

DOI: <https://doi.org/10.60797/IRJ.2024.148.4>

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЭНРОФЛОКСАЦИНА В ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТАХ

Статья с данными

Кравченко А.Л.^{1,*}, Соловьева Е.А.², Кузнецова М.И.³

^{1,2,3}Московская государственная академия ветеринарной медицины и биотехнологии имени им. К.И. Скрябина,
Москва, Российская Федерация

* Корреспондирующий автор (tohj85[at]yandex.ru)

Аннотация

В связи с постоянно развивающимся производством и изобретением новых лекарственных препаратов для ветеринарного применения актуальным является вопрос осуществления контроля качества. Контроль качества лекарственных препаратов в данном случае подразумевает под собой проведение ряда анализов, которые используются для определения показателей качества лекарственного препарата в соответствии со спецификацией на конкретный препарат. На сегодняшний момент ряд методов контроля качества лекарственных препаратов огромен, поэтому главной задачей является выбор оптимального метода согласно Государственной и Европейской фармакопеи для контроля качества форм лекарственных препаратов.

В связи с актуальностью проблемы контроля качества лекарственных препаратов для ветеринарного применения, проводился сравнительный анализ физико-химических и инструментальных методов контроля качества лекарственных препаратов для ветеринарного применения по показателям: подлинность и количественное содержание, в которых действующим веществом является: энрофлоксацин.

Ключевые слова: энрофлоксацин, титриметрический анализ, эффективность, безопасность, подлинность, количественное определение.

QUANTITATIVE DETERMINATION OF ENROFLOXACIN IN PHARMACEUTICAL DRUGS

Data paper

Kravchenko A.L.^{1,*}, Soloveva Y.A.², Kuznetsova M.I.³

^{1,2,3}Moscow State Academy of Veterinary Medicine and Biotechnology named after. K.I. Scriabin, Moscow, Russian Federation

* Corresponding author (tohj85[at]yandex.ru)

Abstract

Due to the constantly developing production and invention of new medicines for veterinary use, the issue of quality control is relevant. In this case, quality control of medicines implies carrying out a number of analyses that are used to determine the quality indicators of a medicinal product in accordance with the specification for a specific drug. At the moment, a number of methods for quality control of medicines is huge, therefore the main task is to choose the optimal method according to the State and European Pharmacopoeia for quality control of forms of medicines.

Due to the urgency of the problem of quality control of medicines for veterinary use, a comparative analysis of physico-chemical and instrumental methods of quality control of medicines for veterinary use was carried out according to the indicators: authenticity and quantitative content, in which the active substance is: enrofloxacin.

Keywords: enrofloxacin, titrimetric analysis, efficacy, safety, authenticity, quantitative determination.

Введение

Ветеринарная медицина – область научных знаний и практической деятельности, направленных на борьбу с болезнями животных, охрану людей от зооантропонозов, выпуск доброкачественных в санитарном отношении продуктов животноводства и решение ветеринарно-санитарных проблем защиты окружающей среды [6].

Антибиотики – это химические соединения биологического происхождения, оказывающие избирательное повреждающее (бактериостатическое) или губительное (бактерицидное) действие на микроорганизмы. Это вещества, продуцируемые микроорганизмами (чаще всего микроскопическими грибами, реже – бактериями) или их синтетические аналоги и производные, способные подавлять жизнедеятельность других микроорганизмов. Существуют антибиотики с антибактериальной, противогрибковой и противоопухолевой активностью [6], [7].

Использование антибиотиков в ветеринарии началось сразу после их открытия. Это объясняется рядом преимуществ, которыми обладают антибиотики по сравнению с другими химиотерапевтическими веществами: антимикробное действие в очень малых количествах; широкий спектр противомикробного действия, что особенно важно при использовании антибиотиков в борьбе с инфекциями, вызванными несколькими возбудителями; сравнительно малая токсичность [7], [8], [9].

