

Е.Н. Семенова, Е.И. Саканян, С.И. Кулешова

## Сравнительная характеристика методов количественного определения, используемых при стандартизации и последующей оценке качества антибиотиков

Научный центр экспертизы средств медицинского применения, Москва

**Резюме.** Обозначена значимость и востребованность антибиотических лекарственных средств. Приведены сведения о количестве представленных на отечественном фармацевтическом рынке лекарственных препаратов - антибиотиков. Отмечено, что недоброкачественность антибиотиков – это одна из возможных причин появления резистентных форм штаммов микроорганизмов, следовательно, стандартизация и оценка качества этой группы лекарственных средств является важной задачей фармакопейного анализа. Приведен понятийный аппарат, представлена классификация антибиотиков с учетом химического строения, механизма, спектра и типа действия. Проведен анализ отечественных и зарубежных фармакопейных стандартов, регламентирующих качество лекарственных средств – антибиотиков. Показано, что ведущими мировыми фармакопеями для оценки содержания действующего вещества в лекарственных средствах на основе антибиотиков используются биологические, химические и физико-химические методы анализа. Кратко описаны как фармакопейные методы количественного определения антибиотиков в лекарственных средствах, так и методы, предложенные отдельными группами исследователей, а также проведен их сравнительный анализ. Особое внимание уделено группе антибиотиков-аминогликозидов как одной из первых введенных в медицинскую практику (неомицин, канамицин, тобрамицин, стрептомицин, амикацин и др.). Отмечено, что при передозировке при приеме антибиотиков группы аминогликозидов могут возникнуть нежелательные реакции, вызывающие ото- и нефротоксичность, нейромышечную блокаду и ряд других серьезных последствий. В связи с этим вопрос совершенствования существующих и разработка новых методов количественного определения для данной группы антибиотиков является актуальным. Отмечена перспективность использования турбидиметрического метода количественного определения антибиотиков группы аминогликозидов в отечественной системе стандартизации и контроля качества этих лекарственных средств.

**Ключевые слова:** антибиотики, аминогликозиды, методы количественного определения антибиотиков, методы количественного определения аминогликозидов, качество, лекарственные средства, стандартизация, турбидиметрический метод.

**Введение.** Несмотря на наличие большого количества лекарственных средств и методов, предназначенных для лечения инфекционных заболеваний, данная группа заболеваний остается значимой для здравоохранения, так как, по данным Всемирной организации здравоохранения, на сегодняшний день инфекции занимают 3–4 место в рейтинге причин смертности населения земного шара [5]. Важнейшим аспектом борьбы человечества с инфекционными агентами является расширение ассортимента антибактериальных препаратов, к числу которых относятся антибиотики, обеспечение их качества и клинической эффективности. Антибиотики являются одной из наиболее широко востребованных групп лекарственных средств, находящих применение в различных областях клинической медицины. В большинстве развитых стран они занимают ведущее место по объему производства и потребления. Сегмент рынка лекарственных средств (ЛС) антибиотиков в разных странах составляет 6–21% от всего фармацевтического рынка. По данным Государственного реестра лекарственных средств, на начало 2017 г. в Российской Федерации (РФ) зарегистрировано бо-

лее 1000 препаратов – антибиотиков отечественного и зарубежного производства. Антибактериальные средства в РФ включены в перечень жизненно необходимых и важнейших лекарственных препаратов. В 2017 г. они представлены 50 международными непатентованными наименованиями. Согласно данным отечественных и зарубежных периодических изданий, применение некачественных антибиотиков приводит к хронизации заболеваний, росту инвалидизации и смертности, а самое главное – к формированию высокорезистентных штаммов микроорганизмов [14]. В этой связи вопросы стандартизации и последующего контроля качества лекарственных средств группы антибиотиков приобретают особую актуальность. Одним из основных показателей качества антибиотиков является количественное определение. Методы, используемые для количественного анализа, их специфичность, чувствительность, воспроизводимость и т. д. постоянно совершенствуются и модифицируются, так как правильный их выбор определяет в дальнейшем и качество ЛС.

**Цель исследования.** Изучить методы количественного определения, используемые при стан-

дартизации и оценке качества антибиотиков, а также провести их сравнительный анализ на примере антибиотиков группы аминогликозидов.

