 7:3 (левофлоксацин). В кулонометрическую ячейку вносят 1 г приготовленного раствора шприцом, который взвешивают до и после ввода пробы. Перемешивают в течение 15 с. По окончании измерения содержание воды в пробе в мг выводится на цифровой дисплей кулонометра. Параллельно проводят контрольный опыт. Время титрования одной пробы – около 4 минут.

Таким образом, разработаны унифицированные методики для определения воды кулонометрическим титрованием по Фишеру в субстанциях моксифлоксацина гидрохлорида и левофлоксацина гемигидрата. Валидационная оценка методики по показателям: специфичность, линейность и диапазон применения, правильность и прецизионность показала ее пригодность для определения воды в субстанции левофлоксацина гемигидрата.

Выводы по главе 3

В субстанциях антибактериальных средств НД рекомендует метод высушивания или волюмометрическое титрование. Впервые нами разработаны методики кулонометрического определения воды в субстанциях ампициллина натрия, ампициллина тригидрата, амоксициллина тригидрата, оксациллина натрия моногидрата, цефазолина натрия, цефуроксима натрия, цефотаксима натрия, цефоперазона натрия, цефтриаксона натрия, цефепима гидрохлорида моногидрата, эритромицина, моксифлоксацина гидрохлорида и левофлоксацина гемигидрата, которые отличаются простотой проведения эксперимента, хорошей воспроизводимостью и точностью, позволяют уменьшить расход реактива Фишера. В качестве растворителя нами предложен Аква М[®]-Кулон АГ, позволяющий восполнять содержание диоксида серы в фоновом электролите, тем самым увеличивая число анализов в одной кулонометрической ячейке без замены фонового электролита, при этом не возникает проблем с «плавающей» или «исчезающей» конечной точкой титрования, которая нередко наблюдается при волюмометрическом титровании по Фишеру. По сравнению с методом высушивания, в котором определяется вода и летучие вещества, кулонометрическое титрование по Фишеру в виду специфичности реакции позволяет определять только воду. Унификация аналитических методик кулонометрического определения содержания воды в широком диапазоне от 0,9 до 13,0% в субстанциях достигается за счёт формирования единого подхода к определению воды.

Валидационная оценка ряда разработанных методик показала их специфичность (независимо от содержания вещества в пробе определяется одинаковое содержание воды), линейность (коэффициент линейной корреляции не менее 0,9969) и диапазон применения, правильность и прецизионность (относительное стандартное отклонение составило 0,007–0,020).

Глава 4.

Определение содержания воды в лекарственных формах антибактериальных лекарственных средств

4.1. Порошок для приготовления раствора для внутримышечного и внутривенного введения

В лекарственной форме "порошок для приготовления раствор для внутримышечного и внутривенного введения" выпускаются препараты на основе субстанций: ампициллин, ампициллин в сочетании с сульбактамом, цефазолин, цефуроксим, цефотаксим, цефтриаксон, цефоперазон и цефепим, в виде натриевых солей, кроме цефепима.

Для определения воды в порошках для приготовления раствора для внутримышечного и внутривенного введения нормативной документацией рекомендовано использовать волюмометрическое титрование по методу Фишера или метод высушивания (для цефотаксима) (табл. 1).

Определение воды в препаратах ампициллина, цефазолина, цефуроксима, цефотаксима, цефтриаксона, цефоперазона (в виде натриевых солей) и цефепима проводился по методикам, предложенным для субстанций этих веществ (Глава 3). Все вещества растворимы в выбранном растворителе (табл. 15).

Таблица 15

Действующее вещество	Растворитель
Ампициллин натрия	Карбинол
Ампициллин натрия/сульбактам	Карбинол
Цефазолин натрия	Аква М [®] -Кулон АГ
Цефуроксим натрия	Аква М [®] -Кулон АГ:карбинол 1:1
Цефотаксим натрия	Аква М [®] -Кулон АГ
Цефтриаксон натрия	Аква М [®] -Кулон АГ
Цефоперазон натрия	Аква М [®] -Кулон АГ
Цефепим в смеси с аргинином	Аква М [®] -Кулон АГ

В случае препарата ампициллин/сульбактам («Амписид») было показано, что сульбактам не взаимодействует с компонентами реактива Фишера и не мешает определению воды. Кривые титрования, полученные на кулонометре "Эксперт-007" автоматически, идентичны (рис. 7).

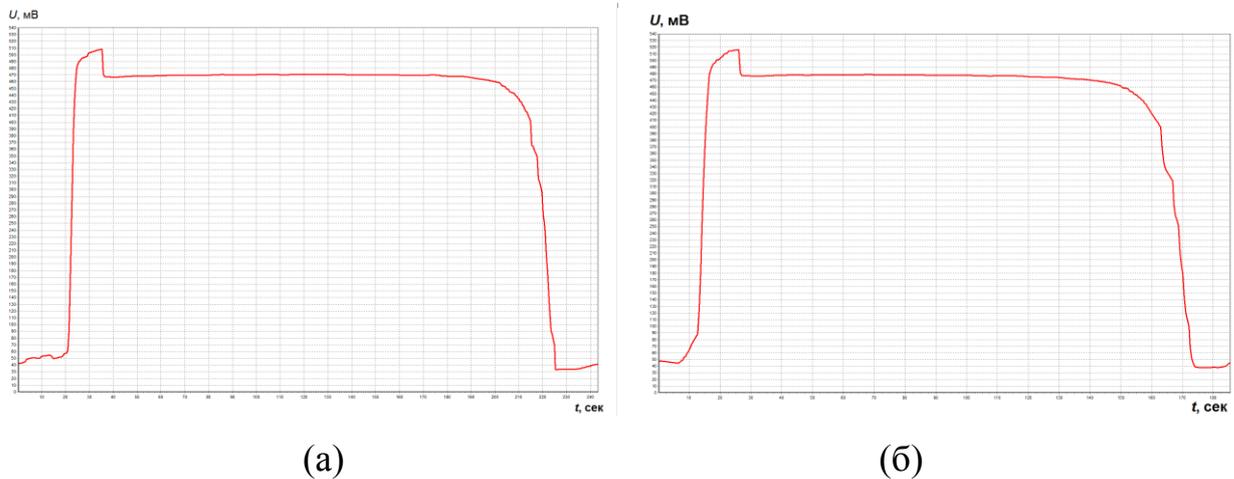


Рис. 7. Кривая кулонометрического титрования для субстанции ампициллина натрия (а) и препарата ампициллина/сульбактама (б).

Содержание воды определяли на трех уровнях концентрации субстанций в диапазоне 70-130% от уровня, принятого за 100% (табл. 16). Независимо от содержания образца в пробе находится одинаковое содержание воды.

Таблица 16

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

МНН	Коммерческое название, производитель, серия	Содержание субстанции в пробе, %	Найдено воды, %	S_T
Ампициллин (в виде натриевой соли)	Ампициллин 1000 мг, ОАО «Синтез», Россия Серия 630214	7,0	$0,68 \pm 0,02$	0,019
		10,0	$0,71 \pm 0,02$	0,02
		13,0	$0,70 \pm 0,02$	0,02
	Ампициллин 1000 мг, ОАО «Синтез», Россия Серия 1890913	7,0	$1,47 \pm 0,04$	0,02
		10,0	$1,48 \pm 0,04$	0,02
		13,0	$1,44 \pm 0,03$	0,019

МНН	Коммерческое название, производитель, серия	Содержание субстанции в пробе, %	Найдено воды, %	S_r
Ампициллин/ сульбактам	Амписид 1000 мг+500 мг "Мустафа Невзат Илач Санаи А.Ш.", Турция Серия 12К36041А	7,0	0,60±0,01	0,019
		10,0	0,62±0,01	0,017
		13,0	0,61±0,02	0,020
Цефазолин (в виде натриевой соли)	Цефазолин 1,0 г, ООО «Компания «Деко», Россия, Серия 30114	2,0	1,37±0,03	0,02
		3,0	1,39±0,04	0,02
		4,0	1,40±0,04	0,02
Цефуроксим (в виде натриевой соли)	Зинацеф 1,0 г, «ГлаксоСмитКляйн», Италия, Серия P503	2,8	2,49±0,06	0,02
		4,0	2,46±0,04	0,016
		5,2	2,54±0,03	0,009
Цефотаксим (в виде натриевой соли)	Цефотаксим 1,0 г ОАО «Биосинтез», Россия, Серия 530412	2,8	0,40±0,01	0,020
		4,0	0,40±0,01	0,020
		5,2	0,41±0,01	0,016
Цефтриаксон (в виде натриевой соли)	Цефтриаксон ЛЕКСВМ 1,0 г, ОАО «Редкинский опытный завод», Россия, Серия 0920814	1,7	9,19±0,03	0,013
		2,5	9,20±0,04	0,015
		3,3	9,19±0,04	0,005
Цефоперазон (в виде натриевой соли)	Цефобид 1,0 г «Пфайзер Инк.», США Серия 13600700	2,0	4,3±0,1	0,020
		3,0	4,3±0,1	0,018
		4,0	4,3±0,1	0,016
Цефепим	Цефепим-Виал 1,0 г ООО «Виал», Россия Серия 140503	2,8	2,18±0,04	0,010
		4,0	2,23±0,04	0,016
		5,2	2,22±0,03	0,016

Было проведено определение воды в 6 навесках на среднем уровне концентрации (табл. 17). Относительное стандартное отклонение не превышало 0,03. Относительная ошибка среднего составила 2-3%.

Таблица 17

Метрологические характеристики определения воды на среднем уровне концентрации в порошках для приготовления раствора для внутривенного и внутримышечного введения ($n=6$, $P=95\%$)

МНН	Коммерческое название, производитель, серия	Найдено воды %, X_i	Метрологические характеристики
Ампициллин (в виде натриевой соли)	Ампициллин 1000 мг, ОАО «Синтез», Россия Серия 630214	0,70 0,69 0,71 0,70 0,73 0,72	$X_{cp} = 0,71$ $\Delta X_{cp} = 0,02$ $S = 0,0147$ $S_r = 0,02$ $S_{x\ cp} = 0,0060$ $\varepsilon_{cp}, \% = 2,18$
	Ампициллин 1000 мг, ОАО «Синтез», Россия Серия 1890913	1,44 1,53 1,45 1,50 1,46 1,47	$X_{cp} = 1,48$ $\Delta X_{cp} = 0,04$ $S = 0,0339$ $S_r = 0,02$ $S_{x\ cp} = 0,0138$ $\varepsilon_{cp}, \% = 2,41$
Ампициллин + сульбактам	Амписид 1000 мг/500 мг "Мустафа Невзат Илач Санаи А.Ш.", Турция Серия 12К36041А	0,61 0,60 0,61 0,60 0,62 0,59	$X_{cp} = 0,61$ $\Delta X_{cp} = 0,01$ $S = 0,0105$ $S_r = 0,017$ $S_{x\ cp} = 0,0043$ $\varepsilon_{cp}, \% = 1,82$
Цефазолин (в виде натриевой соли)	Цефазолин 1,0 г, ООО «Компания «Деко», Россия Серия 30114	1,43 1,36 1,37 1,35 1,38 1,45	$X_{cp} = 1,39$ $\Delta X_{cp} = 0,04$ $S = 0,0405$ $S_r = 0,029$ $S_{x\ cp} = 0,0165$ $\varepsilon_{cp}, \% = 3,06$

Продолжение таблицы 17

МНН	Коммерческое название, производитель, серия	Найдено воды %, X_i	Метрологические характеристики
Цефуроксим (в виде натриевой соли)	Зинацеф, «ГлаксоСмитКляйн», Италия Серия Р503	2,45 2,42 2,43 2,53 2,48 2,46	$X_{cp} = 2,46$ $\Delta X_{cp} = 0,04$ $S = 0,0397$ $S_r = 0,016$ $S_{x\ cp} = 0,0162$ $\varepsilon_{cp}, \% = 1,69$
Цефотаксим (в виде натриевой соли)	Цефотаксим 1,0 г ОАО «Биосинтез», Россия, Серия 530412	0,396 0,390 0,412 0,420 0,399 0,405	$X_{cp} = 0,40$ $\Delta X_{cp} = 0,01$ $S = 0,0110$ $S_r = 0,027$ $S_{x\ cp} = 0,0045$ $\varepsilon_{cp}, \% = 2,86$
Цефтриаксон (в виде натриевой соли)	Цефтриаксон ЛЕКСВМ, ОАО «Редкинский опытный завод», Россия Серия 0920814	8,95 9,16 9,25 9,20 9,30 9,34	$X_{cp} = 9,20$ $\Delta X_{cp} = 0,15$ $S = 0,1387$ $S_r = 0,015$ $S_{x\ cp} = 0,0566$ $\varepsilon_{cp}, \% = 1,58$
Цефоперазон (в виде натриевой соли)	Цефобид 1 г, «Пфайзер Инк.», США Серия 13600700	4,37 4,44 4,32 4,29 4,35 4,20	$X_{cp} = 4,33$ $\Delta X_{cp} = 0,08$ $S = 0,0808$ $S_r = 0,019$ $S_{x\ cp} = 0,0330$ $\varepsilon_{cp}, \% = 1,96$
Цефепим	Цефепим-Виал 1,0 г «ООО «Виал», Россия Серия 140503	2,20 2,15 2,22 2,18 2,25 2,23	$X_{cp} = 2,21$ $\Delta X_{cp} = 0,04$ $S = 0,0362$ $S_r = 0,016$ $S_{x\ cp} = 0,0148$ $\varepsilon_{cp}, \% = 1,72$

Методика: около 0,5 г (точная навеска) ампициллина, или 0,5 г ампициллина/сульбактама, или 0,15 г цефазолина, или 0,20 г цефуроксима, или 0,20 г цефотаксима, или 0,13 г цефтриаксона, или 0,15 г цефоперазона, или 0,20 г цефепима растворяют в 5 г Аква М[®]-Кулон АГ (ампициллин и ампициллин/сульбактам – в карбиноле, цефуроксим – в смеси Аква М[®]-Кулон АГ:карбинол 1:1) с использованием лабораторного шейкера «Vortex Genius 3» (ИКА, Германия) в течение одной минуты (цефазолин, цефтриаксон, цефоперазон, цефепим). В кулонометрическую ячейку вводят 1 г приготовленного раствора шприцом, который взвешивают до и после ввода пробы (цефазолина – 2 г, цефтриаксона – 0,5 г). Перемешивают в течение 15 с. По окончании измерения содержание воды в пробе в мг регистрируют с дисплея кулонометра. Параллельно проводят контрольный опыт.

Проведена валидационная оценка методики кулонометрического определения воды в лекарственной форме цефотаксима «порошок для приготовления раствора для внутривенного и внутримышечного введения» по показателям: специфичность, линейность и диапазон применения, правильность и прецизионность [48, 49].

Результаты определения воды на трех уровнях концентрации в порошке для приготовления раствора для внутривенного и внутримышечного введения во вводимой пробе в диапазоне 70–130% от уровня, принятого за 100% (табл. 16) свидетельствуют о специфичности предложенной методики. Относительное стандартное отклонение (S_r) не превышает 0,03.

Линейность и диапазон применения методики устанавливали путем статистической обработки выборки, полученной в результате анализа 5 модельных проб с добавлением известного количества HYDRANAL[®]-Check Solution 1.00 на 5 уровнях концентрации (рис. 8). Исследование зависимости между найденным и рассчитанным содержанием воды в пробе показало, что она имеет линейный характер и описывается уравнением: $y=a+bx$, где $a=0,016$, $b=0,987$. Рассчитанное значение коэффициента линейной корреляции составляет 0,9970.