Объекты и методы исследования

Энрофлоксацин (1-Циклопропил-7(4-этилпиперазин-1-ил)-6-фтор-4-оксо-1,4-дигидрохинолин-3-карбоновая кислота) – антибактериальный лекарственный препарат группы фторхинолов. Бледно-желтый или светло-желтый кристаллический порошок. Нерастворим в воде, легко растворим в метаноле. Молекулярная масса = 359,4 г/моль.

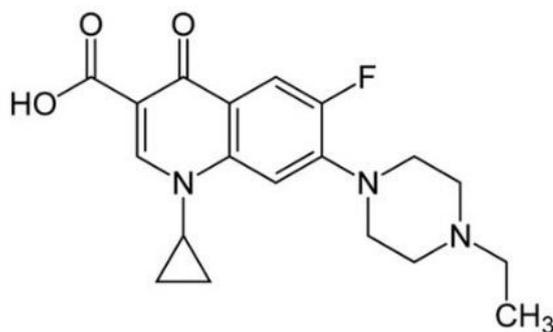
Химическая формула: C₁₉H₂₂FN₃O₃.

Рисунок 1 - Структурная формула энрофлоксацина

DOI: <https://doi.org/10.60797/IRJ.2024.148.4.1>

Энрофлоксацин, входящий в состав лекарственного препарата, производное хинолокарбокислоты, относится к фторхинолонам 3-го поколения, обладает широким спектром антибактериального действия в отношении большинства грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов [2], [10].

Он подавляет бактериальную ДНК, нарушает синтез ДНК, рост и деление бактерий; вызывает выраженные морфологические изменения (в том числе в клеточной стенке и мембранах), что приводит к быстрой гибели бактериальной клетки. Действует бактерицидно на грамотрицательные микроорганизмы в период покоя и деления, на грамположительные микроорганизмы – в период деления [1], [3].

При внутримышечном введении энрофлоксацин быстро всасывается в кровь и проникает во все органы и ткани, достигая максимальной концентрации через 0,5-1 часа после введения. Терапевтическая концентрация энрофлоксацина сохраняется в организме после однократной инъекции в течение 24 часов. Выводится энрофлоксацин из организма в основном в неизменном виде и частично в виде метаболита-ципрофлоксацина, преимущественно с мочой, у лактирующих животных также с молоком [6], [10].

Эффективность энрофлоксацина прямо пропорциональна его концентрации, чувствительная бактериальная клетка погибает через 20-30 минут после начала его действия. Этот антибиотик продемонстрировал, что даже после окончания курса лечения микробная клетка подавляется как в стационарной фазе, так и в состоянии репликации [4], [9].

При оральном применении энрофлоксацин хорошо абсорбируется, биодоступность достигается порядка 80%, пик концентрации наблюдается примерно через 1 час после введения. Антибиотик разносится по всему организму, с белками плазмы связывается лишь 27% лекарственного вещества. Большие концентрации проникают в ткани гепатобиллиарной и репродуктивной систем, почки и легкие; терапевтические дозы – в кости, синовию, мышцы, кожу и плевральную жидкость. Небольшие концентрации проникают в центральную нервную систему [2], [3].

Дозировка энрофлоксацина в ветеринарном применении представлена в таблице 1.

Таблица 1 - Дозировка энрофлоксацина

DOI: <https://doi.org/10.60797/IRJ.2024.148.4.2>

Вид животного	Доза препарата, мл /10 кг массы животного	
	Энрофлоксацин 5% раствор для инъекций	Энрофлоксацин 10% раствор для инъекций
Крупный рогатый скот	1	0,5
Овцы, козы	1	0,5
Свиньи	1	0,5
Собаки, кошки	1	-

К методам определения энрофлоксацина в лекарственных препаратах выделяют: высокоэффективную жидкостную хроматографию, спектофотометрический метод (УФ-спектрофотометрия, ИК-спектрометрия), метод капиллярного электрофореза, титриметрический метод и метод визуального контроля [1], [3], [4], [5].

