

ИЗУЧЕНИЕ СОВРЕМЕННЫХ ТРЕБОВАНИЙ К МЕТОДАМ АНАЛИЗА ЦИПРОФЛОКСАЦИНА И ЦИАНОКОБАЛАМИНА

Жилякова Е.Т.¹, Зинченко А.А.², Новиков О.О.¹, Новикова М.Ю.¹, Баскакова А.В.¹

¹ ФГАОУ ВПО НИУ «БелГУ» Белгородский государственный национальный исследовательский университет, Россия, г. Белгород (308000, г. Белгород, ул. Победы, д. 85), haitelle@gmail.com

² ГП «Украинский научный Фармакопейный центр качества лекарственных средств», Украина, 61085, г. Харьков, ул. Астрономическая, 33

В ходе изучения современных требований к методам анализа цианокобаламина и ципрофлоксацина установлено, что наиболее широко распространенным методом анализа цианокобаламина и ципрофлоксацина является ВЭЖХ. Разработка современных аналитических методик невозможна без теоретического обоснования на основе актуальных международных требований. Согласно проведенному обзору аналитических методик в ведущих международных фармакопеях были выбраны и оптимизированы требования для разрабатываемой методики анализа ципрофлоксацина и цианокобаламина.

Проведен литературный обзор наиболее широко применяющихся в настоящее время методов анализа ципрофлоксацина и цианокобаламина. Изучены и установлены международные требования к анализу изучаемых субстанций.

Определены основные параметры пригодности хроматографической системы для методик анализа ципрофлоксацина и цианокобаламина.

Ключевые слова: ацикловир, ципрофлоксацин, цианокобаламин, глазные капли, ВЭЖХ.

THE STUDY OF MODERN REQUIREMENTS TO METHODS OF CIPROFLOXACINE AND CYANOCOBALAMINS ANALYSIS

Zhilyakova E.T.¹, Zincenko A.A.², Novicov O.O.¹, Novicova M.Y.¹, Baskakova A.V.¹

¹ NRU BSU «BelGU» Belgorod National Research University, Russia, Belgorod (308000, Belgorod, Pobeda street 85). haitelle@gmail.com

² Ukrainian scientific Pharmacopoeial center for quality of medicines, Ukrainian, 61085, Khakov, Astronomicheskaya street 33

During studying of modern requirements to methods of analysis of ciprofloxacin and cyanocobalamins established that the most common method is HPLC analysis of ciprofloxacin and cyanocobalamin. Development of modern analytical techniques is impossible without theoretical justification based on actual international requirements. According to a review of the analytical techniques in the leading international pharmacopoeias have been selected and optimized the requirements analysis techniques of ciprofloxacin and cyanocobalamin.

A literature review was conducted to study the most widely used contemporary methods analysis of ciprofloxacin and cyanocobalamin. International requirements for the analysis of the studied substances. Have been studied main parameters of _ system suitability analysis techniques ciprofloxacin and cyanocobalamin were studied.

Keywords: aciclovir, ciprofloxacin, cyanocobalamin, eye drops, HPLC.

В последнее время диагностике и лечению вирусных офтальмологических патологий как у нас в стране, так и за рубежом уделяется большое внимание. По данным статистики Министерства здравоохранения и социального развития РФ, болезнями глаз и глазного аппарата страдают около 4,7 млн человек в России [1]. На долю вирусных конъюнктивитов приходится около трети от всех офтальмологических патологий, при этом по результатам проведенного маркетингового анализа установлено, что одними из наиболее эффективных противомикробных и репаративных на российском рынке являются цианокобаламин и ципрофлоксацин [2].

Одним из проявлений глазной инфекции является полиморбидное течение, в ходе которого из-за первичной вирусной инфекции, сопровождающейся образованием фолликулов, происходит вторичное бактериальное или грибковое обсеменение слизистых оболочек, что

требует включения в состав глазных капель репаративного и антиоксидантного агента. В качестве оптимального репаративного агента нами был выбран цианокобаламин, обладающий выраженной активностью и стимулирующий синтез пуриновых нуклеозидов, к которым относится ацикловир. Другим проявлением вторичных глазных инфекций является грибковое поражение поврежденной слизистой оболочки глаза, что обуславливает необходимость введение антибактериального агента, в роли которого, согласно проведенным микробиологическим исследованиям, выбран ципрофлоксацин.