**Материалы и методы.** Теоретическую и методологическую основу исследований составили издания отечественных и зарубежных фармакопей, научные труды российских и иностранных авторов в области стандартизации и контроля качества антибиотических лекарственных средств, а также данные различных информационно-аналитических систем, в том числе Государственного реестра лекарственных средств (ГРЛС). В ходе исследований применялись латентно-семантический, исторический и структурно-логический методы, контент-анализ.

**Результаты и их обсуждение.** В настоящее время под термином «антибиотики» понимают химиотерапевтические лекарственные средства на основе химических соединений биологического происхождения (природные), а также их полусинтетических производных и синтетических аналогов, обладающих избирательным антибактериальным действием, а также противогрибковой и противоопухолевой активностью.

Разнообразие видов антибиотиков и механизмов их воздействия на микроорганизмы явилось причиной разделения антибиотиков на группы (табл. 1). В основу классификационных признаков были положены: химическое строение, механизм, спектр и тип действия [1, 4].

Наиболее значимой для выбора метода количественного определения является классификация по химическому строению. Вместе с тем для определения активности антибиотиков в отношении микроорганизмов учитывают и другие типы классификаций, в том числе по спектру и типу действия.

В настоящее время ведущими мировыми фармакопеями для оценки содержания действующего

вещества в ЛС на основе антибиотиков предпочтение отдается двум методам: микробиологическому (30–69% монографий) и методу высокоэффективной газожидкостной хроматографии (ВЭЖХ) (28–65% монографий) [3, 18, 19, 24–26, 36]. Существенно реже используются титриметрические методы (3–7% монографий) и всего в 1–2% случаев – спектрофотометрические методы.

Установлено, что количественное определение антибиотиков групп аминогликозидов, макролидов, гликопептидов и полипептидов в большинстве случаев осуществляют микробиологическим методом.

Основным методом количественного определения бета-лактамов антибиотиков, согласно монографиям Европейской (Ph. Eur.), Американской (USP), Британской (BP) и Японской (JP) фармакопей является ВЭЖХ. Согласно Международной фармакопее (Ph. Int), количественное определение пенициллинов проводят спектрофотометрическим методом по реакции с имидазолом ртути (II) хлоридом. В USP предусмотрено определение пенициллинов йодометрическим методом. Микробиологическим методом диффузии в агар проводят количественное определение антибиотиков группы бета-лактамов по Государственной фармакопее (ГФ) РФ, USP, Ph. Int., Ind. P [3, 18, 19, 24–26, 36].

Одной из первых групп антибиотиков, введенных в медицинскую практику, является группа аминогликозидов. Группа аминогликозидов – это антибиотики широкого спектра действия, имеющие схожее химическое строение, аналогичные антимикробные и фармакологические характеристики. На сегодняшний день группа аминогликозидов насчитывает более 10 природных антибиотиков, продуцируемых микроорганизмами рода *Actinomyces* (неомицин, канамицин, тобрамицин и др.), рода *Micromonospora* (гентамицин), рода *Streptomyces* (стрептомицин) и несколько полу-

Таблица 1

Классификации антибиотиков

Тип классификаций	Группа антибиотиков						
По химическому строению	углеводные (аминогликозиды)	макроциклические (макролиды, полиеновые)	хиноны и подобные им соединения (тетрациклины)	аминокислоты, пептиды и пептолиды (бета-лактамы: пенициллины, цефалоспорины; полипептиды; гетеромерные пептиды)		ароматические антибиотики	антибиотики другой структуры
По механизму действия	повреждение клеточной мембраны	нарушение биосинтеза пептидогликанов клеточной стенки	нарушение отдельных процессов трансляции		нарушение энергетического обмена		нарушение биосинтеза нуклеиновых кислот
По спектру действия	влияющие преимущественно на грамположительные микроорганизмы	влияющие преимущественно на грамотрицательные микроорганизмы	Широкого спектра действия	противогрибковые	противотуберкулезные	противоопухолевые	влияющие на простейших
По типу действия	бактерицидные (вызывающие гибель микроорганизмов-β-лактамы антибиотики, аминогликозиды)			бактериостатические (нарушающие способность микроорганизмов к делению (макролиды, аминогликозиды, тетрациклины)			

синтетических, полученных на их основе (например, амикацин, являющийся производным канамицина А).