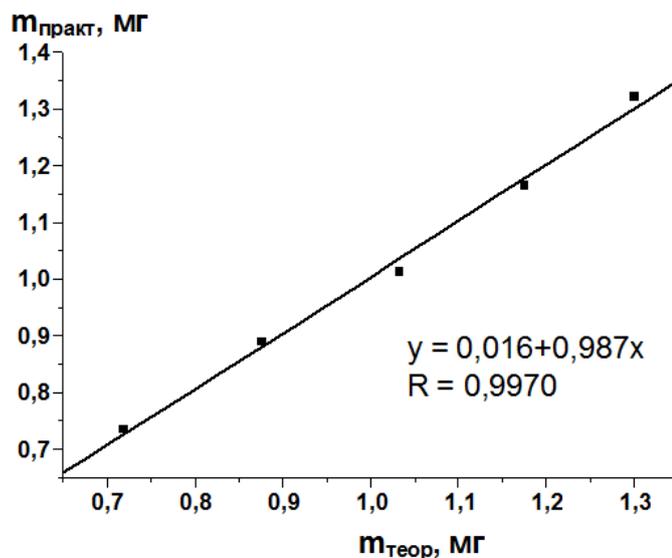


Рис. 8. Зависимость между найденным ($m_{\text{прат}}, \text{МГ}$) и рассчитанным ($m_{\text{теор}}, \text{МГ}$) содержанием воды в пробе.

Оценку правильности предлагаемой методики проводили путем сравнения с арбитражным методом по результатам 6 определений на одном уровне концентрации (табл. 18). Результаты эксперимента сопоставимы и не отягощены систематической ошибкой, что позволяет считать метод кулонометрического титрования валидным по показателю «правильность».

Таблица 18

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

Параметр	Кулонометрическое титрование по Фишеру	Метод высушивания [110, С. 2871]
$X_i, \%$	0,396; 0,390; 0,412; 0,420; 0,399; 0,405	0,381; 0,389; 0,412; 0,418; 0,402; 0,428
$X_{\text{ср}}, \%$	0,40	0,41
S	0,0110	0,0187
S_r	0,027	0,05
$\Delta X_{\text{ср}}, \%$	0,01	0,02
$\varepsilon_{\text{ср}}, \%$	2,86	4,62

Прецизионность оценивали, определяя повторяемость (сходимость) предлагаемой методики по результатам 6 определений на одном уровне концентрации (табл. 18). Для оценки рассчитаны параметры: стандартное отклонение ($S=0,0110$), относительное стандартное отклонение ($S_r=0,027$) и доверительный интервал ($\Delta X_{cp}=0,01$). На основании полученных результатов можно считать предлагаемую методику валидной по показателю «прецизионность».

Таким образом, разработаны унифицированные методики кулонометрического определения воды по Фишеру в лекарственной форме "порошок для приготовления раствора для внутривенного и внутримышечного введения" лекарственных средств: ампициллин, ампициллин/сульбактам, цефазолин, цефуроксим, цефотаксим, цефтриаксон, цефоперазон, цефепим. Проведена валидационная оценка методики определения воды в порошке для приготовления раствора для внутривенного и внутримышечного введения цефотаксима. Методика валидна по показателям: специфичность, линейность и диапазон применения, правильность и прецизионность.

4.2. Таблетки

В виде таблеток выпускаются препараты ампициллина, амоксициллина/клавулановой кислоты.

Для определения воды в таблетках нормативной документацией рекомендовано использовать волюмометрическое титрование по методу Фишера (табл. 1).

В качестве растворителя нами предложено использовать Аква М[®]-Кулон АG. 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. 9). Как видно из рис. 9, через 30 минут вода полностью извлекается из пробы и найденное содержание воды с течением времени не изменяется.

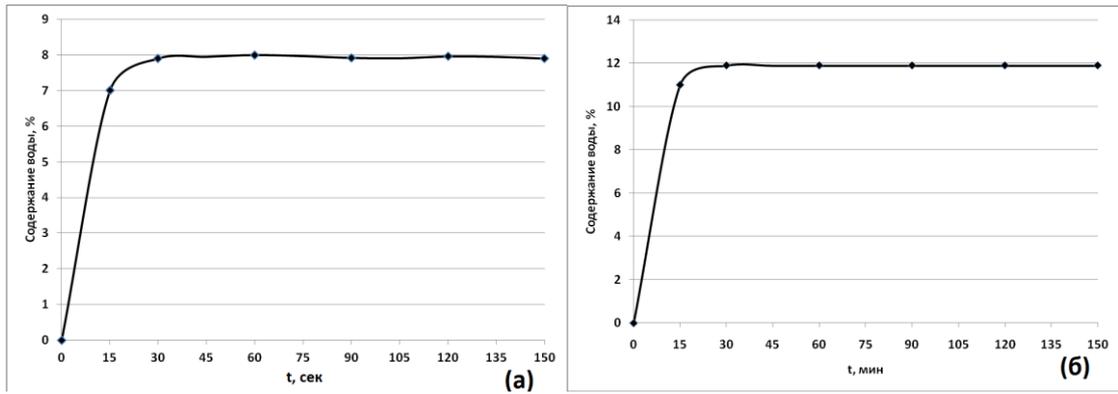


Рис. 9. Содержание воды в таблетках амоксициллина/клавулановой кислоты 500 мг+125 мг (а) и ампициллина 250 мг (б) в зависимости от времени растворения в растворителе.

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 таблетках на трёх уровнях концентрации ($n=5$, $P=95\%$)

МНН	Коммерческое название, производитель, серия	Содержание субстанции в пробе, %	Найдено воды, %	S_r
Ампициллин (в форме тригидрата)	Ампициллин 250 мг ЗАО «Производственная фармацевтическая компания 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
	Ампициллин 250 мг ОАО «Биохимик», Россия Серия 091113	1,0	11,9±0,3	0,018
		1,5	11,9±0,3	0,017
		2,0	11,9±0,2	0,013
Амоксициллин/ клавулановая кислота	Аугментин 250 мг+125 мг «Смит Кляйн Бичем ПиЭлСи», Великобритания Серия 647188	1,0	7,26±0,12	0,012
		1,5	7,25±0,15	0,017
		2,0	7,28±0,15	0,017
	Аугментин 500 мг+125 мг «Смит Кляйн Бичем ПиЭлСи», Великобритания Серия 654125	1,0	7,42±0,14	0,015
		1,5	7,43±0,11	0,012
		2,0	7,41±0,13	0,014

Продолжение таблицы 19

МНН	Коммерческое название, производитель, серия	Найдено воды %, X_i	Метрологические характеристики	
Амоксициллин/ клавулановая кислота	Амоксиклав 500 мг+125 мг «Лек Д.Д.», Словения Серия ED6404	1,0	7,96±0,16	0,016
		1,5	7,93±0,11	0,011
		2,0	7,90±0,12	0,012
	Экоклав 500 мг+125 мг «АВВА РУС», Россия Серия 80414	1,0	7,26±0,12	0,014
		1,5	7,29±0,12	0,013
		2,0	7,23±0,09	0,018
	Аугментин 875 мг+125 мг «Смит Кляйн Бичем ПиЭлСи», Великобритания Серия 657554	1,0	6,87±0,04	0,005
		1,5	6,92±0,06	0,008
		2,0	6,91±0,08	0,008

Было проведено определение в 6 навесках на среднем уровне концентрации (табл. 20). Относительная ошибка среднего составила 1-2%.

Таблица 20

Метрологические характеристики определения воды на среднем уровне концентрации в таблетках ($n=6$, $P=95\%$)

МНН	Коммерческое название, производитель, серия	Найдено воды %, X_i	Метрологические характеристики
Ампициллин (в форме тригидрата)	Ампициллин 250 мг ЗАО «Производственная фармацевтическая компания Обновление», Россия, Серия 51113	11,76	$X_{cp} = 11,9$
		11,68	$\Delta X_{cp} = 0,1$
		11,97	$S = 0,1172$
		11,83	$S_r = 0,010$
		11,86	$S_{x\ cp} = 0,0479$
		11,98	$\varepsilon_{cp}, \% = 1,04$
		11,89	$X_{cp} = 11,8$
	Ампициллин 250 мг ОАО «Биохимик», Россия Серия 091113	11,70	$\Delta X_{cp} = 0,2$
		11,95	$S = 0,0322$
		11,96	$S_r = 0,015$
		11,99	$S_{x\ cp} = 0,0733$
		11,54	$\varepsilon_{cp}, \% = 1,59$

Продолжение таблицы 20

МНН	Коммерческое название, производитель, серия	Найдено воды %, X_i	Метрологические характеристики	
Амоксициллин/ клавулановая кислота	Аугментин 250 мг+125 мг «Смит Кляйн Бичем ПиЭлСи», Великобритания Серия 647188	7,15	$X_{cp} = 7,25$	
		7,26	$\Delta X_{cp} = 0,08$	
		7,24	$S = 0,0757$	
		7,35	$S_r = 0,01$	
		7,18	$S_{x\ cp} = 0,0309$	
		7,31	$\varepsilon_{cp}, \% = 1,10$	
	Аугментин 500 мг+125 мг «Смит Кляйн Бичем ПиЭлСи», Великобритания Серия 654125	7,31	$X_{cp} = 7,43$	
		7,51	$\Delta X_{cp} = 0,09$	
		7,52	$S = 0,0830$	
		7,41	$S_r = 0,011$	
		7,37	$S_{x\ cp} = 0,0339$	
		7,47	$\varepsilon_{cp}, \% = 1,17$	
	Амоксициллин/ клавулановая кислота	Амоксиклав 500 мг+125 мг «Лек Д.Д.», Словения Серия ED6404	7,80	$X_{cp} = 7,91$
			8,06	$\Delta X_{cp} = 0,1$
			7,97	$S = 0,0941$
			7,85	$S_r = 0,012$
			7,91	$S_{x\ cp} = 0,0384$
			7,86	$\varepsilon_{cp}, \% = 1,25$
	Экоклав 500 мг+125 мг «АВВА РУС», Россия Серия 80414	7,27	$X_{cp} = 7,26$	
		7,22	$\Delta X_{cp} = 0,11$	
7,08		$S = 0,1087$		
7,29		$S_r = 0,015$		
7,41		$S_{x\ cp} = 0,0444$		
7,30		$\varepsilon_{cp}, \% = 1,57$		
Аугментин 875 мг+125 мг «Смит Кляйн Бичем ПиЭлСи», Великобритания Серия 657554	6,91	$X_{cp} = 6,92$		
	6,90	$\Delta X_{cp} = 0,06$		
	6,84	$S = 0,0534$		
	6,92	$S_r = 0,008$		
	6,99	$S_{x\ cp} = 0,0218$		
	6,97	$\varepsilon_{cp}, \% = 0,81$		

Методика: около 0,08 г (точная навеска) измельченных таблеток растворяют в 5 г Аква М[®]-Кулон АГ. В кулонометрическую ячейку вносят 1 г приготовленного раствора шприцом, который взвешивают до и после ввода пробы. Время перемешивания – 15 с. По окончании измерения содержание воды

в пробе в мг выводится на цифровой дисплей кулонометра автоматически. Параллельно проводят контрольный опыт.

Проведена валидационная оценка методики кулонометрического определения воды в таблетках Амоксиклава 500 мг+125 мг по показателям: специфичность, линейность и диапазон применения, правильность и прецизионность [49, 49].

Результаты определения воды на трех уровнях концентрации таблеточной массы во вводимой пробе в диапазоне 70–130% от уровня, принятого за 100% (табл. 19), свидетельствуют о специфичности предложенной методики. Относительное стандартное отклонение (S_r) не превышает 0,02. 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 в диапазоне 0,7–1,3 мг воды в пробе (рис. 10).

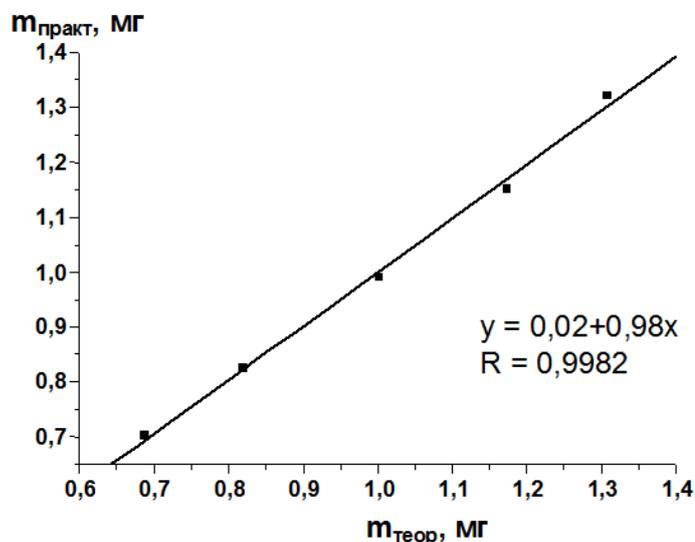


Рис. 10. Зависимость между найденным ($m_{\text{пратк}}, \text{мг}$) и рассчитанным ($m_{\text{теор}}, \text{мг}$) содержанием воды в пробе.

Исследование зависимости между найденным и рассчитанным содержанием воды в пробе показало, что она имеет линейный характер и описывается уравнением: $y = a + bx$, где $a = 0,020$, $b = 0,98$. Рассчитанное значение коэффициента линейной корреляции составляет 0,9982.

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 содержания воды в таблетках Амоксиклава. 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. 21). Результаты эксперимента не отягощены систематической ошибкой и метод кулонометрического титрования валиден по показателям «правильность». Прецизионность оценивали, определяя повторяемость (сходимость) предлагаемой методики по результатам 6 определений на одном уровне концентрации (табл. 20). Для оценки рассчитаны параметры: стандартное отклонение ($S=0,0941$), относительное стандартное отклонение ($S_r=0,012$) и доверительный интервал ($\Delta X_{cp}=0,1$). На основании полученных результатов можно считать предлагаемую методику валидной по показателю «прецизионность».

Таблица 21

Результаты определение содержания воды в таблетках Амоксиклава 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	9,93	100,8	$X_{cp} = 100,3$ $\Delta X_{cp} = 0,95$ $S = 1,2414$ $S_r = 0,012$ $S_{x\ cp} = 0,4138$ $\varepsilon_{cp}, \% = 0,95$
		9,88	9,94	100,6	
		9,91	9,85	99,4	
	+50%	11,84	12,08	102,0	
		11,85	12,00	101,3	
		11,90	11,84	99,5	
	+75%	13,83	14,01	101,3	
		13,80	13,53	98,0	
		13,79	13,75	99,7	

Таким образом, разработаны унифицированные методики кулонометрического определения воды по Фишеру в таблетках ампициллина и

амоксициллина+клавулановой кислоты. Проведена валидационная оценка методики определения воды в таблетках Амоксиклава 500 мг+125 мг. Методика валидна по показателям: специфичность, линейность и диапазон применения, правильность и прецизионность.

4.3. Капсулы

В виде капсул выпускаются препараты амоксициллина в дозировках 250 мг и 500 мг. Для определения воды в капсулах амоксициллина нормативной документацией рекомендовано использовать волюмометрическое титрование по методу Фишера – не более 14,5% (табл. 1).

В качестве растворителя нами предложено использовать Аква М[®]-Кулон АГ. Ввиду того, что некоторые вспомогательные вещества содержимого капсул не полностью растворяются в выбранном растворителе, было проведено определение содержания воды в зависимости от времени растворения содержимого капсул амоксициллина 500 мг (рис. 11). Как видно из рис. 11, через 30 минут вода полностью извлекается из пробы и найденное содержание воды с течением времени не изменяется.