Однако разработка современного комплексного препарата для лечения конъюнктивитов не может быть осуществлена без разработки современного метода анализа. В ходе изучения научной и патентной литературы данных было установлено, что основным методом анализа ацикловира в различных лекарственных формах в общемировой практике является высокоэффективная жидкостная хроматография.

ВЭЖХ, интенсивно развиваясь несколько последних десятилетий, зарекомендовала себя в качестве одного из самых универсальных методов разделения и фармакопейного анализа субстанций и лекарственных средств.

Рассматривая методы анализа ципрофлоксацина в современной литературе, было установлено, что во всех мировых фармакопеях используется метод ВЭЖХ. Полученные результаты представлены в таблице 1.

Таблица 1. Сравнительная характеристика методов анализа ципрофлоксацина методом ВЭЖХ в различных фармакопеях мира

Фармакопейная страна	Условия хроматографирования						
	Подвижная фаза	Колонка	Скорость потока, объем пробы	Детектор, длина волны,	Количество примесей	Время хроматографии	Число теоретических тарелок
ГФ XII[3]	Данные отсутствуют						
БФ(белорусская фармакопея) [4]	ацетонитрил Р — раствор 2,45 г/л кислоты фосфорной Р, доведенный до рН 3,0 триэтиламином Р, (13:87, об/об)	0,25 м с внутренним диаметром 4,6 мм, заполненная силикагелем октадецилсилильным с размером частиц 5 мкм;	1,5 мл/мин, 50 мкл	УФ, 278 нм	Общая сумма примесей не более 0,5%,	2х кратное время удерживания ципрофлоксацина	Не указано
ВР (британская фармакопея 2013)[5]	Смесь из 13 объемов ацетонитрила и 87 объемов 2,45 г/л раствора фосфорной	Колонка 25 см *4,6 мм октадецильного силикагеля для хроматографии	1,5 мл/мин, 50 мкл.	УФ 278 нм	Не более 0,5% сумма примесей	Двойное время удерживания ципрофлоксацина	Не указано

	кислоты до pH 3,0 с триэтиламино	и 5 мкм, температура колонки 40 градусов				на	
USP 36 (американская фармакопея) [6]	Подвижная фаза ацетонитрил и 0,025 М фосфорная кислота, доведение триэтиламино до pH 3,0+- 0,1 (13:87)	4,6 мм*25 см, частицы L1, температура колонки 30 градусов Цельсия	1,5 мл/мин 10 мкл	УФ, 278 нм	Не более 1,5%	Время удерживания 6,4-10,8 мин	Не менее 2500
EPH (европейская фармакопея) [7]	13 объемов ацетонитрила и 87 объемов 2,45 г/л раствором фосфорной кислоты, pH 3,0 с триэтиламино	Колонка длиной 25 см *4,6 мм, с октадецильными силикагелем для хроматографии и 5 мкм, температура 40 градусов Цельсия	1,5 мл/мин, 50 мкл	УФ 278 нм	Не более 0,5%	Двойное время удерживания ципрофлоксацина	Не указано

Как видно из таблицы 1, требования к анализу ципрофлоксацина в ведущих фармакопеях в целом одинаковы. В ГФ XII не приводится информация об анализе ципрофлоксацина методом ВЭЖХ. Только USP 36 в качестве одного из показателей пригодности хроматографической системы выдвигает «количество теоретических тарелок», характеризующее качество используемой колонки. Также несколько изменяется в USP 36 температура колонки до 30 градусов Цельсия, по сравнению с остальными фармакопеями, а также четко регламентируется временной интервал выхода пика ципрофлоксацина.

Для анализа репаративного агента, в роли которого был выбран цианокобаламин, используется в основных мировых фармакопеях как метод ВЭЖХ, сравнительный анализ которого представлен в таблице 2, так и титриметрический метод, а также ТСХ.