Результаты исследований

В ходе проведенных исследований мы определили количественное содержание действующего вещества в лекарственном препарате при помощи различных методов. В ходе исследований мы брали лекарственные препараты с действующим веществом энрофлоксацин и установили подлинность действующего вещества путем проведения количественного определения содержания вещества в препаратах. Для этого применяли различные физико-химические и инструментальные методы анализа (УФ-спектрофотометрия, титриметрия). Полученные результаты сравнили с нормами, заявленными производителем в спецификации к препарату [6], [7].

Для количественного определения содержания и подлинности энрофлоксацина в лекарственных препаратах были взяты препараты: Энрофлон 10%, Энроксил 150 мг таблетки, Байтрил 5%.

Результаты исследований представлены в таблице 2.

Таблица 2 - Результаты исследований

DOI: <https://doi.org/10.60797/IRJ.2024.148.4.3>

Препарат	Метод контроля	Показатель энрофлоксацина в образце
	Количественное определение	
Энрофлон 10%	УФ-спектроскопия	1 проба: $m_n = 1,000$ г $D = 0,4043$ $DВ = 0,090$ г/см ³ 2 проба: $m_n = 1,0002$ г $D = 0,4039$ $DВ = 0,090$ г/см ³ $DВ$ ср = 0,090 г/см³
	Титриметрия	1 проба: $m_n = 0,2501$ г $V = 0,65$ мл $DВ = 0,093$ г/см ³ 2 проба: $m_n = 0,2503$ г $V = 0,64$ мл $DВ = 0,092$ г/см ³ $DВ$ ср = 0,093 г/см³
	Подлинность	
	Качественная реакция	Препарат дает положительную реакцию на окрашивание
	УФ-спектрофотометрия	Максимумы спектра препарата соответствуют нормативам
Энроксил 150 мг таблетки	Количественное определение	
	УФ-спектроскопия	1 проба: $m_n = 1,0201$ г $D = 0,7903$ $DВ = 0,150$ г/см ³ 2 проба: $m_n = 1,0520$ г $D = 0,8001$ $DВ = 0,150$ г/см ³ $DВ$ ср = 0,150 г/см³
	Титриметрия	1 проба: $m_n = 0,2500$ г $V = 1,10$ мл $DВ = 0,158$ г/см ³ 2 проба: $m_n = 0,2450$ г $V = 1,00$ мл $DВ = 0,146$ г/см ³ $DВ$ ср = 0,152 г/см³
	Подлинность	
	Качественная реакция	Препарат дает положительную реакцию на окрашивание
УФ-спектрофотометрия	Максимумы спектра препарата соответствуют нормативам	
Байтрил 5%	Количественное определение	
	УФ-спектроскопия	1 проба: $m_n = 1,0061$ г $D = 0,2409$ $DВ = 0,052$ г/см ³ 2 проба: $m_n = 1,0001$ г

		$D = 0,2412$ $DВ = 0,053 \text{ г/см}^3$ $DВ \text{ ср} = 0,053 \text{ г/см}^3$
	Титриметрия	1 проба: $m_n = 0,2505 \text{ г}$ $V = 0,40 \text{ мл}$ $DВ = 0,057 \text{ г/см}^3$ 2 проба: $m_n = 0,2503 \text{ г}$ $V = 0,39 \text{ мл}$ $DВ = 0,056 \text{ г/см}^3$ $DВ \text{ ср} = 0,057 \text{ г/см}^3$
	Подлинность	
	Качественная реакция	Препарат дает положительную реакцию на окрашивание
	УФ-спектрофотометрия	Максимумы спектра препарата соответствуют нормативам

По результатам полученных данных можно сделать следующие выводы: оба метода подходят для количественного определения энрофлоксацина в лекарственных препаратах. При проведении титрования больше вероятность погрешности, так как объем титранта уходит в пределах не больше 1. Для наименьшей вероятности погрешности и более точной результативности на практике применяют метод спектрофотометрического определения энрофлоксацина в препарате.