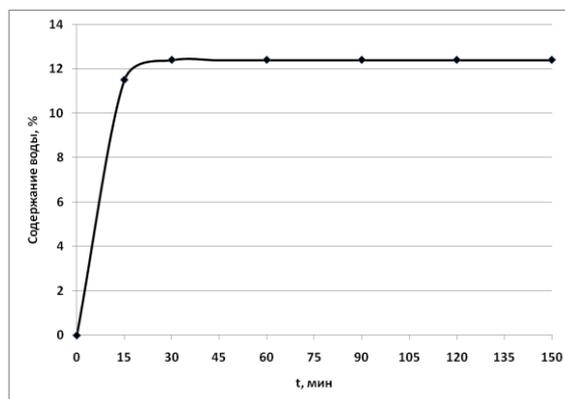


Рис. 11. Содержание воды в капсулах амоксициллина 500 мг в зависимости от времени растворения в растворителе.

Содержание воды в лекарственных препаратах определяли на трех уровнях концентрации вещества в диапазоне 70-130% от уровня, принятого за 100% (табл. 22). Относительное стандартное отклонение не превышает 0,02.

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

МНН	Коммерческое название, производитель, серия	Содержание вещества в пробе, %	Найдено воды, %	S_r
Амоксициллин (в форме тригидрата)	Амоксициллин 250 мг, Хемофарм А.Д., Сербия 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 500 мг, Хемофарм А.Д., Сербия 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 500 мг Хемофарм А.Д., Сербия Серия 1400323	1	11,5±0,2	0,017
		1,5	11,5±0,2	0,015
		2	11,5±0,2	0,014

Было проведено определение в 6 навесках на среднем уровне концентрации (табл. 23). Относительная ошибка среднего составила 1-2%.

Таблица 23

Метрологические характеристики определения воды в капсулах амоксициллина на среднем уровне концентрации ($n=6, P=95\%$)

Лекарственный препарат, производитель, серия	Найдено воды %, X_i	Метрологические характеристики
Амоксициллин капсулы 250 мг Хемофарм А.Д., Сербия Серия 1301145	12,28	$X_{cp} = 12,3$ $\Delta X_{cp} = 0,2$ $S = 0,1674$ $S_r = 0,014$ $S_{x\ cp} = 0,0683$ $\varepsilon_{cp}, \% = 1,43$
	12,34	
	12,18	
	12,13	
	12,59	
	12,19	
Амоксициллин капсулы 500 мг Хемофарм А.Д., Сербия Серия 1301340	12,26	$X_{cp} = 12,5$ $\Delta X_{cp} = 0,2$ $S = 0,1429$ $S_r = 0,011$ $S_{x\ cp} = 0,0583$ $\varepsilon_{cp}, \% = 1,20$
	12,29	
	12,62	
	12,48	
	12,54	
	12,50	

Продолжение таблицы 23

Лекарственный препарат, производитель, серия	Найдено воды %, X_i	Метрологические характеристики
Амоксициллин капсулы 500 мг Хемофарм А.Д., Сербия Серия 1400323	11,46	$X_{cp} = 11,5$
	11,74	$\Delta X_{cp} = 0,2$
	11,46	$S = 0,1776$
	11,75	$S_r = 0,015$
	11,30	$S_{x\ cp} = 0,0725$
	11,48	$\varepsilon_{cp}, \% = 1,62$

Методика: около 0,08 г (точная навеска) содержимого капсул растворяют в 5 г Аква М[®]-Кулон АГ. В кулонометрическую ячейку вносят 1 г приготовленного раствора шприцом, который взвешивают до и после ввода пробы. Время перемешивания – 15 с. По окончании измерения содержание воды в пробе в мг выводится на цифровой дисплей кулонометра автоматически. Параллельно проводят контрольный опыт.

Проведена валидационная оценка методики кулонометрического определения воды в капсулах амоксициллина (серия 1400323) по показателям: специфичность, линейность и диапазон применения, правильность и прецизионность [48, 49].

Результаты определения воды на трех уровнях концентрации содержимого капсул амоксициллина во вводимой пробе в диапазоне 70–130% от уровня, принятого за 100% (табл. 22) свидетельствуют о специфичности предложенной методики. Относительное стандартное отклонение (S_r) не превышает 0,02.

Линейность и диапазон применения методики устанавливали путем статистической обработки выборки, полученной в результате анализа 5 проб с добавлением известного количества стандарта воды HYDRANAL[®]–Check Solution 1.00 на 5 уровнях концентрации воды. Исследование зависимости между найденным и рассчитанным содержанием воды в пробе показало, что она имеет линейный характер и описывается уравнением: $y=a+bx$, где $a=0,008$, $b=0,992$. Рассчитанное значение коэффициента линейной корреляции составляет 0,9982 (рис. 12).

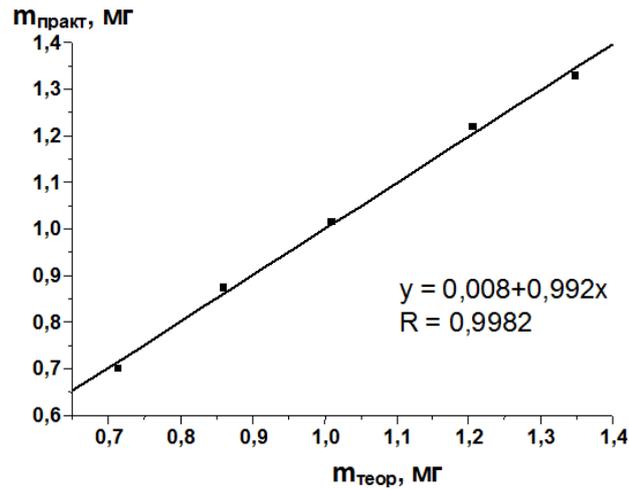


Рис. 12. Зависимость между найденным ($m_{\text{практик}}$, мг) и рассчитанным ($m_{\text{теор}}$, мг) содержанием воды в пробе.

Правильность предлагаемой методики оценивали методом добавок путём одновременного внесения в ячейку пробы анализируемого вещества и стандарта воды HYDRANAL[®]–Check Solution 1.00 на трех уровнях концентрации воды: 125, 150, 175% от найденного (табл. 24)

Таблица 24

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	$X_{\text{ср}} = 99,83$ $\Delta X_{\text{ср}} = 0,61$ $S = 0,7994$ $S_r = 0,008$ $S_{x \text{ ср}} = 0,2665$ $\varepsilon_{\text{ср}}, \% = 0,62$
		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	

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». Результаты эксперимента не отягощены систематической ошибкой и метод кулонометрического титрования валиден по показателям «правильность».

Прецизионность оценивали, определяя повторяемость (сходимость) предлагаемой методики по результатам 6 определений на одном уровне концентрации (табл. 23). Для оценки рассчитаны параметры: стандартное отклонение ($S=0,0315$), относительное стандартное отклонение ($S_r=0,015$) и доверительный интервал ($\Delta X_{cp}=0,2$). На основании полученных результатов можно считать предлагаемую методику валидной по показателю «прецизионность».

Таким образом, разработаны унифицированные методики кулонометрического определения воды по Фишеру в капсулах амоксициллина. Проведена валидационная оценка методики определения воды в капсулах Амоксиллина 500 мг. Методика валидна по показателям: специфичность, линейность и диапазон применения, правильность и прецизионность.

4.4. Порошок/гранулы для приготовления суспензии для приёма внутрь

В виде порошка и гранул для приготовления суспензии для приёма внутрь выпускаются препараты амоксициллина, амоксициллина/клавулановой кислоты с разными дозировками.

Для определения воды в гранулах для приготовления суспензии для приёма внутрь амоксициллина и порошке для приготовления суспензии для приёма внутрь амоксициллина/клавулановой кислоты нормативной документацией рекомендовано использовать волюмометрическое титрование по методу Фишера (табл. 1).

В качестве растворителя нами предложено использовать Аква М[®]-Кулон AG. Ввиду того, что некоторые вспомогательные вещества порошка/гранул для

приготовлении суспензии для приёма 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. 13). Как видно из рис. 13, через 30 минут вода полностью извлекается из пробы и найденное содержание воды с течением времени не изменяется.

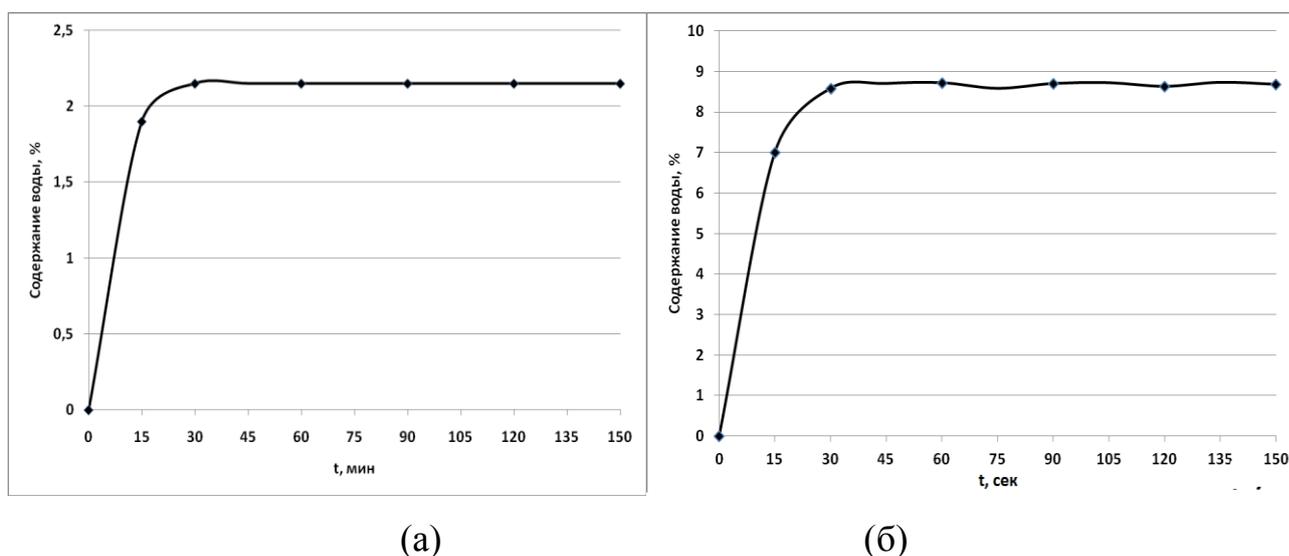


Рис. 13. Содержание воды в гранулах амоксициллина (а) и в порошке амоксициллина/клавулановой кислоты (б) для приготовления суспензии для приёма внутрь в зависимости от времени растворения в растворителе.

Содержание воды в лекарственных препаратах определяли на трех уровнях концентрации вещества в диапазоне 70-130% от уровня, принятого за 100% (табл. 25) и в 6 навесках на среднем уровне концентрации (табл. 26). Относительное стандартное отклонение не превышала 0,02. Относительная ошибка среднего составила 1-2%.

Определение воды в антибактериальных препаратах с лекарственной формой порошок/гранулы для приготовления суспензии на трёх уровнях концентрации
($n=5$, $P=95\%$)

МНН	Коммерческое название, производитель, серия	Содержание субстанции в пробе, %	Найдено воды, %	S_r
Амоксициллин (в виде тригидрата)	Амоксициллин 250 мг/5 мл Хемофарм А.Д., Сербия Серия 1300814	3,5	2,17±0,05	0,02
		5,0	2,15±0,05	0,02
		6,5	2,18±0,05	0,02
Амоксициллин + клавулановая кислота	Амоксиклав 125 мг + 31,25 мг/5 мл, «Лек Д.Д.», Словения Серия ЕА4867	1,4	4,55±0,09	0,016
		2,0	4,51±0,11	0,019
		2,6	4,57±0,10	0,018
	Амоксиклав 250 мг + 62,5 мг в 5 мл «Лек Д.Д.», Словения Серия ЕВ2035	1,4	5,01±0,09	0,014
		2,0	5,09±0,10	0,015
		2,6	5,10±0,06	0,009
	Аугментин 400 мг + 57,5 мг в 5 мл «Смит Кляйн Бичем ПиЭлСи», Великобритания Серия 649468	1,0	8,63±0,16	0,015
		1,5	8,64±0,08	0,007
		2,0	8,60±0,12	0,011
	Аугментин ЕС 600 мг + 42,9 мг в 5 мл «Смит Кляйн Бичем ПиЭлСи», Великобритания Серия 868	1,0	9,95±0,12	0,010
		1,5	9,95±0,13	0,011
		2,0	10,00±0,17	0,013

Метрологические характеристики определения воды на среднем уровне концентрации ($n=6, P=95\%$)

МНН	Коммерческое название, производитель, серия	Найдено воды %, X_i	Метрологические характеристики
Амоксициллин (в виде тригидрата)	Амоксициллин 250 мг/5 мл Хемофарм А.Д., Сербия Серия 1300814	2,13	$X_{cp} = 2,15$ $\Delta X_{cp} = 0,05$ $S = 0,0432$ $S_r = 0,02$ $S_{x\ cp} = 0,0176$ $\varepsilon_{cp}, \% = 2,11$
		2,21	
		2,19	
		2,10	
		2,12	
		2,17	
Амоксициллин + клавулановая кислота	Амоксиклав 125 мг + 31,25 мг/5 мл «Лек Д.Д.», Словения Серия ЕА4867	4,51	$X_{cp} = 4,53$ $\Delta X_{cp} = 0,06$ $S = 0,0553$ $S_r = 0,01$ $S_{x\ cp} = 0,0226$ $\varepsilon_{cp}, \% = 1,28$
		4,55	
		4,49	
		4,63	
		4,51	
		4,48	
	Амоксиклав 250 мг + 62,5 мг в 5 мл «Лек Д.Д.», Словения Серия ЕВ2035	5,11	$X_{cp} = 5,09$ $\Delta X_{cp} = 0,10$ $S = 0,0981$ $S_r = 0,019$ $S_{x\ cp} = 0,0400$ $\varepsilon_{cp}, \% = 2,03$
		4,95	
		5,23	
		5,13	
		5,06	
	Аугментин 400 мг + 57,5 мг в 5 мл «Смит Кляйн Бичем ПиЭлСи», Великобритания Серия 649468	8,58	$X_{cp} = 8,66$ $\Delta X_{cp} = 0,07$ $S = 0,0628$ $S_r = 0,007$ $S_{x\ cp} = 0,0256$ $\varepsilon_{cp}, \% = 0,76$
		8,60	
		8,72	
		8,63	
	Аугментин ЕС 600 мг + 42,9 мг в 5 мл «Смит Кляйн Бичем ПиЭлСи», Великобритания Серия 868	8,73	$X_{cp} = 9,99$ $\Delta X_{cp} = 0,14$ $S = 0,1358$ $S_r = 0,014$ $S_{x\ cp} = 0,0554$ $\varepsilon_{cp}, \% = 1,43$
8,68			
9,89			
9,79			
10,02			
10,18			
10,06			
9,97			

Методика: около 0,08 г (точная навеска) порошка или измельченных гранул растворяют в 5 г Аква М[®]-Кулон АГ. В кулонометрическую ячейку вносят 0,5-1 г приготовленного раствора шприцом, который взвешивают до и после ввода пробы. Время перемешивания – 15 с. По окончании измерения содержание воды в пробе в мг выводится на цифровой дисплей кулонометра автоматически. Параллельно проводят контрольный опыт.

Проведена валидационная оценка методики кулонометрического определения воды в лекарственной форме амоксициллина/клавулановой кислоты «порошок для приготовления суспензии для приёма внутрь» по показателям: специфичность, линейность и диапазон применения, правильность и прецизионность [48, 49]. Результаты определения воды на трех уровнях концентрации препарата во вводимой пробе в диапазоне 70–130% от уровня, принятого за 100% (табл. 25), свидетельствуют о специфичности предложенной 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 (рис. 14).