Классификация ЛС группы аминогликозидов основывается на последовательности введения отдельных препаратов в практику, особенностях антимикробного спектра новых препаратов, их химического строения, а также происхождения природные или полусинтетические. Как правило, выделяют три поколения препаратов группы аминогликозидов (табл. 2).

Таблица 2

**Классификация антибиотиков группы аминогликозидов**

I поколение	II поколение	III поколение
Стрептомицин Неомицин Канамицин Мономицин	Гентамицин Сизомицин Тобрамицин	Амикацин Нетилмицин Изапамицин

Антибиотики-аминогликозиды показаны при лечении нозокомиальных инфекций различной локализации, эффективны при бактериемии, сепсисе, при эндокардите, остеомиелите, осложненных внутрибрюшных инфекциях. Особое место занимают лекарственные препараты антибиотиков группы аминогликозидов в комбинированной терапии туберкулеза. Весьма важной является активность прежде всего стрептомицина в отношении некоторых особо опасных высококонтагиозных моноинфекций (чума, туляремия, бруцеллез).

Оценивая значение ЛС группы аминогликозидов на современном этапе клинической медицины, а также учитывая достаточно серьезные нежелательные реакции при передозировке (ото- и нефротоксичность, нейромышечная блокада), вопросы стандартизации и контроля качества лекарственных средств данной группы антибиотиков приобретают особую актуальность.

На сегодняшний день ведущими мировыми фармакопиями для количественного определения большинства антибиотиков группы аминогликозидов рекомендованы биологические методы анализа. Так, в Европейской, Американской, Британской и в Индийской фармакопиях используются две разновидности методов биологического анализа: метод диффузии в агар и турбидиметрический метод. В отечественной фармакопейной практике (Фармакопиях Союза Советских Социалистических Республик и ГФ РФ) применяется только диффузионный метод [3, 18, 19, 24–26, 36].

Изначально для оценки качества антибиотиков использовались микробиологические методы анализа, основанные на непосредственном биологическом действии антибиотиков в отношении подобранных высокочувствительных микроорганизмов. Это объясняет большую информативность и объективность микробиологических методов по сравнению с химическими, так как они позволяют определить не только общее содержание антибиотиков, но и их физиологически активные формы. Именно поэтому микробио-

логические испытания рекомендованы в качестве арбитражных методов при разрешении сомнений, касающихся возможного снижения или потери активности антибиотиков [9, 36].

В настоящее время биологические методы не только широко используются для количественного определения антибиотиков группы аминогликозидов, но и продолжают совершенствоваться.

Для количественного определения антибиотиков-аминогликозидов методом диффузии в агар Американская фармакопия рекомендует использование стандартной кривой однодозного метода (5 1 дизайн), Британская и Бразильская фармакопии – трехдозный (3×3 дизайн) и двухдозный (2×2 дизайн) варианты соответственно. Вместе с тем, данные экспериментальные дизайны метода имеют определенные преимущества и недостатки. Так, двухдозный и трехдозный варианты используются для исследований, поскольку дают информацию о значениях регрессии и параллелизме между кривыми стандарта и образца, однако они являются достаточно трудоемкими и затратными. Однодозный метод (5×1 дизайн), позволяет проводить оценку большого числа образцов, но необходимость коррекции делает расчеты сложными и более восприимчивыми к ошибкам. FR. Lourenço et al. сравнили одно-, дву- и трехдозные дизайны при определении антимикробной активности гентамицина методом диффузии в агар. Объединение положительных характеристик двухдозного и однодозного вариантов метода представляет значительный интерес и позволяет, по мнению авторов, получить более надежные результаты. Предложен альтернативный 3×1 дизайн метода, который может быть использован для повседневно анализа качества лекарственных средств, содержащих гентамицин, поскольку позволяет резко сократить объем исследований и материала для статистической обработки, а также имеет преимущество в отношении более низкой стоимости анализа [28].

Другая разновидность биологического анализа – метод турбидиметрии, включающий количественный анализ, основанный на интенсивности света, поглощенного взвешенными частицами – клетками микроорганизмов. Принцип метода – логарифмическая зависимость степени угнетения роста испытуемого микроорганизма от концентрации антибиотика. При добавлении определенных количеств антибиотика наблюдается задержка роста испытуемого микроорганизма, при этом изменяется интенсивность поглощенного им света.