Для того чтобы проверить подлинность энрофлоксацина, применялись методы качественной реакции и УФ-спектрофотометрии. В результате были получены следующие данные:

а) качественная реакция;

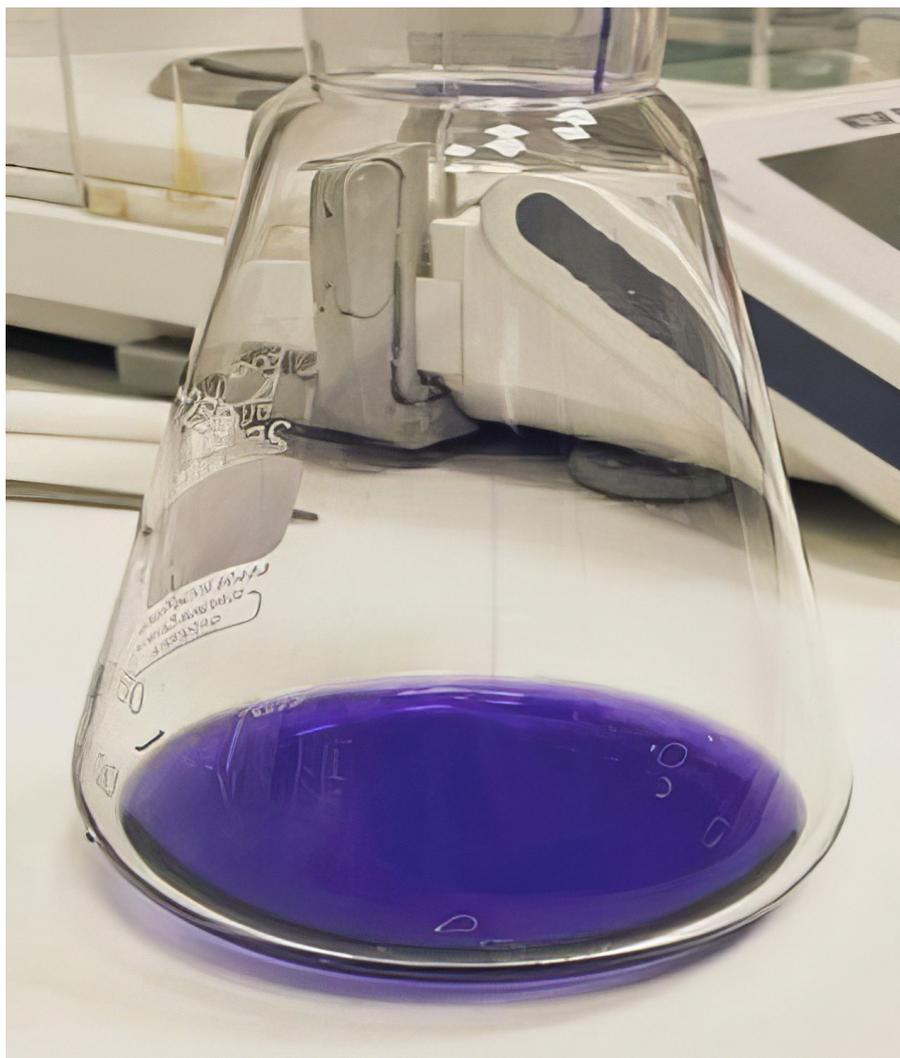


Рисунок 2 - Качественная реакция на энрофлоксацин
 DOI: <https://doi.org/10.60797/IRJ.2024.148.4.4>

б) УФ-спектрофотометрия;