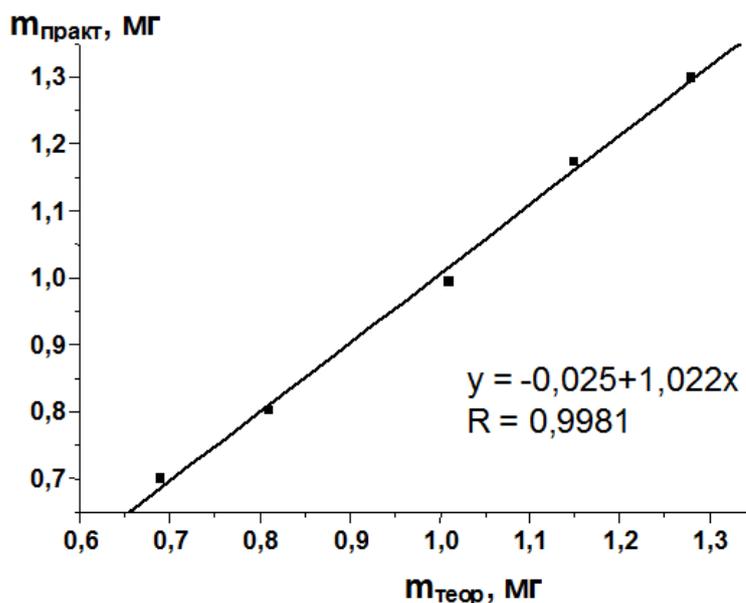


Рис. 14. Зависимость между найденным ($m_{\text{практик}}, \text{ мг}$) и рассчитанным ($m_{\text{теор}}, \text{ мг}$) содержанием воды в пробе.

Исследование зависимости между найденным и рассчитанным содержанием воды в пробе показало, что она имеет линейный характер и описывается уравнением: $y=a+bx$, где $a= -0,025$, $b=1,022$. Рассчитанное значение коэффициента линейной корреляции составляет 0,9981.

Правильность предлагаемой методики оценивали методом добавок путем внесения в испытуемый образец 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. 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. 27).

Таблица 27

Результаты определение содержания воды в порошке для приготовления суспензии для приёма внутрь 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	10,48	97,8	$X_{cp} = 99,4$ $\Delta X_{cp} = 1,1$ $S = 1,3797$ $S_r = 0,014$ $S_{x\ cp} = 0,4599$ $\varepsilon_{cp}, \% = 1,07$
		10,81	10,86	100,5	
		10,76	10,52	97,8	
	+50%	12,85	12,88	100,2	
		12,92	12,80	99,0	
		12,90	12,84	99,5	
	+75%	14,95	15,01	100,4	
		15,05	14,73	97,9	
		15,01	15,25	101,6	

Прецизионность оценивали, определяя повторяемость (сходимость) предлагаемой методики по результатам 6 определений на одном уровне

концентрации (табл. 26). Для оценки рассчитаны параметры: стандартное отклонение ($S=0,0941$), относительное стандартное отклонение ($S_r=0,012$) и доверительный интервал ($\Delta X_{cp}=0,1$). На основании полученных результатов можно считать предлагаемую методику валидной по показателю «прецизионность».

Таким образом, разработаны унифицированные методики кулонометрического определения воды по Фишеру в гранулах для приготовления суспензии для приёма внутрь ампициллина и порошке для приготовления суспензии для приёма внутрь амоксициллин/клавулановая кислота. Проведена валидационная оценка методики определения воды в порошке для приготовления суспензии для приёма внутрь Аугментина 400 мг+57,5 мг в 5 мл. Методика валидна по показателям: специфичность, линейность и диапазон применения, правильность и прецизионность.

4.5. Мази

В виде мази выпускаются препараты эритромицина: мазь для наружного применения и мазь глазная.

Для определения воды в эритромицина мази для наружного применения и мази глазной нормативной документацией рекомендовано использовать волюмометрическое титрование по методу Фишера. Содержание воды не более 1,0% (Табл. 1).

Для извлечения воды из мазей 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. 28). Относительное стандартное отклонение не превышает 0,08.

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 для наружного применения 10000 ЕД/г (ОАО «Биосинтез», Россия, серия 50514)	5,0	0,073±0,005	0,05
	7,0	0,071±0,007	0,08
	10,0	0,074±0,005	0,05
Эритромицина мазь глазная 10000 ЕД/г (ОАО «Татхимфармпрепараты», Россия, серия 20214)	5,0	0,059±0,005	0,06
	7,0	0,056±0,003	0,04
	10,0	0,052±0,003	0,04

Было проведено определение в 6 навесках на среднем уровне концентрации (табл. 29). Относительная ошибка среднего составила 6-8%.

Таблица 29

Метрологическая оценка определения содержания воды на среднем уровне
концентрации в мази ($n=6$, $P=95\%$)

Лекарственный препарат, производитель, серия	Найдено воды %, X_i	Метрологические характеристики
Эритромицина мазь для наружного применения 10000 ЕД/г ОАО «Биосинтез», Россия Серия 50514	0,062	$X_{cp} = 0,071$
	0,074	$\Delta X_{cp} = 0,006$
	0,069	$S = 0,0054$
	0,073	$S_r = 0,076$
	0,071	$S_{x\ cp} = 0,0022$
	0,078	$\varepsilon_{cp}, \% = 7,99$
Эритромицина мазь глазная 10000 ЕД/г ОАО «Татхимфармпрепараты», Россия Серия 20214	0,051	$X_{cp} = 0,055$
	0,055	$\Delta X_{cp} = 0,003$
	0,057	$S = 0,0030$
	0,059	$S_r = 0,055$
	0,056	$S_{x\ cp} = 0,0012$
	0,052	$\varepsilon_{cp}, \% = 5,79$

Методика: около 0,35 г (точная навеска) мази растворяют в 5 г смеси толуола и карбинола в соотношении 7:3. В кулонометрическую ячейку вносят около 3 г приготовленного раствора шприцом, который взвешивают до и после ввода пробы. Перемешивают в течение 15 с. Титруют до установления конечной точки титрования. По окончании измерения содержание воды в пробе в мг регистрируют с дисплея кулонометра. Параллельно проводят контрольный опыт. Время титрования одной пробы с содержанием воды 1 мг – около 4 минут.

Проведена валидационная оценка методики кулонометрического определения воды в препарате «Эритромицина мазь глазная 10000 ЕД/г» по показателям: специфичность, линейность и диапазон применения, правильность и прецизионность. Результаты определения воды на трех уровнях концентрации мази эритромицина во вводимой пробе в диапазоне 70–130% от уровня, принятого за 100% (табл. 28), свидетельствуют о специфичности предложенной 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 (рис. 15).

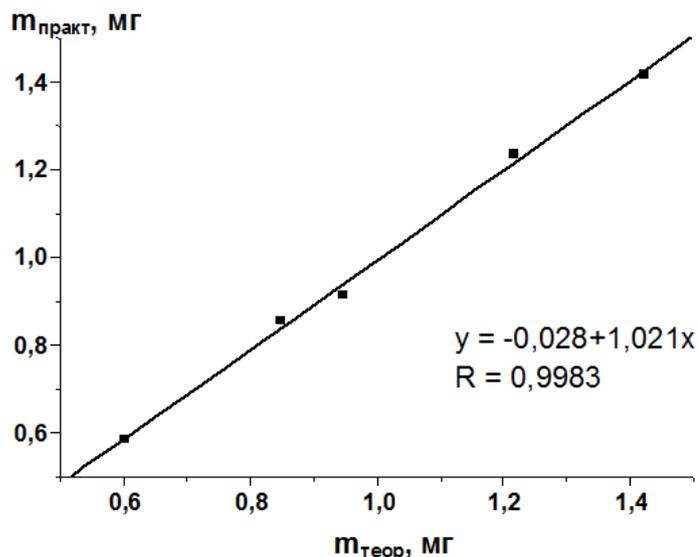


Рис. 15. Зависимость между найденным ($m_{\text{практик}}, \text{ мг}$) и рассчитанным ($m_{\text{теор}}, \text{ мг}$) содержанием воды в пробе.

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. 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. 30). Результаты эксперимента не отягощены систематической ошибкой и метод кулонометрического титрования валиден по показателям «правильность».

Таблица 30

Результаты определения 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	0,068	97,14	$X_{cp} = 99,22$ $\Delta X_{cp} = 1,81$ $S = 2,3575$ $S_r = 0,02$ $S_{x\ cp} = 0,7858$ $\varepsilon_{cp}, \% = 1,83$
		0,074	0,075	101,35	
		0,068	0,066	97,06	
	+50%	0,081	0,083	102,47	
		0,079	0,077	97,47	
		0,084	0,082	97,62	
	+75%	0,105	0,107	101,90	
		0,110	0,111	100,91	
		0,102	0,099	97,05	

Прецизионность оценивали, определяя повторяемость (сходимость) предлагаемой методики по результатам 6 определений на одном уровне

концентрации (табл. 29) . Для оценки рассчитаны параметры: стандартное отклонение ($S=0,0030$), относительное стандартное отклонение ($S_r=0,055$) и доверительный интервал ($\Delta X_{cp}=0,003$). На основании полученных результатов можно считать предлагаемую методику валидной по показателю «прецизионность».

Таким образом, разработаны унифицированные методики кулонометрического определения воды по Фишеру в мази и глазной мази эритромицина. Проведена валидационная оценка методики определения воды в глазной мази эритромицина. Методика валидна по показателям: специфичность, линейность и диапазон применения, правильность и прецизионность.

4.6. Проект изменения к общей фармакопейной статье «Определение воды»

В настоящее время отечественная ОФС «Определение воды» не содержит сведений о возможности определения воды в лекарственных формах. Были проанализированы требования зарубежных фармакопей: Европейской, США, Японии, Китая и Индии. В фармакопеях Японии и США показатель «Вода»/«Потеря в массе при высушивании» является обязательным для лекарственных препаратов: капсулы пироксикама [110, с. 4818], линкомицина [110, с. 4118], амоксициллина [109, с. 379] (волюмометрическое титрование по Фишеру), капсулы канамицина [110, с. 4033] и таблетки панкрелипазы [110, с. 4677] (метод высушивания), порошок для приготовления раствора для внутривенного и внутримышечного введения амикацина сульфата [109, с. 362] и т.д. Кулонометрическое титрование по Фишеру рекомендовано для определения воды в порошках для инъекций: амифостина – лекарственного средства для профилактики токсических эффектов алкилирующих онкологических препаратов (содержание воды 18,0–22,0%) [110, с. 2434], цефотетана – цефалоспорин (содержание воды не более 2,8%) [110, с. 2873], глюкогона (содержание воды не более 4,0%) [110, с. 3741] и фамотидина (содержание воды не более 1,5%)

[109, с. 823], а также в гранулах цефтерама (содержание воды не более 0,3%) [109, с. 590].

На основании полученных данных и разработанных методик для определения воды в субстанциях и лекарственных формах антибактериальных средств, 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» (приложение А). Предложено кулонометрическое определение воды в лекарственных формах: порошок для приготовления раствора для внутривенного и внутримышечного введения, таблетки, капсулы, порошок для приготовления суспензии для приёма внутрь, мазь.

Если образец представляет собой капсулы, то используют навеску перемешанного содержимого капсул. Если образец представляет собой таблетки, то используют навеску из порошка предварительно измельченных таблеток. Если образец представляет собой гранулы, то используют навеску из порошка предварительно измельченных гранул. Если образец представляет собой порошок для приготовления раствора для внутривенного и внутримышечного введения или мазь, то используют навеску содержимого первичной упаковки.

Выводы по главе 4

Рекомендуемый НД метод волюмометрического титрования по Фишеру в лекарственных формах антибактериальных средств требует предварительной стандартизации титранта, большого расхода реактива Фишера. Эти недостатки снимаются при кулонометрическом титровании по Фишеру.

Впервые нами разработаны методики определения воды в лекарственных препаратах: 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, подобраны условия извлечения воды (растворитель, время растворения) и оптимальная масса навески. Кулонометрическое титрование по Фишеру существенно упрощает процедуру определения воды и сокращает время анализа. Единый подход к выбору растворителя, оптимальной навески позволяет унифицировать методики для лекарственных препаратов, как с низким (0,06%), так и высоким (13%) содержанием воды.

Разработанные методики отличаются хорошей сходимостью результатов (относительное стандартное отклонение составляет 0,06-0,08 при содержании воды 0,06-0,07% и составляет 0,01-0,03 при содержании воды 0,7-12,5%). Валидационная оценка ряда разработанных методик показала их специфичность (независимо от содержания вещества в пробе определяется одинаковое содержание воды), линейность (коэффициент линейной корреляции не менее 0,9970) и диапазон применения, правильность (99,2-100,3%) и прецизионность.

ОБЩИЕ 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 стандартное 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 стандартное 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 использованных сокращений

БИК – Ближняя инфракрасная спектроскопия

ГХ – Газовая хроматография

ГХ-МС - Газовая хроматография, совмещённая с масс-спектрометрией

ГФ V - Государственная фармакопея пятого издания

ГФ VIII - Государственная фармакопея восьмого издания

ГФ IX – Государственная фармакопея девятого издания

ГФ X – Государственная фармакопея десятого издания

ГФ XI – Государственная фармакопея одиннадцатого издания

ГФ XII – Государственная фармакопея двенадцатого издания

ЕФ – Европейская фармакопея

ИК-диапазон - Инфракрасный диапазон спектра

К.т.т. – Конечная точка титрования

ЛС – Лекарственное средство

ЛФ - Лекарственная форма

НД – Нормативная документация

ОФС – Общая фармакопейная статья

СПФ – Спектрофотометрия

ТГА-МС – Термогравиметрический анализ, совмещённый с масс-спектрометрией

УФ-диапазон – Ультрафиолетовый диапазон спектра

ЭПР – Электронный парамагнитный резонанс

ЯМР – Ядерно-магнитный резонанс

Список литературы

1. 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.
2. Абдуллина, С.Г. Кулонометрическое определение воды в лекарственных препаратах / С.Г. Абдуллина, О.А. Лира, И.К. Петрова // Фармация. – 2011. – N 5. – С. 15–16.
3. Абдуллина, С.Г. Кулонометрическое определение воды в субстанциях антибиотиков группы цефалоспоринов / С.Г. Абдуллина, Е.А. Калинкина // Фармация. - 2015. - №2. - С. 10-12.
4. Абдуллина, С.Г. Новые аспекты применения гальваностатической кулонометрии в фармацевтическом анализе: дис. ... докт. фарм. наук. — М., 2013. - 273 с.
5. Абдуллина, С.Г. Определение воды в ингибиторозащищённых пенициллинах методом гальваностатической кулонометрии / С.Г. Абдуллина, Е.А. Калинкина // Фундаментальные исследования. - 2015. - №2-2. - С. 313-318.
6. 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).
7. Берлинер, М.А. Измерения влажности. Изд. 2-е, перераб. и доп. / М.А. Берлинер. – М.: Энергия, 1973. – 400 с.
8. Бланк, Т.А. Изучение возможностей использования кальцийгидридного газометрического метода для акваметрии функциональных материалов / Т.А. Бланк, Л.П. Экспериандова // Заводская лаборатория. Диагностика материалов. - 2009. - Т. 75. № 10. - С. 20-23.