Турбидиметрический метод анализа является в настоящее время наиболее перспективным, так как в сочетании с развитием инструментального оборудования дает широкие возможности, значительно сокращая временные и экономические затраты, обеспечивая вместе с тем получение высокоточных и достоверных результатов.

Весьма интересной в этом направлении является работа группы исследователей с FR. Lourenço [29], в которой была предложена модификация турбиди-

метрического метода анализа апромицина путем использования системы кинетического считывания микропланшетов. Разработанная методика требует значительно меньшего количества материалов, используемых в анализе (растворы антибиотиков, питательные среды), а также сочетает в себе преимущества микробиологических и физико-химических методов анализа.

F. Lotfirour et al. [27] предложили использовать турбидиметрический метод анализа амикацина совместно с полимеразной цепной реакцией в режиме реального времени, что позволяет быстро на высокочувствительном и надежном уровне подсчитать точное количество микроорганизмов.

Европейская фармакопея, Фармакопея Соединенных Штатов Америки, а также Японская Фармакопея для количественного определения антибиотиков группы аминогликозидов предполагают использование ВЭЖХ. Однако аминогликозидные антибиотики не обладают флуоресценцией и не поглощают в ультрафиолетовой области, в связи с этим детекция аминогликозидных антибиотиков представляет серьезную проблему. Для детектирования аминогликозидов используют реакции комплексообразования с реагентами, имеющими группировки, способные поглощать в ультрафиолетовой области (1-фтор-2,4-динитробензол) либо обладающие способностью к флуоресценции (флуорескамин, дансилхлорид, о-фталевый ангидрид) [8].

Вместе с тем в связи с бурным развитием в последние десятилетия ВЭЖХ ряд исследований направлены на поиски возможности более широкого применения данного метода для количественного определения антибиотиков группы аминогликозидов.

Так, А. Тополян и др. [35] предложили подход основанный на дериватизации аминов с использованием трис-(диметоксифенил)-метилиевых солей для селективной модификации аминогликозидных антибиотиков. Модификация происходит по аминогруппе при первичном атоме углерода, присоединяемый остаток имеет ароматическую природу и несет перманентный положительный заряд, что позволяет легко детектировать аминогликозидные антибиотики методами масс-спектрометрии и обращенно-фазовой ВЭЖХ.

Для количественного определения тобрамицина предложено использовать предварительное комплексообразование с динитрофенилом (ДНФ). Образующиеся в результате реакции ДНФ-производные аминогликозидов обладают высоким светопоглощением при 350 нм, что позволяет использовать для их определения УФ-детектор [12].

N. Megoulas and M. Koupparis [30] проведена количественная оценка гентамицина и канамицина в лекарственном препарате методом жидкостной хроматографии с термораспыляющим детектором (температура испарения 50°C и давление 3 Бар, в качестве газа переносчика использован азот). Канамицин и четыре компонента гентамицина элюировались через 3,2; 4,6; 5,9; 7,1 мин соответственно с хорошим

разрешением. Логарифмический градуировочный график для общего содержания гентамицина линеен в пределах 35–240 мкг/мл.

Метод ВЭЖХ с флуориметрическим детектированием был применен для количественного определения семи антибиотиков-аминогликозидов (дибекацин, фрамицетин, канамицин, нетилмицин, сизомицин, тобрамицин и гентамицин) в фармацевтических препаратах, используя для этих целей постколоночный синтез их производных с о-фталевым альдегидом. Метод дает сопоставимые результаты с данными, полученными при использовании фармакопейного микробиологического метода [20].

ВЭЖХ с амперометрическим детектированием применяют для количественного определения тобрамицина, канамицина и неомицина В [8].

За несколько десятилетий терапевтического применения антибиотиков группы аминогликозидов, помимо развития основных фармакопейных методов, разработано также большое число альтернативных методов их количественного определения, включаемых в нормативную документацию. Весьма перспективным является применение электрофоретических методов. В фармацевтическом анализе, в основном из-за полуколичественной характеристики, метод электрофореза применялся в ограниченном объеме, преимущественно для разделения макромолекул. Однако введение капиллярного формата сделало возможным проводить полное количественное и автоматизированное определение сложных смесей. Этот принцип находит все более широкое применение. Метод капиллярного электрофореза (КЭ) включен в отечественную и зарубежную фармакопейную практику [10, 16].