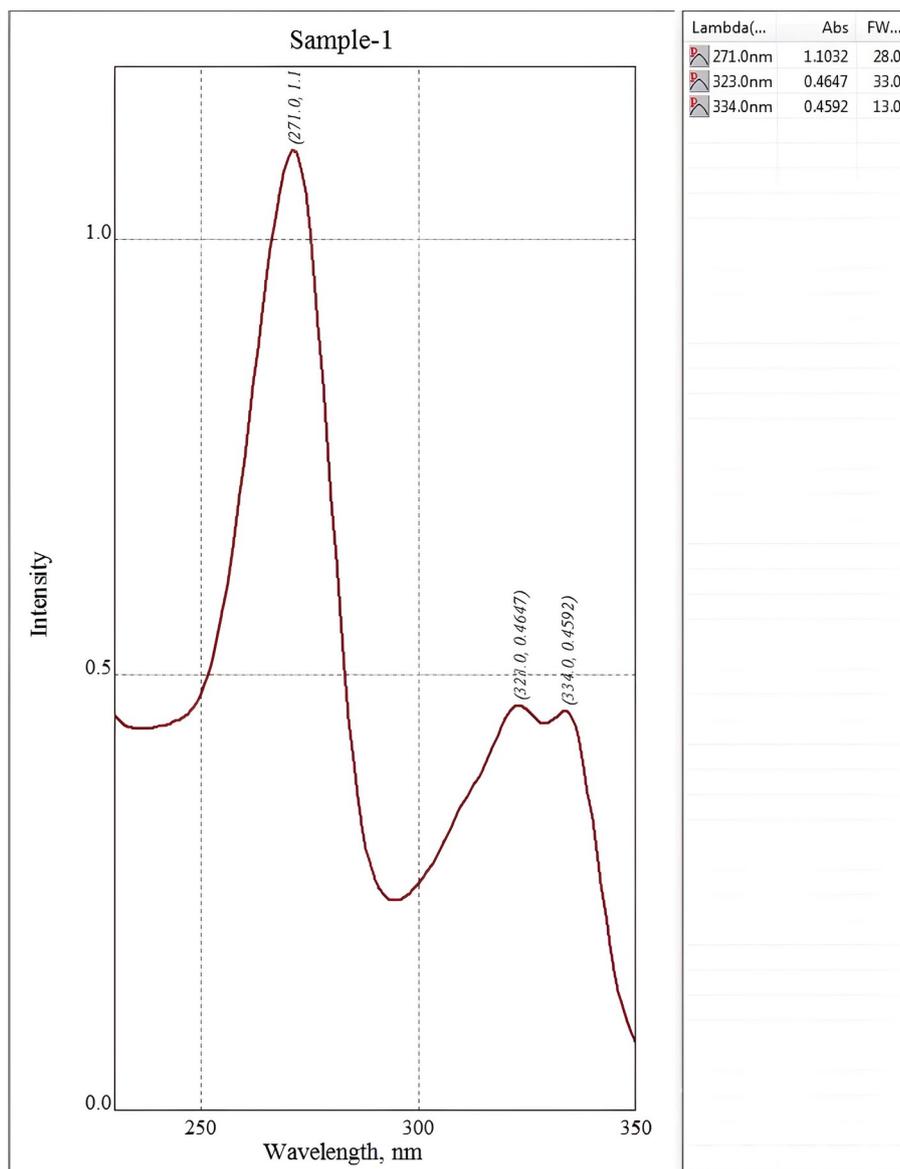


Рисунок 3 - Спектр энрофлоксацина
DOI: <https://doi.org/10.60797/IRJ.2024.148.4.5>

Результаты метрологической характеристики по энрофлоксацину представлены в таблице 3.

Таблица 3 - Метрологическая характеристика результатов количественного определения содержания энрофлоксацина в лекарственных препаратах

DOI: <https://doi.org/10.60797/IRJ.2024.148.4.6>

Наименование лекарственных препаратов	Среднее арифметическое значение		Сходимость между параллельными (единичными) измерениями, %		Сравнительная оценка методов, %
	УФ-спектроскопия	Титриметрия	УФ-спектроскопия	Титриметрия	
Энрофлоксацин 10%	0,090	0,093	0,001	0,01	0,03
Энроксил 150 мг таблетки	0,150	0,152	0,02	0,02	0,01
Байтрил 5 %	0,053	0,057	0,001	0,07	0,07

По результатам полученных данных можно сделать выводы:

- количественное определение энрофлоксацина в исследуемых препаратах можно проводить различными методами, которые были рассмотрены в нашем опыте;
- оптимальным методом для проведения количественного определения энрофлоксацина в препарате является метод УФ-спектрофотометрии, так как является менее затратным методом в использовании реактивов и по времени проведения испытания;
- полученное количество действующего вещества в исследуемых образцах соответствует нормам, установленным производителями по спецификации.