9. Бланк, Т.А. Спектрофотометрическое определение влажности этиленгликоля с использованием сольватохромных свойств хлораниловой кислоты / Т.А. Бланк, Л.П. Экспериандова, Т.Н. Лемишко // Аналитика и контроль. - 2012. - Т.16, №1. - С.61-67.
10. Бланк, Т.А. Диэлькометрия как один из методов практической акваметрии функциональных материалов / Т.А. Бланк, Л.П. Экспериандова, О.Ц. Сидлецкий, Н.А. Касян, К.С. Острась // Методы и объекты химического анализа. - 2007. - Т.2, №2. - С. 156-161.
11. Бланк, Т.А. СВЧ-диэлектрометрическое определение влажности α -формы оксида алюминия / Т.А. Бланк, Л.П. Экспериандова, О.Т. Николов, О.А. Горобченко // Заводская лаборатория. Диагностика материалов. - 2009. - Т.75, №4. - С.37-40.
12. Веницианов, Е.В. ЯМР–акваметрия / Е.В. Веницианов, О.М. Розенталь // Методы оценки соответствия. - 2009. - №9. - С. 20-23.
13. Гарифуллина, Р.Л. Определение содержания воды в дизельном топливе методом спиновой метки / Р.Л. Гарифуллина, Р.К. Абдрахманов // Вестник Казанского ГАУ. - 2010. - № 4 (18). - С.108-110.
14. ГОСТ Р 52795-2007. Кофе жареный молотый. Определение массовой доли влаги. Метод Карла Фишера. – Введ. 25.12.2007 // М.: Стандартиформ. – 2008. – 8 с.
15. ГОСТ 14203-69. Нефть и нефтепродукты. Диэлькометрический метод определения влажности. - Введ. 01.01.1970 // Межгосударственный стандарт / М. - 1969. - С. 123-127.
16. ГОСТ 14870-77. Продукты химические. Методы определения воды. – Введ. 01.01.1978 // Межгосударственный стандарт / М.: Стандартиформ. – 2008. –14 с.
17. ГОСТ 21718-84. Материалы строительные. Диэлькометрический метод измерения влажности.- Введ. 01.07.1985 // Межгосударственный стандарт / М. - 1984. - С. 1-3.

18. Государственная Фармакопея Российской Федерации - М.: Научный центр экспертизы средств медицинского применения, 2008. - 12-е изд. - 704 с.
19. Государственная Фармакопея СССР. – 5–е изд. – М.: Государственное медицинское издательство, 1902. –767 с.
20. Государственная Фармакопея СССР. – 8–е изд. – М.: Государственное издательство медицинской литературы МЕДГИЗ, 1952. – 822 с.
21. Государственная Фармакопея СССР. – 9–е изд. – М.: Государственное издательство медицинской литературы МЕДГИЗ, 1961. – 911 с.
22. Государственная фармакопея СССР: Вып.1.Общие методы анализа/ МЗ СССР.– 11-е изд. – М.: Медицина, 1987. – 336 с.
23. Игонин, Н.Г. Применение влагомера кулонометрического типа для исследования процесса диффузии воды в полимерных композиционных материалах // Высокомолекулярные соединения. Серия А. - 2010. - Т.52, №10. - С.1813-1823.
24. Калинкина, Е.А. Кулонометрическое определение воды в субстанции моксифлоксацина гидрохлорида / Е.А. Калинкина, С.Г. Абдуллина // 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.
25. 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.
26. 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 г. –СПб.: Изд-во СПХФА, 2014. – С. 366-369.
27. Калинкина, Е.А. Разработка способов кулонометрического определения воды в субстанциях бета-лактамовых антибиотиков // Е.А. Калинкина, С.Г. Абдуллина // 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.
28. К созданию новых прогрессивных методов и технологических средств измерения, контроля и регулирования влажности продукции сельского хозяйства и других отраслей промышленности / Р.Г. Абдеев, Э.М. Марданова, Р.И. Сайтов, И.Ф. Габидуллин // Механики XXI века. - 2007. - № 6. - С. 189-197.
29. Машковский, М.Д. Лекарственные средства, Новая волна, Москва (2007), 1206 с.
30. Метод определения содержания воды в триэтиленгликоле / Т.Р. Даутов, Р.З. Магарил, Н.Ю. Третьяков, Д.С. Шапенова // Известия высших учебных заведений. Нефть и газ. - 2009. - №4. - С. 108-111
31. Ничуговский, Г.Ф. Определение влажности химических веществ / Г.Ф. Ничуговский. – Л.: Химия, 1977. – 200 с.
32. Нормативная документация ЛСР-003616/10-300410. Аугментин ЕС® порошок для приготовления суспензии для приёма внутрь 600 мг+42,9 мг в 5 мл / Министерство здравоохранения и социального развития Российской Федерации. – Введ. 30.04.2010. – С. 1-3.
33. Нормативная документация ЛС-002192-010911. Ампициллина таблетки 250 мг / Министерство здравоохранения и социального развития Российской Федерации. – Введ. 01.09.2011. – С. 1-9.
34. Нормативная документация НД 42-13378-06. Амоксиклав® порошок для приготовления суспензии для приёма внутрь. Министерство

- здравоохранения и социального развития Российской Федерации. – Введ. 29.06.2011. – С. 1-8.
35. Нормативная документация П N011641/02-290811. Амоксициллин гранулы для приготовления суспензии для приёма внутрь 250 мг/5 мл / Министерство здравоохранения и социального развития Российской Федерации. – Введ. 29.08.2011. – С. 1-7.
36. Нормативная документация П N011641/01-301111 Амоксициллин капсулы 250 мг, 500 мг / Министерство здравоохранения и социального развития Российской Федерации. – Введ. 30.11.2011. – С. 1-7.
37. Нормативная документация П N011997/01. Аугментин® таблетки, покрытые плёночной оболочкой, 250 мг+125 мг, 500 мг+125 мг, 875 мг+125 мг / Министерство здравоохранения и социального развития Российской Федерации. – Введ. 21.06.2010. – С. 1-24.
38. Нормативная документация П N012124/01-100211. Амоксиклав® таблетки, покрытые плёночной оболочкой, 250 мг+125 мг, 500 мг+125 мг, 875 мг+125 мг / Министерство здравоохранения и социального развития Российской Федерации. – Введ. 10.02.2011. – С. 1-30.
39. Нормативная документация П N014013/02-120209 Амписид® порошок для приготовления раствора для внутривенного и внутримышечного введения 1000 мг+500 мг, 500 мг+250 мг, 250 мг+125 мг / Министерство здравоохранения и социального развития Российской Федерации. – Введ. 12.02.2009. – С. 1-4.
40. Нормативная документация П N015030/04-050510. Аугментин® порошок для приготовления суспензии для приёма внутрь 200 мг+28,5 мг в 5 мл, 400 мг+57 мг в 5 мл / Министерство здравоохранения и социального развития Российской Федерации. – Введ. 05.05.2010. – С. 1-9.
41. Нормативная документация Р N000068/05-250509. Ампициллин порошок для приготовления раствора для внутривенного и

- внутримышечного введения/Министерство здравоохранения и социального развития Российской Федерации.–Введ.25.05.2009.–С.1-17.
42. Нормативная документация ФСП 42-0048369402. Ампициллина тригидрата таблетки 0,25 г / Департамент государственного контроля качества лекарственных средств и медицинской техники. – Введ. 25.02.2003. – С. 1-8.
43. ОФС «Определение воды». URL: <http://www.rosminzdrav.ru/ministry/61/11/materialy-po-deyatelnosti-deparatamenta/stranitsa-856/utverzhdennye-farmakopeynye-stati-i-obschie-farmakopeynye-stati-po-preparatam-krovi> (дата обращения: 01.02.2015)
44. ОФС «Потеря в массе при высушивании». URL: http://static-3.rosminzdrav.ru/system/attachments/attaches/000/022/974/original/ОФС_Потеря_в_массе_при_высушивании.docx?1417095942 (дата обращения: 01.02.2015)
45. Петров, С.И. Контроль правильности определения воды в кулонометрической акваметрии / С.И. Петров, О.А. Жарикова // Заводская лаборатория. Диагностика материалов. – 2005. – Т. 71. № 12. – С. 3–6.
46. Полетаев, Д.А. Учет влияния зазора между образцом и коаксиальным резонаторным измерительным преобразователем во влагометрии СВЧ // Ж. нано- та електрон. фіз. - 2009. - Т.1, №3. - С.74-81.
47. Практическое руководство по антиинфекционной химиотерапии // под ред. Л.С.Страчунского, Ю.Б.Белюсова, С.Н.Козлова. Смоленск: МАКМАХ, 2007. - 464 с.
48. Руководство ИСН «Валидация аналитических методик. Содержание и методология» Q2(R1). Международная конференция по гармонизации технических требований к регистрации медицинских лекарственных средств // Фармация. - 2008. - № 4. - С. 3-10
49. Руководство по валидации методик анализа лекарственных средств //

- под ред. Н.В.Юргеля, А.Л.Младенцева, А.В.Бурдейна, М.А.Гетьмана. - М. 2007. - 58 с.
50. Фармакопея США: USP 29; Национальный формуляр: NF 24: в 2 т.: [пер. с англ.]. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. Т.1. – 1800 с.
51. Фармакопея США: USP 29; Национальный формуляр: NF 24: в 2 т.: [пер. с англ.]. - М.: ГЭОТАР-Медиа, 2009. Т.2. – 1792 с.
52. Фармацевтический анализ (Серия «Проблемы аналитической химии»): Монография / Под ред. Г.К. Будникова, С.Ю.Гармонова. - М.: АГРАМАК - МЕДИА, 2013. - 778 С.
53. Харитонов, Ю.Я. Аналитическая химия (аналитика). В 2 кн. Кн.2. Количественный анализ. Физико-химические (инструментальные) методы анализа: Учеб. для вузов. – М.: Высш.шк., 2001. – 559 с.
54. Химическая энциклопедия / Под ред. И. Л. Кнунянца — Т.2. Диэлькометрия - М.: Советская энциклопедия, 1990. — 671 с.
55. A fast microwave-assisted procedure for loss on drying determination in saccharides / C.A. Bizzi; J.S. Barin; A.L. Hermes; S.R. Mortari // J. Braz. Chem. Soc. - 2011. -Vol. 22, №2. - P. 376-381.
56. A simple method for determining water content in organic solvents based on cobalt (II) complexes / L.Zhou, X. H. Liu, H. X. Bai, H. J. Wang // Chinese Chemical Letters. - 2011. - Vol. 22, № 2 - P. 189–192.
57. Bai, H.-X., Yan, X.-R. Spectrophotometric Determination of Water Content in Alcohol Organic Solvents // Journal of the Chinese Chemical Society. - 2007. - №54. - P. 619-624
58. British Pharmacopoeia. - British Pharmacopoeia Commission, 2009 (электронный ресурс) URL: <http://www.pharmacopoeia.co.uk/>
59. Broad, N.W. Non-invasive determination of ethanol, propylene glycol and water in a multi-component pharmaceutical oral liquid by direct measurement through amber plastic bottles using Fourier transform near-infrared spectroscopy / N.W. Broad, R.D. Jee, A.C. Moffat, M.J. Eaves //

- Analyst. - 2000. - №125 (11). - P. 2054-2058.
60. Certification of the reference material of water content in water saturated 1-octanol by Karl Fischer coulometry, Karl Fischer volumetry and quantitative nuclear magnetic resonance / H.Wang, K. Ma, W. Zhang, J. Li, G. Sun, H. Li // Food Chemistry. - 2012. - Vol. 134 (4). - P. 2362-2366.
 61. Cheek, G. T. Determination of Water in 1-Ethyl-3-methylimidazolium Tetrafluoroborate / G.T. Cheek, W.E. O'Grady, S.H. Lawrence // ECS Transactions. - 2007. - Vol. 2 (15). - P. 1-5.
 62. Corredor, C.-C. Comparison of near infrared and microwave resonance sensors for at-line moisture determination in powders and tablets / C.-C. Corredor, D. Bu, D. Both // Analytica Chimica Acta. - 2011. - №696. - P. 84-93.
 63. Dalton, C.-R. Processing and storage effects on water vapor sorption by some model pharmaceutical solid dosage formulations / C.-R. Dalton, B.C.Hancock // International Journal of Pharmaceutics. - 1997. - №156. - P. 143-151.
 64. Dean, E. W. A convenient method for the determination of water in petroleum and other organic emulsions / E. W. Dean, D. D. Stark // The Journal of Industrial and Engineering Chemistry. - 1920. -- Vol. 12, №. 5. - P. 486-490.
 65. Determination of Water Content in Organic Solvents by Naphthalimide Derivative Fluorescent Probe / C. Niu, L. Li, P. Qin, G. Zeng // Analytical sciences. - 2010. - Vol. 26. - P. 671-674.
 66. Development of Karl Fischer titration method using quality by design concept / B. Stojanović, A. Vemić, T. Rakić, N. Kostić // Hem. ind. - 2012. - Vol. 66, №5. - P. 659-665.
 67. European Pharmacopoeia 6-th ed. - Strasbourg: Council of Europe, 2007. - 1084 pp.
 68. Experimental comparison of high-performance water vapor permeation

- measurement methods / G. Nisato, H. Klumbies, J. Fahlteich, L. Müller-Meskamp // *Organic Electronics*. - 2014. - №15 - P. 3746–3755.
69. Fetzer, W.R. Determination of moisture by distillation / W.R. Fetzer // *Anal. Chem.* – 1951. – Vol.23, №8. – P. 1062–1069.
70. First approach on moisture determination in food products using alpha-pinene as an alternative solvent for Dean–Stark distillation / S. Bertouche, V. Tomao, K. Ruiz, A. Hellal // *Food Chemistry*. - 2012. - №134. - P. 602–605.
71. Fisher, K. Neues Verfahren zur massanalytischen Bestimmungen des Wassergehaltes von Flüssigkeiten und festen Körpern / K. Fisher // *Angew. Chem.* - 1935. - Vol. 48. - P. 394-396.
72. Frink, L.A. Water determination in active pharmaceutical ingredients using ionic liquid headspace gas chromatography and two different detection protocols / L.A. Frink, C.A. Weatherly, D.W. Armstrong // *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. - 2014. - №94. - P. 111–117.
73. Green procedure using limonene in the Dean–Stark apparatus for moisture determination in food products / S. Veillet, V. Tomao, K. Ruiz, F. Chemat // *Analytica Chimica Acta*. - 2010. - №67. - P. 49–52.
74. Hatzakis, E. Determination of Water Content in Olive Oil by ³¹P NMR Spectroscopy / E. Hatzakis, P. Dais // *J. Agric. Food Chem.* - 2008. - №56. - P. 1866–1872.
75. Heinze, P. Determination of the water content in different sugar syrups by halogen drying / P. Heinze, H.-D. Isengard // *Food control*. - 2001. - №12. - P. 411-417.
76. Hinz, D.-C. Evaluation of methods for the determination of water in substances with unknown chemical and thermal behaviour / D.-C. Hinz // *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. - 2007 - №43. - P. 779–783.
77. *Indian Pharmacopoeia*. Vol.1. - Ghaziabad: The Indian Pharmacopoeia Commission, 2007. - 620 p.

78. Isengard, H.-D. Hidden parameters' of infrared drying for determining low water contents in instant powders / H.-D. Isengard, J.-M. Färber // *Talanta*. – 1999. - №50. – P. 239–246.
79. Isengard, H.-D. Can the water content of dairy products be determined accurately by microwavedrying? / H.-D. Isengard, M. Walter // *Zeitschrift für Lebensmittel -Untersuchung und -Forschung*. - 1998. - Vol. 207, №5. - P. 377-380.
80. Jayawardhana, D.A. Rapid, efficient quantification of water in solvents and solvents in water using an ionic liquid-based GC column / D.A. Jayawardhana, R.M. Woods, Z. Ying, W. Chunlei // *LC-GC North America*. - 2012. - Vol.30, №2. - P. 142-157.
81. Knight, H.S. Determination of traces of water in hydrocarbons: A calcium carbide-gas liquid chromatography method / H.S. Knight, F.T. Weiss // *Analytical Chemistry* - 1962. - V. 34, Issue 7. - P. 749-751.
82. Komatsu, H. Application of thermogravimetry to water-content determinations of drugs / H. Komatsu, K. Yoshii, S. Okada // *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*. - 1994. - Vol. 42, №8. - P. 1631-1635.
83. Lambert, P.A., Conway, B.R. Pharmaceutical quality of ceftriaxone generic drug products compared with Rocephin / P.A. Lambert, B.R. Conway // *Journal of Chemotherapy*. - 2003. - Vol. 15(4). - P. 357-368.
84. Li, G.-Z. Spectrophotometric Method for the Determination of Water in Organic Solvents / G.-Z. Li, Y.-M. Liu // *Spectroscopy and spectral analysis*. - 2004. - Vol. 24. №1. - P. 122-124.
85. Lisowski, V.V. Microwave methods and instruments for exact measurement of moisture at production of sugar from sugar-beets / V.V. Lisowski, W. Tanas // *Journal of Research and Applications in Agricultural Engineering*. - 2006. -Vol. 51 (4). - P. 60-63.
86. Løkken, T.V. Water vapour monitoring in natural gas in the presence of methanol // *Journal of Natural Gas Science and Engineering*. - 2012. - №7.