C. Flurer [21] показана возможность идентификации и разделения двенадцати аминогликозидных антибиотиков с использованием капиллярного электрофореза при прямом УФ-детектировании. При этом количественное определение дигидрострептомицина и стрептомицина осуществляют в 160 мМ растворе тетрабората натрия с линейностью градуировочного графика в диапазоне 0,05–1 мг/мл. Возможность этого количественного определения также продемонстрирована для таких соединений, как амикацин, канамицин А и тобрамицин, с использованием сизомицина в качестве внутреннего стандарта.

Метод КЭ подробно описан для случаев его использования при анализе растворов для инъекций, содержащих гентамицин сульфат. Разделение проводят с применением кварцевого капилляра и боратного буфера (рН 9,4, конц. 0,150 М, длина волны 195 нм) [22].

Ряд сведений о возможностях применения КЭ отмечены в отечественной литературе. Работы такого типа были во многом связаны с созданием отечественных систем КЭ «Капель». Так, в 2012 г. в РФ была аттестована методика М 08-01-2012 «Определение антибиотиков в готовых лекарственных средствах ветеринарного назначения», разработанная специали-



стами группы компаний «Люмэкс». Метод измерений основан на извлечении антибиотика-гентамицина из образцов лекарственных препаратов, дальнейшем разделении и количественном определении методом КЭ. Высокая точность количественного определения антибиотиков обеспечивается использованием метода внутреннего стандарта [6].

Большое число исследований, направленных на количественное определение антибиотиков группы аминогликозидов в различных лекарственных средствах, посвящено использованию спектроскопических методов, основанных на определенных свойствах антибиотиков – появление характерных полос в видимой области спектра под воздействием различных реагентов.

М. Omar et al. [31] разработали новый спектрофлуориметрический метод определения амикацина, неомицина и тобрамицина в фармацевтических препаратах. Метод основан на реакции антибиотиков с нингидрином и фенилацетальдегидом в буферной среде (рН 6), что приводит к образованию флуоресцирующих продуктов. Предложенный метод был успешно применен для анализа лекарственных препаратов, содержащих антибиотики-аминогликозиды в различных лекарственных формах.

Этой же группой исследователей годом позже был предложен другой высокочувствительный спектрофлуориметрический метод количественного определения неомицина, тобрамицина и канамицина, основанный на реакции Ганча. Интенсивность флуоресценции полученных производных прямо пропорциональна концентрации антибиотиков и позволяет определять последние на уровне микроколичеств (в диапазоне 10–60 нг/мл, 40–100 нг/мл, 5–50 нг/мл для неомицина, тобрамицина и канамицина соответственно) [32].

На основе реакции между аминогруппами в молекуле гентамицина и о-фталевым ангидридом, протекающей в щелочной среде, предложен метод флуориметрического определения гентамицина в липосомальной форме. Авторами было исследовано влияние некоторых факторов на ход реакции (количество о-фталевого ангидрида, время реакции) и определены оптимальные условия ее протекания. Установлено, что липосомальные липиды, не содержащие свободные аминогруппы, не оказывают никакого влияния на реакцию. Калибровочная кривая линейна в диапазоне концентраций 0,5–4,0 мкг/мл [23].

Для количественного определения неомицина в глазных каплях адаптирован модифицированный метод Берто, широко используемый для определения мочевины. Были оптимизированы экспериментальные условия для успешного определения неомицина в интервале концентраций 77–154 мкг/мл. Полученные результаты оказались сопоставимы с референтным микробиологическим методом [33].

Ряд работ посвящен исследованиям количественного определения антибиотиков, основанным на использовании сенсibilизированной люминисценции

ионов  $\text{Eu}^{3+}$  и  $\text{Tb}^{3+}$ . В частности, было предложено количественное определение шести аминогликозидов в фармацевтических препаратах. Метод основан на образовании комплексных соединений антибиотиков с ионами лантанидов, в которых ионы  $\text{Eu}^{3+}$  проявляют интенсивную люминисценцию при  $\lambda=616\text{нм}$  [34].

Перспективный способ количественного определения антибиотиков-аминогликозидов в фармацевтических препаратах, основанный на спектроскопии в ближней инфракрасной (БИК) области, был предложен M. Sarraguçè et al. [35]. Метод разработан для количественного определения неомицина сульфата в таблетках и предполагает измерения в режиме отражения с использованием Фурье-спектрометра. Для построения калибровочной модели использован метод частичных наименьших квадратов. Проведенный анализ показал применимость разработанной методики для оценки качества лекарственных средств группы антибиотиков. Результаты определения неомицина сульфата были подтверждены с помощью ВЭЖХ с предварительной дериватизацией с фенилизотиоцианатом.