Таблица 2. Сравнительная характеристика методов анализа цианокобаламина методом ВЭЖХ в различных фармакопеях мира

Фармакопеи, страна	Условия хроматографирования						
	Подвижная фаза	Колонка	Скорость потока, объем пробы	Детектор, длина волны,	Количество примесей	Время хроматографирования	Число теоретических тарелок
ГФ XII	Данные отсутствуют						

БФ(белорусская фармакопея)	смесь из 26,5 объемов метанола Р и 73,5 объемов раствора 10 г/динатрия гидрофосфата Р, доведенного до рН 3,5 кислотой фосфорной Р (раствор годен в течение 2 дней);	0,25 м и внутренним диаметром 4 мм, заполненная силикагелем октилсилильными для хроматографии Р с размером частиц 5 мкм;	0,8 мл/мин, 30 мкл	УФ, 361 нм.	Сумма примесей не более 3%	3х-кратное время удерживания цианокобаламина	Не указано
ВР (британская фармакопея 2013)	Мобильная фаза из 26,5 объемов метанола и 73,5 объемов 10 г/л раствора калия гидрофосфата до рН 3,5 с фосфорной кислотой (срок годности двое суток)	Колонка 25 см * 4 мм с октадецильными силикагелем для хроматографии 5 мкм.	0,8 мл/мин, 20 мкл	УФ, 361 нм	Сумма примесей не более 3%	тройное время удерживания цианокобаламина	Не указано
ЕРн (европейская фармакопея 2010)	26 объемов метанола и 75,5 объема натрия гидрофосфата до рН 3,5 с фосфорной кислотой (раствор годен 2 дня)	Колонка длиной 25 см, ширина 4 мм, стационарная фаза октадецильный силикагель для хроматографии и 5 мкм	0,8 мл/мин, 20 мкл	361 нм, УФ	Сумма примесей не более 3%	3х-кратное время удерживания цианокобаламина	Не указано

Как видно из таблицы 2, в ведущих международных фармакопеях требования к анализу цианокобаламина идентичны, однако европейская фармакопея 2010 г. регламентируется несколько различное содержания объема метанола и натрия гидрофосфата в составе подвижной фазы, а британская фармакопея 2013 г. регламентирует включение в состав подвижной фазы калия гидрофосфата. Однако рН растворов в трех рассмотренных методиках остается неизменным. Также ни в одной из рассмотренных фармакопей не приводится количество теоретических тарелок для пика цианокобаламина.

Таким образом, можно сделать вывод, что в настоящее время ведущим методом исследования, который описан во многих фармакопеях мира, является ВЭЖХ. Для разработки

метода количественного определения ципрофлоксацина и цианокобаламина является актуальной проблемой создания чувствительного и высокоточного метода анализа.

Список литературы

1. Жилиякова Е.Т., Новикова М.Ю., Новиков О.О., Баскакова А. В. (Ткачева А.С.), Придачина Д.В. Изучение ассортимента противовирусных глазных лекарственных форм // Фундаментальные исследования. – 2012. – № 1 . – С. 179-183.
2. Жилиякова Е. Т., Баскакова А. В. Изучение ассортимента офтальмологических лекарственных форм для лечения офтальмогерпеса // Российский общенациональный офтальмологический форум, 6-й: сб. науч. тр. / под ред. В.В. Нероева. – М.: Апрель, 2013. – Т. 1. – 364 с.; Т. 2. – С. 365.
3. XII Государственная фармакопея РФ, часть 1, Ацикловир ФС 42-0221-07, с. 513.
4. Государственная фармакопея Республики Беларусь. В 3 т. Т. 3. Контроль качества фармацевтических субстанций / УП «Центр экспертиз и испытаний в здравоохранении»; под общ. ред. А. А. Шерякова. – Минск: Минский государственный ПТК полиграфии им. В. Хоружей, 2009. – Ацикловир. – С.179.
5. British Pharmacopoeia Volume III, Formulated Preparations: Specific Monographs, Aciclovir Eye Ointment.
6. USP Pharmacopoeia; edition 29.
7. European Pharmacopoeia 5.0: Vol. 2. Author, Council of Europe. Edition, 5. Publisher, Council of Europe, 2004. Length, 2727 pages.

Рецензент:

Степанова Э.Ф., д.ф.н., профессор кафедры «Технологии лекарств» Пятигорского медико-фармацевтического института – филиала ГБОУ ВПО ВолгГМУ Минздрава России, г. Пятигорск;
Голивец Т.П., д.м.н., профессор, заведующая кафедрой терапии ФПМО МИ НИУ «БелГУ», г. Белгород.