- P. 7-15.
87. Method validation for the determination of water content of metered dose inhaler by Karl Fischer Coulometer / M. A. M. Motalib, A. Afrose, M. K. Salahuddin, S. M. Masud // *International Research Journal of Pharmacy*. - 2012. - Vol. 3, №7. - P. 144-147.
 88. Nagarajan, R. Direct Determination of Moisture in powder milk Using Near Infrared Spectroscopy / R. Nagarajan, P. Singh, R. Mehrotra // *J Autom Methods Manag Chem*. - 2006. - P. 1-4.
 89. Near-infrared imaging for high-throughput screening of moisture-induced changes in freeze-dried formulation / H. Trinka, A. Palou, P.E. Panouillot, A. Kauppinen // *Journal of Pharmaceutical Sciences*. - 2014. - Vol. 103, №9. - P. 2839–2846.
 90. New and rapid analytical procedure for water content determination: Microwave accelerated Dean–Stark / S. Veillet, V. Tomao, F. Visinoni, F. Chemat // *Analytica Chimica Acta*. - 2009. - №632. - P. 203–207.
 91. Nisal, S.R. Latest developments of Karl Fischer reagents more convenience and less toxicity. / S.R. Nisal, R.N. Kachave, S. R. Chaudhari // *Indo American Journal of Pharmaceutical Research*. - 2014. - №4 (6). - P. 2993-2997.
 92. Nogueira, R. Determination of volatiles in pharmaceutical certified reference material / R. Nogueira, S.M. Queiroz; G. Silva, W. Rocha // *J. Braz. Chem. Soc*. - 2012. - Vol. 23, №9. - P.1636-1646.
 93. N-Heteroaryl-1,8-naphthalimide fluorescent sensor for water: Molecular design, synthesis and properties / Z. Li, Q. Yang, R. Chang, G. Ma, M. Chen, W. Zhang // *Dyes and Pigments*. - 2011. - №88. - P. 307-314.
 94. O'Keefe, W.K. Validation of a gas chromatography/thermal conductivity detection method for the determination of the water content of oxygenated solvents / W.K. O'Keefe , F.T Ng, G.L. Rempel // *J Chromatogr A*. - 2008. - №1182 (1). - P. 113-118.

95. Özcan, M. Effect of drying methods on the mineral content of basil (*Ocimum basilicum* L.) / M. Özcan, D. Arslan, A. Ünver // *Journal of Food Engineering*. -2005. - №69. - P. 375–379.
96. Pharmacopoeia of the people's Republic of China. - Vol. 2. - People's Medical Publishing House, 2005. - 1092 p.
97. Quantative GC Determination of water in small samples / R. Nußbaum, D. Lischke, H. Paxmann, B. Wolf // *Chromatographia*. - 2000. - Vol. 51, №1(2). - P. 119-120.
98. Samadi-Maybodi, A. A highly efficient turn-on fluorescent sensor for determination of water in organic solvents / A. Samadi-Maybodi, R.Akhoondi // *Journal of Fluorescence*. - 2012. - V.22, №5. – P.1217-1222.
99. Samuelsson, R. Comparison of different methods for the determination of moisture content in biomass / R. Samuelsson, J. Burvall, R. Jirjis // *Biomass and Bioenergy*. - 2006. – №30 - P. 929–934.
100. Scholz, E. Karl-Fischer-Titration: Methoden zur Wasserbestimmung. Berlin: Shringer-Verlag, 1984. - 133 p.
101. Scholz, E. Karl Fischer-Reagentien ohne Pyridin (2). Wasserbestimmung in Cysteinhydrochlorid-Monohydrat // *Fresenius Z. Anal. Chem.* - 1981. - № 305. - P.416.
102. Scholz, E. Karl Fischer-Reagentien ohne Pyridin (3). Die Genauigkeit der Wasserbestimmung // *Fresenius Z. Anal. Chem.* - 1981. - №306. - P.394-396.
103. Scholz, E. Karl Fischer-Reagentien ohne Pyridin (4). Einkomponenten-Reagentien // *Fresenius Z. Anal. Chem.* - 1981. - №309. - P.30-32.
104. Scholz, E. Karl Fischer-Reagentien ohne Pyridin (7). Zweikomponenten-Reagentien mit Imidazol // *Fresenius Z. Anal. Chem.* - 1982. - №312. - P.462-464.
105. Sherman, F. Determination of water samples and ene-diols and thiols in samples in unaccessible for direct K.Fischer titration / F. Sherman, I. Kuselman, A. Shenhar // *Talanta*. - 1996. - №43. - P. 1035-1042.

106. Sherman, F. Water Determination in Drugs Containing Ascorbic Acid / F. Sherman, I. Kuselman // International Journal of Pharmaceutics. - 1999. - №190. - P. 193-196.
107. Spectrophotometric Study on the Interaction of Water with Chloranilic Acid and Its Analytical Application / F.-L. Zhao, X.-L. Feng, X.-J. Liu, N. Li // Chinese Chemical Letters. - 2005. - Vol.16, №7. - P.931-934.
108. Tavcar, E. Simple modification of Karl-Fischer titration method for determination of water content in colored samples / E. Tavcar, E. Turk, E., S. Kreft // J. of Anal. Methods in Chem. – 2012 - V. 2 - P. 6.
109. The Japanese Pharmacopoeia 16th edition. 2011 [Электронный ресурс]. // Pharmaceuticals and medical devices agency. URL: <http://www.pmda.go.jp/english/pharmacopoeia/pdf/jpdata/JP16eng.pdf> (дата обращения: 12.11.2014)
110. The United States Pharmacopoeia 36th ed. - Rockville: United States Pharmacopoeial Convention. - 2013. - 5642 pp.
111. Utilizing microwaves for the determination of moisture content independent of density / J. Austin, S. Rodriguez, P.-F. Sung, M. Harris // Powder Technology. -2013 - №236. - P. 17–23.
112. Validation of multipoint near-infrared spectroscopy method for in-line moisture content analysis during freeze-drying / A. Kauppinen, M. Toiviainen, M. Lehtonen, K. Jarvinen // Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. - 2014. - Vol. 95. - P. 229-237.
113. Verhoef, J.C., Barendrecht, E. Mechanizm and reaction rate of the Karl Fischer titration reaction. PartI.Potenciometric Measurements// Journal of Electroanalytical Chemistry. – 1976. – Vol. 71, №3– P. 305-315.
114. Voltammetric determination of water with inner potential reference and variable linear range based on structure- and redox-controllable hydrogen-bonding interaction between water and quinones / L. Zhang, H. Zhou, X. Li, Y. Lin // Electrochemistry Communications. - 2009. - №11. - P. 808–811.

115. Water – an important parameter for the preparation and proper use of certified reference materials / S. Yazgan, A. Bernreuther, F. Ulberth, H.-D. Isengard // *Food Chemistry*. - 2006. - №96. - P. 411–417.
116. Water content of pyrolysis oil: Comparison between Karl Fischer titration, GC/MS-corrected azeotropic distillation and ^1H NMR spectroscopy / K. Smets, P. Adriaensens, J. Vandewijngaarden, M. Stals // *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*. - 2011. - №90. - P. 100–105.
117. Weatherly, C.-A. Rapid Analysis of Ethanol and Water in Commercial Products Using Ionic Liquid Capillary Gas Chromatography with Thermal Conductivity Detection and/or Barrier Discharge Ionization Detection / C.A. Weatherly, R. M. Woods, D. W. Armstrong // *J. Agric. Food Chem.* - 2014. - №62. - P. 1832–1838.
118. Yoshii, K. Water content using Karl-Fisher aquametry and loss on drying determinations using thermogravimeter for pesticide standard materials / K. Yoshii, Y. Tonogai, // *Journal of Health Science*. - 2004. - Vol.50, №2 - P. 142-147.
119. Zhao, C. Determination of Water in Room Temperature Ionic Liquids by Cathodic Stripping Voltammetry at a Gold Electrode / C. Zhao, A.M. Bond, X. Lu. // *Anal. Chem.* - 2012. - №84. - P.2784–2791.

ПРИЛОЖЕНИЯ

Приложение А

Государственное бюджетное образовательное учреждение высшего профессионального образования
«Казанский государственный медицинский университет»
 Министерства здравоохранения Российской Федерации

420012, г. Казань, ул. Бутлерова, 49
 Тел.: (843) 236-06-52, факс: 236-03-93
 E-mail: rector@kgmu.kcn.ru



Россия Федерациясе сәламәтлек саклау министрлыгынын
«Казан дәүләт медицина университеты»
 югары һөнәри белем бирү дәүләт бюджет мәгариф учреждениесе

420012, Казан шәһәре, Бутлеров ур., 49
 Тел.: (843) 236-06-52, факс: 236-03-93
 E-mail: rector@kgmu.kcn.ru

ОКПО 01963640, ОГРН 1021602848189, ИНН / КПП1655007760/165501001

№ 315 28 января 201 5 г.
 На № _____ от _____ 201 ____ г.
 Г _____ Г _____

Генеральному директору ФГБУ
 «Научный центр экспертизы
 средств медицинского применения»,
 Доктору медицинских наук,
 Профессору А.Н. МИРОНОВУ

127051, г. Москва,
 Петровский бульвар, 8, строение 2.

Глубокоуважаемый Александр Николаевич!

Ректорат государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации направляет Вам на рассмотрение проект изменения к общей фармакопейной статье «Определение воды».

Приложение: Проект изменения к ОФС «Определение воды» – 2 экз.

Пояснительная записка к проекту изменения к ОФС «Определение воды» – 2 экз.

Проректор по научной и инновационной работе
 профессор



И.Г. МУСТАФИН

Исполнитель: С.Г. Абдуллина, Е.А. Калинин
 тел.: 8 (843) 531-37-82

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ
ФЕДЕРАЦИИ**

ПРОЕКТ ИЗМЕНЕНИЯ К ОБЩЕЙ ФАРМАКОПЕЙНОЙ СТАТЬЕ

**Определение
воды**

**ОФС
Взамен ст. ГФ XI**

Старая редакция	Новая редакция
<p>1. Метод К. Фишера (полумикрометод)</p>	<p>1. Полумикрометод определения воды по К. Фишеру (волюмометрический)</p>
<p>Метод основан на химическом взаимодействии воды с компонентами реактива К. Фишера.</p> <p>Реактив К. Фишера. Реактив К. Фишера представляет собой раствор серы диоксида, йода и пиридина (или другого основания, например, имидазола) в метаноле. Взаимодействие реактива с водой протекает в две стадии стехиометрически по уравнениям:</p> $\text{H}_2\text{O} + \text{SO}_2 + \text{I}_2 + 3\text{C}_5\text{H}_5\text{N} \rightarrow 2\text{C}_5\text{H}_5\text{N} \cdot \text{HI} + \text{C}_5\text{H}_5\text{NSO}_3$ $\text{C}_5\text{H}_5\text{NSO}_3 + \text{CH}_3\text{OH} \rightarrow \text{C}_5\text{H}_5\text{N} \cdot \text{HSO}_4\text{CH}_3$ <p>Используемые растворы и реактивы должны быть безводными. Их хранят и применяют в условиях, исключающих возможность воздействия на них атмосферной влаги.</p> <p>Йодсернистый реактив представляет собой раствор, содержащий пиридин безводный, монометиловый эфир</p>	<p>Метод основан на химическом взаимодействии воды с компонентами реактива К. Фишера.</p> <p>Реактив К. Фишера. Реактив К. Фишера представляет собой раствор серы диоксида, йода и пиридина (или другого основания, например, имидазола) в метаноле. Взаимодействие реактива с водой протекает в две стадии стехиометрически по уравнениям:</p> $\text{H}_2\text{O} + \text{SO}_2 + \text{I}_2 + 3\text{C}_5\text{H}_5\text{N} \rightarrow 2\text{C}_5\text{H}_5\text{N} \cdot \text{HI} + \text{C}_5\text{H}_5\text{NSO}_3$ $\text{C}_5\text{H}_5\text{NSO}_3 + \text{CH}_3\text{OH} \rightarrow \text{C}_5\text{H}_5\text{N} \cdot \text{HSO}_4\text{CH}_3$ <p>Используемые растворы и реактивы должны быть безводными. Их хранят и применяют в условиях, исключающих возможность воздействия на них атмосферной влаги.</p> <p>Йодсернистый реактив представляет собой раствор, содержащий пиридин безводный, монометиловый эфир</p>

этиленгликоля, йод и серу диоксид. В йодсернистых реактивах часто пиридин заменяют на другие основания. Использование реактивов такого состава должно быть предварительно валидировано для подтверждения в каждом конкретном случае стехиометрии реакции и отсутствия несовместимости между испытуемым веществом и реактивом.

При определении воды в твердых веществах, нерастворимых в метаноле, тонко измельченную навеску вещества взбалтывают с метанолом, после чего титруют реактивом К. Фишера. Некоторые вещества или смеси можно растворять в безводной уксусной кислоте, хлороформе, пиридине и других растворителях.

Пропанол и другие алканола имеют большую растворяющую способность для молекул с длинной цепью и могут использоваться как таковые или в смеси с метанолом при анализе высокомолекулярных соединений. 2-Метоксиэтанол (монометиловый эфир этиленгликоля) применяют в тех случаях, когда в присутствии метанола протекают побочные реакции (этерификация, образование кеталей и т. п.). Однако, титрование в этом растворителе протекает медленнее по сравнению с метанолом. Хлороформ является хорошим растворителем для жиров и может использоваться в смеси с метанолом, содержание которого обычно составляет 50

этиленгликоля, йод и серу диоксид. В йодсернистых реактивах часто пиридин заменяют на другие основания. Использование реактивов такого состава должно быть предварительно валидировано для подтверждения в каждом конкретном случае стехиометрии реакции и отсутствия несовместимости между испытуемым веществом и реактивом.

При определении воды в твердых веществах, нерастворимых в метаноле, тонко измельченную навеску вещества взбалтывают с метанолом, после чего титруют реактивом К. Фишера. Некоторые вещества или смеси можно растворять в безводной уксусной кислоте, хлороформе, пиридине и других растворителях.

Пропанол и другие алканола имеют большую растворяющую способность для молекул с длинной цепью и могут использоваться как таковые или в смеси с метанолом при анализе высокомолекулярных соединений. 2-Метоксиэтанол (монометиловый эфир этиленгликоля) применяют в тех случаях, когда в присутствии метанола протекают побочные реакции (этерификация, образование кеталей и т. п.). Однако, титрование в этом растворителе протекает медленнее по сравнению с метанолом. Хлороформ является хорошим растворителем для жиров и может использоваться в смеси с метанолом, содержание которого обычно составляет 50

%, но не менее 25 %. Формамид улучшает растворимость полярных веществ и может добавляться в метанол для определения воды в протеинах. Не рекомендуется использование в качестве рабочей среды чистые апротонные растворители, которые нарушают стехиометрию реакции К. Фишера.

Масса навески, время взбалтывания навески с растворителем, а также наименование растворителя, должны быть указаны в фармакопейной статье.

С помощью реактива К. Фишера может быть определена как гигроскопическая, так и кристаллизационная вода. При этом воду можно определять в органических и неорганических соединениях, в различных растворителях и летучих веществах.