Сравнительно недавно стали появляться работы посвященные использованию резонансного рэлеевского рассеяния света (PPC) в количественном анализе. PPC-методики определения аминогликозидов основаны на ассоциации протонированных по аминогруппам молекул аналита и противоположно заряженного красителя, полиэлектролита или функциональных групп поверхности наночастицы. Полученные таким образом ассоциаты могут давать интенсивный сигнал PPC. Однако сигнал могут давать и другие присутствующие в пробе катионогенные соединения, посторонние ионы и макромолекулы. В этой связи Т.О. Самариной и др. [13] для повышения селективности количественного определения аминогликозидного антибиотика амикацина методом PPC был предложен способ, основанный на ковалентном связывании аналита с водорастворимым полимером с последующим измерением интенсивности рэлеевского рассеяния света. Амидную связь амикацина с сополимером 4-стиролсульфоновой и малеиновой кислот формировали карбодиимидным методом. Были выбраны условия проведения этой реакции для получения максимальной интенсивности рассеяния продукта (время 15 мин, рН 7, ионная сила 0,02, измерение рассеяния при 362 нм).

Общим недостатком описанных физико-химических методов анализа при количественном определении антибиотиков группы аминогликозидов ввиду особенностей их химического строения является необходимость длительной пробоподготовки: проведение реакции дериватизации или различного вида обработки образцов с целью получения комплексных соединений или ассоциатов.

Следующей группой методов, привлекающих большой интерес благодаря экспрессности и экономичности, являются электрохимические методы. Среди них для количественного определения антибиотиков

в фармацевтических препаратах чаще всего используют вольтамперометрию и потенциометрию [2, 8].

Реакцию комплексообразования аминогликозидов с медью (II) в качестве реакции дериватизации предложено использовать в последующем определении антибиотиков методами потенциометрии с ионоселективными электродами и вольтамперометрии на границе раздела двух несмешивающихся растворов электролитов, а также спектрофотометрическим методом. Установлено, что при дериватизации антибиотика медью (II) расширяется диапазон определяемых концентраций по сравнению с немодифицированным антибиотиком, снижается предел обнаружения. Разработаны ионселективные электроды и методики для потенциометрического определения гентамицина и амикацина в наносомальном лекарственном препарате [11].

Встречаются исследования, посвященные разработке ионометрического способа определения гентамицина и канамицина в лекарственных формах с использованием электродов с пластифицированными мембранами на основе ионного ассоциата гентамицина с тетрафенилборатом [7].

Л. Шайдаровой и др. [17] изучено электрохимическое окисление гентамицина на графитовом электроде, модифицированном неорганической пленкой гетеровалентного оксида – цианида рутения, и разработан способ его вольтамперометрического определения в стационарных и проточно-инжекционных условиях.

Разработаны методики количественного определения стрептомицина в лекарственных препаратах (таблетки, порошки для инъекций) методом вольтамперометрии с использованием ртутно-пленочного электрода [15].

Электрохимические методы достаточно просты в исполнении, не требуют дорогостоящего оборудования, однако необратимый характер окисления определяемых соединений и адсорбция продуктов их окисления на поверхности электрода ухудшают метрологические параметры результатов анализа.

**Заключение.** Для количественного определения антибиотиков группы аминогликозидов применяют различные физико-химические методы – спектральные, хроматографические, электрохимические. Однако ведущими мировыми фармакопеями рекомендованы микробиологические методы. В этой связи весьма перспективным является дальнейшее изучение вопроса внедрения турбидиметрического метода анализа, учитывая описанные выше преимущества метода, в отечественную практику стандартизации и контроля качества антибиотиков группы аминогликозидов.