Заключение

Экспериментальные данные количественного содержания действующего вещества в лекарственных препаратах показали, что полученное количество действующего вещества в исследуемых образцах соответствует нормам, установленным производителями по спецификации, а это значит, что производители исследуемых образцов, ответственно подходят к производству и поддерживают качество лекарственных препаратов на высоком уровне. Также в ходе исследования было установлено, что подобранные условия и методики эксперимента применимы не ко всем препаратам, т.к. в состав могут входить компоненты, мешающие проведению анализа.

Проведена сравнительная характеристика методов контроля для оценки качества лекарственных препаратов, вследствие чего на основе полученных экспериментальных данных подобраны оптимальные условия и методы для определения таких показателей, как «Подлинность» и «Количественное содержание» энрофлоксацина.

Конфликт интересов

Не указан.

Рецензия

Все статьи проходят рецензирование. Но рецензент или автор статьи предпочли не публиковать рецензию к этой статье в открытом доступе. Рецензия может быть предоставлена компетентным органам по запросу.

Conflict of Interest

None declared.

Review

All articles are peer-reviewed. But the reviewer or the author of the article chose not to publish a review of this article in the public domain. The review can be provided to the competent authorities upon request.

Список литературы / References

1. Головнев Н. Н. Синтез и свойства соединений энрофлоксацина / Н. Н. Головнев, С. Д. Кирик, Д. О. Крницын // *Journal of Siberian Federal University. Chemistry*. — 2011. — № 4. — С. 73–82.
2. Донник И. М. Использование энрофлоксацина ацетата в комплексном антибактериальном препарате Колихинол / И. М. Донник, И. А. Шкуратова, Н. М. Стариков // *Ветеринария Кубани*. — 2013. — № 5. — С. 27–28.
3. Клец О. П. К-48 Антибиотики : учебное пособие для студентов всех факультетов / О. П. Клец, Л. Н. Минакина. — Иркутск : ГБОУ ВПО ИГМУ Минздрав России, 2013. — 72 с.
4. Лыско С. Б. Резистентность к энрофлоксацину и возможность ее преодоления / С. Б. Лыско, Л. М. Кашковская, М. И. Сафарова // *Птицеводство*. — 2016. — № 10. — С. 37–40.
5. Якупова З. Р. Микроэкстракционное выделение энрофлоксацина для последующего определения в лекарственных препаратах методом ВЭЖХ / З. Р. Якупова, С. Ю. Гармонов, К. С. Вах [и др.] // *Вопросы обеспечения качества лекарственных средств*. — 2022. — № 4(38). — С. 4–14. DOI: 10.34907/JPQA1.2022.18.98.001.
6. Щука Л. Некоторые аспекты исследований эффективности ветеринарных препаратов / Л. Щука, Е. Кужнер, Ш. Миклич // *Российский ветеринарный журнал: сельскохозяйственные животные*. — 2015. — № 1. — С. 36–38.
7. Al-Ghannam S. M. Atomic absorption spectroscopic, conductometric and colorimetric methods for determination of some fluoroquinolone antibacterials using ammonium reineckate / S. M. Al-Ghannam [et al.] // *Spectrochim. Acta, Part A. Mol. Biomol. Spectrosc.* — 2008. — Vol. 69. — № 4. — P. 1188–1194.
8. Awadallah B. Quantitation of the enantiomers of ofloxacin by capillary electrophoresis in the parts per billion concentration range for in vitro drug absorption studies / B. Awadallah, P. C. Schmidt, M. A. Wahl // *J. Chromatogr. A*. — 2003. — Vol. 988. — № 1. — P. 135–143.
9. Reboucas C. T. Enrofloxacin by Fourier-Transform Infrared Spectroscopy / C. T. Reboucas, A. C. Kogawa, H. R. N. Salgado // *J AOAC Int.* — 2018. — Vol. 101. — № 6. — P. 2001–2005. DOI: 10.5740/jaoacint.17-0431.
10. *European Pharmacopoeia 8.0* // European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare (EDQM). — Strasbourg : Council of Europe, 2014.