Прибор. Прибор для титрования по методу К. Фишера представляет собой закрытую систему, состоящую из бюретки, снабженной осушительной трубкой, заполненной, осушающим агентом, (например, молекулярными ситами), сосуда для подачи реактива и колбы для титрования, соединенных с бюреткой. Колба для титрования представляет собой сосуд вместимостью 60–100 мл с двумя платиновыми электродами, трубкой для подвода азота, осушительной трубкой, заполненной, осушающим агентом, (например, молекулярными ситами), и пробкой, в которую вставляется кончик бюретки. Испытуемое вещество вносят в

%, но не менее 25 %. Формамид улучшает растворимость полярных веществ и может добавляться в метанол для определения воды в протеинах. Не рекомендуется использование в качестве рабочей среды чистые апротонные растворители, которые нарушают стехиометрию реакции К. Фишера.

Масса навески, время взбалтывания навески с растворителем, а также наименование растворителя, должны быть указаны в фармакопейной статье.

С помощью реактива К. Фишера может быть определена как гигроскопическая, так и кристаллизационная вода. При этом воду можно определять в органических и неорганических соединениях, в различных растворителях и летучих веществах.

Прибор. Прибор для титрования по методу К. Фишера представляет собой закрытую систему, состоящую из бюретки, снабженной осушительной трубкой, заполненной, осушающим агентом, (например, молекулярными ситами), сосуда для подачи реактива и колбы для титрования, соединенных с бюреткой. Колба для титрования представляет собой сосуд вместимостью 60–100 мл с двумя платиновыми электродами, трубкой для подвода азота, осушительной трубкой, заполненной, осушающим агентом, (например, молекулярными ситами), и пробкой, в которую вставляется кончик бюретки. Испытуемое вещество вносят в

<p>сосуд через трубку, расположенную с противоположной стороны по отношению к трубке-осушителю, и закрываемую притертой пробкой. Перемешивание раствора в процессе титрования осуществляют при помощи магнитной мешалки или продуванием высушенного азота через раствор.</p> <p>Конечную точку титрования определяют амперометрически. Электрическая схема состоит из потенциометра с сопротивлением 2000 Ом, подключенного к источнику постоянного тока с напряжением 1,5 В и обеспечивающего необходимую разность потенциалов. Разность потенциалов отрегулирована таким образом, чтобы через платиновые электроды, соединенные последовательно с микроамперметром, проходил небольшой начальный ток. При прибавлении реактива стрелка микроамперметра отклоняется, но сразу же возвращается в исходное положение. В конце реакции получаемое отклонение должно оставаться неизменным не менее 30 с.</p> <p>Конечную точку титрования допускается определять визуально по изменению окраски титруемой жидкости от желтой до красновато-коричневой при условии обеспечения необходимой точности. При этом необходимо проводить контрольный опыт.</p> <p>Допускается использование автоматических титраторов в соответствии</p>	<p>сосуд через трубку, расположенную с противоположной стороны по отношению к трубке-осушителю, и закрываемую притертой пробкой. Перемешивание раствора в процессе титрования осуществляют при помощи магнитной мешалки или продуванием высушенного азота через раствор.</p> <p>Конечную точку титрования определяют амперометрически. Электрическая схема состоит из потенциометра с сопротивлением 2000 Ом, подключенного к источнику постоянного тока с напряжением 1,5 В и обеспечивающего необходимую разность потенциалов. Разность потенциалов отрегулирована таким образом, чтобы через платиновые электроды, соединенные последовательно с микроамперметром, проходил небольшой начальный ток. При прибавлении реактива стрелка микроамперметра отклоняется, но сразу же возвращается в исходное положение. В конце реакции получаемое отклонение должно оставаться неизменным не менее 30 с.</p> <p>Конечную точку титрования допускается определять визуально по изменению окраски титруемой жидкости от желтой до красновато-коричневой при условии обеспечения необходимой точности. При этом необходимо проводить контрольный опыт.</p> <p>Допускается использование автоматических титраторов в соответствии</p>
---	---

с инструкцией производителя.

Если нет других указаний в фармакопейной статье, используют методику А.

Методика А. Точную навеску испытуемого вещества, содержащую приблизительно от 30 до 50 мг воды, помещают в сосуд для титрования, в который предварительно внесено 5,0 мл метанола безводного. Перемешивают 1 мин и титруют реактивом К. Фишера, прибавляя его при приближении к конечной точке по 0,1–0,05 мл.

Параллельно проводят контрольный опыт (титруют 5,0 мл метанола безводного).

Методика Б. Около 20 мл метанола безводного или растворителя, указанного в фармакопейной статье, помещают в сосуд для титрования и титруют реактивом К. Фишера, определяя конечную точку титрования амперометрически. Затем в сосуд для титрования вносят точную навеску испытуемого вещества, указанную в фармакопейной статье. Смесь перемешивают в течение 1 мин и снова титруют реактивом К. Фишера, определяя конечную точку титрования амперометрически.

Методика В. Около 10 мл метанола безводного или растворителя, указанного в фармакопейной статье, помещают в сосуд для титрования и титруют йодсернистым реактивом, определяя конечную точку титрования амперометрически.

с инструкцией производителя.

Если нет других указаний в фармакопейной статье, используют методику А.

Методика А. Точную навеску испытуемого вещества, содержащую приблизительно от 30 до 50 мг воды, помещают в сосуд для титрования, в который предварительно внесено 5,0 мл метанола безводного. Перемешивают 1 мин и титруют реактивом К. Фишера, прибавляя его при приближении к конечной точке по 0,1–0,05 мл.

Параллельно проводят контрольный опыт (титруют 5,0 мл метанола безводного).

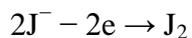
Методика Б. Около 20 мл метанола безводного или растворителя, указанного в фармакопейной статье, помещают в сосуд для титрования и титруют реактивом К. Фишера, определяя конечную точку титрования амперометрически. Затем в сосуд для титрования вносят точную навеску испытуемого вещества, указанную в фармакопейной статье. Смесь перемешивают в течение 1 мин и снова титруют реактивом К. Фишера, определяя конечную точку титрования амперометрически.

Методика В. Около 10 мл метанола безводного или растворителя, указанного в фармакопейной статье, помещают в сосуд для титрования и титруют йодсернистым реактивом, определяя конечную точку титрования амперометрически.

Затем быстро вносят в сосуд для титрования указанное количество испытуемого вещества и точно отмеренный объем йодсернистого реактива, взятый с избытком приблизительно на 1 мл или объем, указанный в фармакопейной статье. Сосуд закрывают пробкой, выдерживают в защищенном от света месте в течение 1 мин или в течение времени, указанного в фармакопейной статье, периодически перемешивая содержимое сосуда. Избыток йодсернистого реактива титруют до первоначального значения силы тока, используя метанол безводный или растворитель, указанный в фармакопейной статье, к которому было прибавлено точно известное количество воды, эквивалентное около 2,5 мг/мл.

2. Микрометод определения воды (кулонометрический)

При кулонометрическом титровании необходимый для реакции К. Фишера йод образуется при анодном окислении йодид-иона:

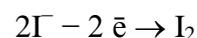


Образующийся йод реагирует с присутствующей водой и диоксидом серы в присутствии основания. Йод потребляется до тех пор, пока в среде присутствует вода. Избыток йода указывает на достижение конечной точки титрования. Количество оттитрованной воды пропорционально количеству электричества, пропущенному через ячейку.

Затем быстро вносят в сосуд для титрования указанное количество испытуемого вещества и точно отмеренный объем йодсернистого реактива, взятый с избытком приблизительно на 1 мл или объем, указанный в фармакопейной статье. Сосуд закрывают пробкой, выдерживают в защищенном от света месте в течение 1 мин или в течение времени, указанного в фармакопейной статье, периодически перемешивая содержимое сосуда. Избыток йодсернистого реактива титруют до первоначального значения силы тока, используя метанол безводный или растворитель, указанный в фармакопейной статье, к которому было прибавлено точно известное количество воды, эквивалентное около 2,5 мг/мл.

2. Микрометод определения воды (кулонометрический)

При кулонометрическом титровании необходимый для реакции К. Фишера йод образуется при анодном окислении йодид-иона:



Образующийся йод реагирует с присутствующей водой и диоксидом серы в присутствии основания. Йод потребляется до тех пор, пока в среде присутствует вода. Избыток йода указывает на достижение конечной точки титрования. Количество оттитрованной воды пропорционально количеству электричества, пропущенному через ячейку.

1 моль йода соответствует 1 молю воды, а количество электричества 10,71 Кл соответствует 1 мг воды.

Вследствие малого тока титрования кулонометрическое определение применяется для количественного определения микроколичеств воды: от 10 мкг до 10 мг.

Правильность и точность метода должны быть обеспечены устранением атмосферной влаги из системы.

Оборудование

Главным блоком прибора является кулонометрическая ячейка. Наиболее часто используемая ячейка состоит из анодного отделения, в котором протекает реакция К. Фишера, и меньшего по объему катодного отделения, в котором протекает катодная реакция восстановления. Каждое отделение содержит платиновый электрод. Анодное отделение заполняется анолитом, в качестве которого используется модифицированный реактив К. Фишера, содержащий йодид-анион вместо йода. Катодное отделение заполняется подходящим католитом, как правило, содержащим соли аммония в качестве активного компонента. Отделения разделены диафрагмой, предотвращающей смешение двух растворов. Поскольку диффузия активных компонентов не может быть полностью исключена диафрагмой, компоненты католита должны быть совместимы с анолитом. Могут использоваться и однокамерные ячейки без

1 моль йода соответствует 1 молю воды, а количество электричества 10,71 Кл соответствует 1 мг воды.

Вследствие малого тока титрования кулонометрическое определение применяется для количественного определения микроколичеств воды: от 10 мкг до 10 мг.

Правильность и точность метода должны быть обеспечены устранением атмосферной влаги из системы.

Оборудование

Главным блоком прибора является кулонометрическая ячейка. Наиболее часто используемая ячейка состоит из анодного отделения, в котором протекает реакция К. Фишера, и меньшего по объему катодного отделения, в котором протекает катодная реакция восстановления. Каждое отделение содержит платиновый электрод. Анодное отделение заполняется анолитом, в качестве которого используется модифицированный реактив К. Фишера, содержащий йодид-анион вместо йода. Катодное отделение заполняется подходящим католитом, как правило, содержащим соли аммония в качестве активного компонента. Отделения разделены диафрагмой, предотвращающей смешение двух растворов. Поскольку диффузия активных компонентов не может быть полностью исключена диафрагмой, компоненты католита должны быть совместимы с анолитом. Могут использоваться и однокамерные ячейки без

диафрагмы. В этом случае анодная и катодная реакции протекают в одном и том же объеме электролита, поэтому катодная реакция восстановления не должна давать продукты, способные окисляться на аноде, что может привести к завышенным результатам определения.

Реакционная ячейка должна поддерживаться в абсолютно сухом состоянии. Заливка реактива в анодное отделение производится через сухую воронку, после чего ячейка немедленно герметизируется. При этом может произойти обесцвечивание реактива. Влагу удаляют из системы предварительным электролизом.

Катодное отделение также должно быть безводным. Небольшой избыток элементарного йода в католите не оказывает влияния на титрование.

Анализируемая жидкая проба вводится в ячейку с анолитом шприцем через силиконовую прокладку. Следует избегать ввода твердых проб в ячейку. Тем не менее, если необходимо провести испытание на твердых образцах, они вводятся через герметично закрываемый ввод; при этом должны быть предприняты меры по предотвращению поступления в ячейку атмосферной влаги, например, работать в перчаточном боксе в атмосфере сухого инертного газа. Также твердые пробы могут вводиться в виде раствора после растворения в подходящем растворителе,

диафрагмы. В этом случае анодная и катодная реакции протекают в одном и том же объеме электролита, поэтому катодная реакция восстановления не должна давать продукты, способные окисляться на аноде, что может привести к завышенным результатам определения.

Реакционная ячейка должна поддерживаться в абсолютно сухом состоянии. Заливка реактива в анодное отделение производится через сухую воронку, после чего ячейка немедленно герметизируется. При этом может произойти обесцвечивание реактива. Влагу удаляют из системы предварительным электролизом.

Катодное отделение также должно быть безводным. Небольшой избыток элементарного йода в католите не оказывает влияния на титрование.

Анализируемая жидкая проба вводится в ячейку с анолитом шприцем через силиконовую прокладку. Следует избегать ввода твердых проб в ячейку. Тем не менее, если необходимо провести испытание на твердых образцах, они вводятся через герметично закрываемый ввод; при этом должны быть предприняты меры по предотвращению поступления в ячейку атмосферной влаги, например, работать в перчаточном боксе в атмосфере сухого инертного газа. Также твердые пробы могут вводиться в виде раствора после растворения в подходящем растворителе,

или вода высвобождается из пробы в трубчатой печи при нагревании и переносится в анолит потоком сухого инертного газа. Газы вводятся в анолит через трубку для ввода газа (барботер).

Объем пробы не должен превышать 10 мл. Обычно в ячейку дозируется 0,5–5,0 мл жидкой пробы. Газовые пробы вводятся в объеме от 100 мл до 10 л.

Методика

Кулонометрическое титрование выполняют до установления конечной точки титрования.

Отделение реакционной ячейки заполняют электролитом для микроопределения воды согласно инструкциям изготовителя. Влагу удаляют из системы предварительным электролизом.

Точное количество испытуемого вещества, указанное в фармакопейной статье, вносят в реакционную ячейку и перемешивают в течение 30 с или в течение времени, указанного в фармакопейной статье. Титруют до установления конечной точки титрования.

Проводят контрольный опыт и вычисляют содержание воды в испытуемом веществе в процентах.

При использовании испарителя точную навеску испытуемого вещества, указанную в фармакопейной статье, помещают в трубку и нагревают. После выпаривания воды из образца в ячейку проводят титрование.

или вода высвобождается из пробы в трубчатой печи при нагревании и переносится в анолит потоком сухого инертного газа. Газы вводятся в анолит через трубку для ввода газа (барботер).

Объем пробы не должен превышать 10 мл. Обычно в ячейку дозируется 0,5–5,0 мл жидкой пробы. Газовые пробы вводятся в объеме от 100 мл до 10 л.

Методика

Кулонометрическое титрование выполняют до установления конечной точки титрования.

Отделение реакционной ячейки заполняют электролитом для микроопределения воды согласно инструкциям изготовителя. Влагу удаляют из системы предварительным электролизом.

Точное количество испытуемого вещества, указанное в фармакопейной статье, вносят в реакционную ячейку и перемешивают в течение 30 с или в течение времени, указанного в фармакопейной статье. Титруют до установления конечной точки титрования.

Проводят контрольный опыт и вычисляют содержание воды в испытуемом веществе в процентах.

При использовании испарителя точную навеску испытуемого вещества, указанную в фармакопейной статье, помещают в трубку и нагревают. После выпаривания воды из образца в ячейку проводят титрование.

<p><i>Проверка точности.</i> Между двумя последовательными титрованиями вводят точно взвешенное количество воды – такое же, как в определяемом образце, и выполняют кулонометрическое титрование. Результат должен быть в пределах от 97,5 до 102,5 % для содержания 1000 мкг воды в образце и в пределах от 90,0 до 110,0 % для содержания 100 мкг воды в образце.</p>	<p>Если образец представляет собой капсулы, то используют навеску перемешанного содержимого капсул.</p> <p>Если образец представляет собой таблетки, то используют навеску из порошка предварительно измельченных таблеток.</p> <p>Если образец представляет собой гранулы, то используют навеску из порошка предварительно измельченных гранул.</p> <p>Если образец представляет собой порошок для приготовления раствора для внутривенного и внутримышечного введения или мазь, то используют навеску содержимого первичной упаковки.</p> <p><i>Проверка точности.</i> Между двумя последовательными титрованиями вводят точно взвешенное количество воды – такое же, как в определяемом образце, и выполняют кулонометрическое титрование. Результат должен быть в пределах от 97,5 до 102,5 % для содержания 1000 мкг воды в образце и в пределах от 90,0 до 110,0 % для содержания 100 мкг воды в образце.</p>
---	---

Приложение Б

УТВЕРЖДАЮ
 Директор
 Казанского филиала
 ФГБУ «ИМЦЭУАОСМП»
 Росздравнадзора
 к.фарм.н. Минисеева К.А.