#### Литература

- Арзамасцев, А.П. Фармацевтическая химия / А.П. Арзамасцев [и др.]. – М.: Гэотар-Мед, 2004. – 640 с.
- Бельтюкова, С.В. Методы определения антибиотиков в пищевых продуктах / С.В. Бельтюкова [и др.] // Методы и объекты химического анализа. – 2013. – № 8 (1). – С. 4–13.
- Государственная фармакопея РФ. – XIII изд. – М.: ФЭМБ, 2015. – 3768 с.
- Егоров, Н.С. Основы учения об антибиотиках / Н.С. Егоров – М.: Наука, 2004. – 528 с.
- Информационный бюллетень ВОЗ «10 ведущих причин смерти в мире», январь 2017 г. – 84 с.
- Комарова, Н.В. Практическое руководство по использованию систем капиллярного электрофореза «КАПЕЛЬ» / Н.В. Комарова, Я.С. Каменцев. – СПб.: Веда, 2006. – 212 с.
- Кулапина, Е.И. Ионометрическое определение гентамицина и канамицина в биологических жидкостях и лекарственных формах / Е.И. Кулапина [и др.] // Химико-фармацевтический журнал. – 2004. – № 38 (9). – С. 48–51.
- Кулапина, Е.И. Современные методы определения антибиотиков в биологических и лекарственных средах / Е.И. Кулапина [и др.] // Антибиотики и химиотерапия. – 2009. – № 54. – С. 53–60.
- Кулешова, С.И. Определение активности антибиотиков методом диффузии в агар / С.И. Кулешова // Ведомости НЦЭСМП. – 2015. – № 3. – С. 13–17.
- Морзунова, Т.Г. Капиллярный электрофорез в фармацевтическом анализе / Т.Г. Морзунова // Химико-фармацевтический журнал. – 2006. – № 40 (3). – С. 39–52.
- Петрухин, О.М. Применение комплексообразования аминогликозидных антибиотиков с катионами металлов как реакции дериватизации. Определение гентамицина равновесными электрохимическими и спектрофотометрическими методами / О.М. Петрухин [и др.] // Журн. аналит. хим. – 2009. – № 64 (9). – С. 975–981.
- Рубашева, Л.В. Количественное определение антибиотика тобрамицина с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии / Л.В. Рубашева [и др.] // Антибиотики. – 1983. – № 28 (4). – С. 254–258.
- Самарина, Т.О. Определение амикацина методом рэлеевского рассеяния после ковалентного связывания аналита с водорастворимым полимером Т.О. Самарина [и др.] // Вестн. Моск. ун-та. Сер.2. Химия. – 2015. – № 56 (5). – С. 279–285.
- Фаращук, Н.Ф. Современные, наиболее употребляемые лабораторные методы исследования антибиотиков / Н.Ф. Фаращук [и др.] // Вестн. Смолен. гос. мед. акад. – 2012. – № 4 (11). – С. 58–63.
- Федорчук, В.А. Применение вольтамперометрии для определения антибиотиков стрептомицина и азитромицина / В.А. Федорчук [и др.] // Журнал. аналит. хим. – 2005. – № 60 (6). – С. 586 – 591.
- Хомов, Ю.А. Капиллярный электрофорез как высокоэффективный аналитический метод / Ю.А. Хомов [и др.] // Современные проблемы науки и образования. – 2012. – № 5 – С.134–135.
- Шайдарова, Л.Г. Электрокаталитическое окисление и проточно-инжекционное определение гентамицина на электроде, покрытом пленкой гетеровалентного оксида – цианида рутения / Л.Г. Шайдарова // Ученые записки Казанского государственного университета. – 2007. – 149 (1). – С. 51–59.
- British Pharmacopoeia, 2013. – London, UK: The Stationery Office, 2012. – 5712 p.
- European Pharmacopoeia.8.th.ed. – Council of Europe: Strasbourg, 2013. – 3639 p.
- Fabre, H. Determination of aminoglycosides in pharmaceutical formulations – II. High-performance liquid chromatography / H. Fabre // Journal of Pharmaceutical & Biomedical Analysis. – 1989. – Vol. 7 (12). – P. 1711–1718.
- Flurer, C. Quantitation of gentamicin sulfate in injectable solutions by capillary electrophoresis / C. Flurer [et al.] // Journal of Chromatography A. – 1994. – Vol. 663. – P. 259–263.
- Flurer, C. The analysis of aminoglycoside antibiotics by capillary electrophoresis / C. Flurer // J. Pharm. Biomed. Anal. – 1995. – Vol. 33. – P. 809–816.