Список литературы на английском языке / References in English

1. Golovnev N. N. Sintez i svoystva soedineniy enrofloksatsina [Synthesis and properties of enrofloxacin compounds] / N. N. Golovnev, S. D. Kirik, D. O. Krnitsyn // *Journal of Siberian Federal University. Chemistry*. — 2011. — № 4. — P. 73–82. [in Russian]
2. Dunnik I. M. Ispolzovanie enrofloksatsina atsetata v kompleksnom antibakterialnom preparate Kolikhinol [Use of enrofloxacin acetate in the complex antibacterial drug Kolikhinol] / I. M. Dunnik, I. A. Shkuratova, N. M. Starikov // *Veterinariya Kubani* [Veterinary Science of Kuban]. — 2013. — № 5. — P. 27–28. [in Russian]
3. Klets O. P. K-48 Antibiotiki [K-48 Antibiotics] : textbook for students of all faculties / O. P. Klets, L. N. Minakina. — Irkutsk : State Budgetary Educational Institution of Higher Professional Education IPO ISMU Ministry of Health of Russia, 2013. — 72 p. [in Russian]

4. Lysko S. B. Rezistentnost' k enrofloksatsinu i vozmozhnost' ee preodoleniya [Resistance to enrofloxacin and the possibility of overcoming it] / S. B. Lysko, L. M. Kashkovskaya, M. I. Safarova // Ptitsevodstvo [Poultry Farming]. — 2016. — № 10. — P. 37–40. [in Russian]
5. Yakupova Z. R. Mikroekstraktsionnoe vydelenie enrofloksatsina dlya posleduyushchego opredeleniya v lekarstvennykh preparatakh metodom VEZHKh [Microextraction of enrofloxacin for subsequent determination in pharmaceuticals by HPLC] / Z. R. Yakupova, S. Yu. Garmonov, K. S. Vakh [et al.] // Voprosy obespecheniya kachestva lekarstvennykh sredstv [Issues of Drug Quality Assurance]. — 2022. — № 4(38). — P. 4–14. DOI: 10.34907/JPQAI.2022.18.98.001. [in Russian]
6. Shchuka L. Nekotorye aspekty issledovaniy effektivnosti veterinarnykh preparatov [Some aspects of veterinary drug efficacy research] / L. Shchuka, E. Kuzhner, Sh. Miklich // Rossiyskiy veterinarnyy zhurnal: selskokhozyaystvennye zhivotnye [Russian Veterinary Journal: Agricultural Animals]. — 2015. — № 1. — P. 36–38. [in Russian]
7. Al-Ghannam S. M. Atomic absorption spectroscopic, conductometric and colorimetric methods for determination of some fluoroquinolone antibacterials using ammonium reineckate / S. M. Al-Ghannam [et al.] // Spectrochim. Acta, Part A. Mol. Biomol. Spectrosc. — 2008. — Vol. 69. — № 4. — P. 1188–1194.
8. Awadallah B. Quantitation of the enantiomers of ofloxacin by capillary electrophoresis in the parts per billion concentration range for in vitro drug absorption studies / B. Awadallah, P. C. Schmidt, M. A. Wahl // J. Chromatogr. A. — 2003. — Vol. 988. — № 1. — P. 135–143.
9. Reboucas C. T. Enrofloxacin by Fourier-Transform Infrared Spectroscopy / C. T. Reboucas, A. C. Kogawa, H. R. N. Salgado // JAOAC Int. — 2018. — Vol. 101. — № 6. — P. 2001–2005. DOI: 10.5740/jaoacint.17-0431.
10. European Pharmacopoeia 8.0 // European Directorate for the Quality of Medicines & HealthCare (EDQM). — Strasbourg : Council of Europe, 2014.