«21» ~~ноября~~ ~~2015~~ г.
 420108, г.Казань
 ул. Мазита Гафури, д.71



АКТ ВНЕДРЕНИЯ

результатов научных достижений

Настоящим актом комиссия в составе старшего провизора-аналитика Мухаметовой Алины Раисовны, старшего провизора-аналитика Арысланова Ильшата Ринатовича, провизора-аналитика Анисимовой Алины Игоревны подтверждает внедрение в практику работы Казанского филиала ФГБУ «ИМЦЭУАОСМП» Росздравнадзора методики определения воды в лекарственной форме амоксициллина+клавулановой кислоты «порошок для приготовления суспензии для приёма внутрь» кулонометрическим титрованием по методу Фишера. Предлагаемая методика валидна по показателям: специфичность, линейность и аналитическая область методики, правильность и прецизионность, что позволяет использовать её для достоверной оценки содержания воды в лекарственной форме амоксициллина+клавулановой кислоты «порошок для приготовления суспензии для приёма внутрь». Методика отличается экспрессностью, точностью, простотой проведения эксперимента и возможностью полной автоматизации. Авторы предложения: профессор кафедры фармацевтической химии с курсами аналитической и токсикологической химии Казанского государственного медицинского университета, д.фарм.н. Абдуллина Светлана Геннадиевна и соискатель кафедры фармацевтической химии с курсами аналитической и токсикологической химии Казанского государственного медицинского университета Калинин Елена Александровна.

Члены комиссии:

Старший провизор-аналитик аналитической лаборатории
 Казанского филиала ФГБУ «ИМЦЭУАОСМП» Росздравнадзора

 А.Р. Мухаметова

Старший провизор-аналитик аналитической лаборатории
 Казанского филиала ФГБУ «ИМЦЭУАОСМП» Росздравнадзора

 И.Р. Арысланов

Провизор-аналитик аналитической лаборатории
 Казанского филиала ФГБУ «ИМЦЭУАОСМП» Росздравнадзора

 А.И. Анисимова

УТВЕРЖДАЮ
 Директор
 Казанского филиала
 ФГБУ «ИМЦЭУАОСМП»
 Росздравнадзора
 к.фарм.н. Минигалиева К.А.

«21» сентября 2015 г.
 420108, г. Казань, Казанский
 ул. Мазита Сафури, д.147



АКТ ВНЕДРЕНИЯ

результатов научных достижений

Настоящим актом комиссия в составе старшего провизора-аналитика Мухаметовой Алины Раисовны, старшего провизора-аналитика Арысланова Ильшата Ринатовича, провизора-аналитика Анисимовой Алины Игоревны подтверждает внедрение в практику работы Казанского филиала ФГБУ «ИМЦЭУАОСМП» Росздравнадзора методики определения воды в лекарственной форме амоксициллина+клавулановой кислоты «таблетки» кулонометрическим титрованием по методу Фишера. Предлагаемая методика валидна по показателям: специфичность, линейность и аналитическая область методики, правильность и прецизионность, что позволяет использовать её для достоверной оценки содержания воды в лекарственной форме амоксициллина+клавулановой кислоты «таблетки». Методика отличается экспрессностью, точностью, простотой проведения эксперимента и возможностью полной автоматизации. Авторы предложения: профессор кафедры фармацевтической химии с курсами аналитической и токсикологической химии Казанского государственного медицинского университета, д.фарм.н. Абдуллина Светлана Геннадиевна и соискатель кафедры фармацевтической химии с курсами аналитической и токсикологической химии Казанского государственного медицинского университета Калинкина Елена Александровна.

Члены комиссии:

Старший провизор-аналитик аналитической лаборатории
 Казанского филиала ФГБУ «ИМЦЭУАОСМП» Росздравнадзора  А.Р. Мухаметова

Старший провизор-аналитик аналитической лаборатории
 Казанского филиала ФГБУ «ИМЦЭУАОСМП» Росздравнадзора  И.Р. Арысланов

Провизор-аналитик аналитической лаборатории
 Казанского филиала ФГБУ «ИМЦЭУАОСМП» Росздравнадзора  А.И. Анисимова

УТВЕРЖДАЮ
 Директор
 Казанского филиала
 ФГБУ «ИМЦЭУАОСМП»
 Росздравнадзора
 к. фарм.н. Миннекеева К.А.

« 21 » _____ 2013 г.
 420108, г. Казань,
 ул. Мазита Гафури, д. 71



АКТ ВНЕДРЕНИЯ

результатов научных достижений

Настоящим актом комиссия в составе старшего провизора-аналитика Мухаметовой Алины Раисовны, старшего провизора-аналитика Арысланова Ильшата Ринатовича, провизора-аналитика Анисимовой Алины Игоревны подтверждает внедрение в практику работы Казанского филиала ФГБУ «ИМЦЭУАОСМП» Росздравнадзора методики определения воды в субстанции цефотаксима натрия кулонометрическим титрованием по методу Фишера. Предлагаемая методика валидна по показателям: специфичность, линейность и аналитическая область методики, правильность и прецизионность, что позволяет использовать её для достоверной оценки содержания воды в субстанции цефотаксима натрия. Методика отличается экспрессностью, точностью, простотой проведения эксперимента и возможностью полной автоматизации. Авторы предложения: профессор кафедры фармацевтической химии с курсами аналитической и токсикологической химии Казанского государственного медицинского университета, д.фарм.н. Абдуллина Светлана Геннадиевна и соискатель кафедры фармацевтической химии с курсами аналитической и токсикологической химии Казанского государственного медицинского университета Калинкина Елена Александровна.

Члены комиссии:

Старший провизор-аналитик аналитической лаборатории
 Казанского филиала ФГБУ «ИМЦЭУАОСМП» Росздравнадзора

 А.Р. Мухаметова

Старший провизор-аналитик аналитической лаборатории
 Казанского филиала ФГБУ «ИМЦЭУАОСМП» Росздравнадзора

 И.Р. Арысланов

Провизор-аналитик аналитической лаборатории
 Казанского филиала ФГБУ «ИМЦЭУАОСМП» Росздравнадзора

 А.И. Анисимова

УТВЕРЖДАЮ
 Директор
 Казанского филиала
 ФГБУ «ИМЦЭУАОСМП»
 Росздравнадзора
 к. фарм. н. Миннекеева К. А.

«21» *сентября* 2015 г.
 420108, г. Казань
 ул. Мазита Гафури, д. 71А



АКТ ВНЕДРЕНИЯ

результатов научных достижений

Настоящим актом комиссия в составе старшего провизора-аналитика Мухаметовой Алины Раисовны, старшего провизора-аналитика Арысланова Ильшата Ринатовича, провизора-аналитика Анисимовой Алины Игоревны подтверждает внедрение в практику работы Казанского филиала ФГБУ «ИМЦЭУАОСМП» Росздравнадзора методики определения воды в лекарственной форме цефотаксима «порошок для приготовления раствора для внутривенного и внутримышечного введения» кулонометрическим титрованием по методу Фишера. Предлагаемая методика валидна по показателям: специфичность, линейность и аналитическая область методики, правильность и прецизионность, что позволяет использовать её для достоверной оценки содержания воды в лекарственной форме цефотаксима «порошок для приготовления раствора для внутривенного и внутримышечного введения». Методика отличается экспрессностью, точностью, простотой проведения эксперимента и возможностью полной автоматизации. Авторы предложения: профессор кафедры фармацевтической химии с курсами аналитической и токсикологической химии Казанского государственного медицинского университета, д. фарм. н. Абдуллина Светлана Геннадиевна и соискатель кафедры фармацевтической химии с курсами аналитической и токсикологической химии Казанского государственного медицинского университета Калинкина Елена Александровна.

Члены комиссии:

Старший провизор-аналитик аналитической лаборатории
 Казанского филиала ФГБУ «ИМЦЭУАОСМП» Росздравнадзора *Алина* А.Р. Мухаметова

Старший провизор-аналитик аналитической лаборатории
 Казанского филиала ФГБУ «ИМЦЭУАОСМП» Росздравнадзора *Ильшат* И.Р. Арысланов

Провизор-аналитик аналитической лаборатории
 Казанского филиала ФГБУ «ИМЦЭУАОСМП» Росздравнадзора *Алиса* А.И. Анисимова

УТВЕРЖДАЮ

Директор

Казанского филиала

ФГБУ «ИМЦЭУАОСМП»

Росздравнадзора

к. фарм.н. Миннекеева К.А.

«21» сентября 2015 г.

420108, г.Казань

ул. Мазита Гафури д. 71



АКТ ВНЕДРЕНИЯ

результатов научных достижений

Настоящим актом комиссия в составе: старшего провизора-аналитика Мухаметовой Алины Раисовны, старшего провизора-аналитика Арысланова Ильшата Ринатовича, провизора-аналитика Анисимовой Алины Игоревны подтверждает внедрение в практику работы Казанского филиала ФГБУ «ИМЦЭУАОСМП» Росздравнадзора методики определения воды в субстанции ампициллина тригидрата кулонометрическим титрованием по методу Фишера. Предлагаемая методика валидна по показателям: специфичность, линейность и аналитическая область методики, правильность и прецизионность, что позволяет использовать её для достоверной оценки содержания воды в субстанции ампициллина тригидрата. Методика отличается экспрессностью, точностью, простотой проведения эксперимента и возможностью полной автоматизации. Авторы предложения: профессор кафедры фармацевтической химии с курсами аналитической и токсикологической химии Казанского государственного медицинского университета, д.фарм.н. Абдуллина Светлана Геннадиевна и соискатель кафедры фармацевтической химии с курсами аналитической и токсикологической химии Казанского государственного медицинского университета Калинкина Елена Александровна.

Члены комиссии:

Старший провизор-аналитик аналитической лаборатории
Казанского филиала ФГБУ «ИМЦЭУАОСМП» Росздравнадзора

А.Р. Мухаметова

Старший провизор-аналитик аналитической лаборатории
Казанского филиала ФГБУ «ИМЦЭУАОСМП» Росздравнадзора

И.Р. Арысланов

Провизор-аналитик аналитической лаборатории
Казанского филиала ФГБУ «ИМЦЭУАОСМП» Росздравнадзора

А.И. Анисимова

УТВЕРЖДАЮ
 Директор
 Казанского филиала
 ФГБУ «ИМЦЭУАОСМП»
 Росздравнадзора
 к. фарм. н. Миннекеева К.А.

«21» января 2015 г.
 420108, г. Казань, Казанский
 ул. Мазита Гафури, д. 71 филиал



АКТ ВНЕДРЕНИЯ

результатов научных достижений

Настоящим актом комиссия в составе старшего провизора-аналитика Мухаметовой Алины Раисовны, старшего провизора-аналитика Арысланова Ильшата Ринатовича, провизора-аналитика Анисимовой Алины Игоревны подтверждает внедрение в практику работы Казанского филиала ФГБУ «ИМЦЭУАОСМП» Росздравнадзора методики определения воды в лекарственной форме амоксициллина тригидрата «капсулы» кулонометрическим титрованием по методу Фишера. Предлагаемая методика валидна по показателям: специфичность, линейность и аналитическая область методики, правильность и прецизионность, что позволяет использовать её для достоверной оценки содержания воды в лекарственной форме амоксициллина тригидрата «капсулы». Методика отличается экспрессностью, точностью, простотой проведения эксперимента и возможностью полной автоматизации. Авторы предложения: профессор кафедры фармацевтической химии с курсами аналитической и токсикологической химии Казанского государственного медицинского университета, д. фарм. н. Абдуллина Светлана Геннадиевна и соискатель кафедры фармацевтической химии с курсами аналитической и токсикологической химии Казанского государственного медицинского университета Калинкина Елена Александровна.

Члены комиссии:

Старший провизор-аналитик аналитической лаборатории
 Казанского филиала ФГБУ «ИМЦЭУАОСМП» Росздравнадзора

 А.Р. Мухаметова

Старший провизор-аналитик аналитической лаборатории
 Казанского филиала ФГБУ «ИМЦЭУАОСМП» Росздравнадзора

 И.Р. Арысланов

Провизор-аналитик аналитической лаборатории
 Казанского филиала ФГБУ «ИМЦЭУАОСМП» Росздравнадзора

 А.И. Анисимова

УТВЕРЖДАЮ
 Генеральный директор
 ОАО «Татхимфармпрепараты»
 Хаинанов Т.Ш.



2015 г.
 420091, Казань,
 ул. Беломорская, д.260

АКТ ВНЕДРЕНИЯ

результатов научных достижений

Настоящим актом подтверждаем внедрение в практику работы ОАО «Татхимфармпрепараты» методики определения воды в лекарственном препарате «Эритромицина мазь глазная 10000 ЕД/г» кулонометрическим титрованием по методу Фишера. Предлагаемая методика валидна по показателям: специфичность, линейность и аналитическая область методики, правильность и прецизионность, что позволяет использовать её для достоверной оценки содержания воды в лекарственном препарате «Эритромицина мазь глазная 10000 ЕД/г». Методика отличается экспрессностью, точностью, простотой проведения эксперимента и возможностью полной автоматизации. Авторы предложения: профессор кафедры фармацевтической химии с курсами аналитической и токсикологической химии Казанского государственного медицинского университета, д.фарм.н. Абдуллина Светлана Геннадиевна и соискатель кафедры фармацевтической химии с курсами аналитической и токсикологической химии Казанского государственного медицинского университета Калинкина Елена Александровна.

Члены комиссии:

Заместитель генерального директора
 по качеству ОАО «Татхимфармпрепараты»

В.А. Севодин

Начальник Испытательной лаборатории ОКК
 ОАО «Татхимфармпрепараты»

Е.А. Курченкова

Химик Испытательной лаборатории ОКК
 ОАО «Татхимфармпрепараты»

Р.М. Шакирова

УТВЕРЖДАЮ
Генеральный директор
ОАО «Татхимфармпрепараты»
Ханнанов Т.Ш.



«30» *сентября* 2015 г.
420091, Казань,
ул. Беломорская, д.260

АКТ ВНЕДРЕНИЯ

результатов научных достижений

Настоящим актом подтверждаем внедрение в практику работы ОАО «Татхимфармпрепараты» методики определения воды в субстанции эритромицина кулонометрическим титрованием по методу Фишера. Предлагаемая методика валидна по показателям: специфичность, линейность и аналитическая область методики, правильность и прецизионность, что позволяет использовать её для достоверной оценки содержания воды в субстанции эритромицина. Методика отличается экспрессностью, точностью, простотой проведения эксперимента и возможностью полной автоматизации. Авторы предложения: профессор кафедры фармацевтической химии с курсами аналитической и токсикологической химии Казанского государственного медицинского университета, д.фарм.н. Абдуллина Светлана Геннадиевна и соискатель кафедры фармацевтической химии с курсами аналитической и токсикологической химии Казанского государственного медицинского университета Калинкина Елена Александровна.

Члены комиссии:

Заместитель генерального директора
по качеству ОАО «Татхимфармпрепараты»

[Signature]
В.А. Севодин

Начальник Испытательной лаборатории ОКК
ОАО «Татхимфармпрепараты»

[Signature]
Е.А. Курченкова

Химик Испытательной лаборатории ОКК
ОАО «Татхимфармпрепараты»

[Signature]
Р.М. Шакирова