23. Gubernator, J. A simply and sensitive fluorometric method for determination of gentamicin in liposomal suspension / J. Gubernator [et al.] // International Journal of Pharmaceutics. – 2006. – Vol. 327. – P. 104–109.
24. Indian Pharmacopoeia. – Ghaziabad: Indian Pharmacopoeia Commission, 2010. – 2829 p.
25. Japanese Pharmacopoeia XVII. – The ministry of health, labour and welfare. 2016. – 2618 p.
26. Lotfipour, F. Study of the Efficacy of Real Time-PCR Method for Amikacin Determination Using Microbial Assay / F. Lotfipour [et al.] // Adv Pharm Bulletin. – 2015. – Vol. 5 (2). – P. 181–188.
27. Lourenço, FR. Comparison of three experimental designs employed in gentamicin microbiological assay through agar diffusion / FR. Lourenço [et al.] // Braz J Pharm Sci. – 2009. – Vol. 45 (3). – P. 559–566.
28. Lourenço, FR. Antibiotic microbial assay using kinetic-reading microplate system / FR Lourenço [et al.] // Braz J Pharm Sci. – 2011. – Vol. 47 (3). – P. 573–584.
29. Megoulas, N. Development and validation of a novel LC/ELSD method for the quantitation of gentamicin sulfate components in pharmaceuticals / N. Megoulas [et al.] // J. Pharm. Biomed. Anal. – 2004. – Vol. 36. – P. 73–79.
30. Omar, M. Development of spectrofluorimetric method for determination of certain aminoglycoside drugs in dosage forms and human plasma through condensation with ninhydrin and phenyl acetaldehyde / M. Omar [et al.] // Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy. – 2014. – Vol. 136. – P. 1760–1766.
31. Omar, M. Validated spectrofluorimetric method for determination of selected aminoglycosides / M. Omar [et al.] // Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy. – 2015. – Vol. 135. – P. 472–478.
32. Rasic Mistic I. Kinetic spectrophotometric determination of Neomycin / I. Mistic Rasic [et al.] // Journal of Analytical Chemistry. – 2015. – Vol. 70 (2). – P. 234–239.
33. Rizk, M. Fluorimetric determination of aminoglycoside antibiotics using lanthanide probe ion spectroscopy / M. Rizk [et al.] // Talanta. – 1995. – Vol. 42. – P. 1849–1856.
34. Sarragucé, M. A near-infrared spectroscopy method to determine aminoglycosides in pharmaceutical formulations / M. Sarragucé [et al.] // Vibrational Spectroscopy. – 2011. – Vol. 56. – P. 184–192.
35. Topolyan, A. Derivatization of Aminoglycoside Antibiotics with Tris (2,6-dimethoxyphenyl) carbenium Ion. / A. Topolyan [et al.] // Acta Naturae. – 2016. – Vol. 8 (3). – P. 30.
36. United States Pharmacopoeia USP 38-NF33. – Rockwill, Maryland, USA. – 2015. – 5089 p.

E.N. Semyonova, E.I. Sakanyan, S.I. Kuleshova

### Comparing the determination methods used in standardization and quality evaluation of antibiotics

**Abstract.** *The importance and relevance of antibiotic drugs are characterized. Data on the number of currently registered antibiotic drugs in the Russian Federation is given. It is noted, that poor quality antibiotics is one of the possible reasons for the development of antibiotic-resistant microorganisms. The standardization and quality evaluation of this group of drugs is an important task of the national health care. Conceptual system is presented, classification of antibiotics is proposed according to the chemical structure, mechanism of action, spectrum and type of action. Pharmacopoeia methods of quantitative determination of antibiotics in drugs and methods proposed by the group of researchers are described briefly. A special attention is drawn to the aminoglycoside antibiotics, as one of the first introduced into medical practice (neomycin, kanamycin, tobramycin, streptomycin, amikacin, etc.). It is noted, that side reactions in case of overdose with aminoglycoside antibiotics cause auto- and nephrotoxicity, neuromuscular blockade and a number of other serious consequences, therefore developing of a quantitative method that meets modern requirements for this group is a topical issue. The perspective of using the turbidimetric method for the quantitative determination of aminoglycoside antibiotics in the national standardization and quality control system for this group of drugs is noticed.*

**Key words:** *antibiotics, aminoglycosides, quantitative determination of antibiotics, quantitative determination of aminoglycosides, quality, drugs, standardization, turbidimetric method.*

Контактный телефон: +7-926-318-67-50; e-mail: SemenovaEN@expmed.ru