



ХИМИЯ

Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2023. Т. 23, вып. 3. С. 252–261

Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology, 2023, vol. 23, iss. 3, pp. 252–261

<https://ichbe.sgu.ru>

<https://doi.org/10.18500/1816-9775-2023-23-3-252-261>

EDN: ZPAUBY

Научная статья

УДК 543.068.8:543.426:543.062:577.182.99

Использование смартфона в твердофазно-флуориметрическом определении некоторых полипептидных антибиотиков в лекарственных препаратах

Д. С. Большаков¹✉, З. А. Ч. Шаока², В. Г. Амелин^{2,3}

¹АО «ГЕНЕРИУМ», Россия, 601125, Владимирская обл., Петушинский район, пос. Вольгинский, ул. Владимирская, д. 14

²Владимирский государственный университет имени Александра Григорьевича и Николая Григорьевича Столетовых (ВлГУ), Россия, 600000, г. Владимир, ул. Горького, д. 87

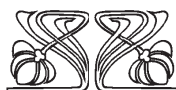
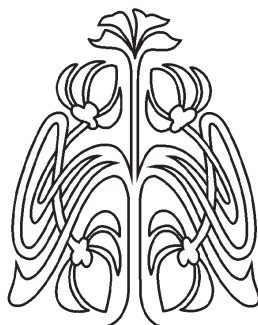
³ФГБУ «Всероссийский государственный центр качества и стандартизации лекарственных средств для животных и кормов», Россия, 123022, г. Москва, Звенигородское шоссе, д. 5

Большаков Дмитрий Сергеевич, кандидат химических наук, научный сотрудник лаборатории физико-химических методов, bolshakovina@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9233-1349>

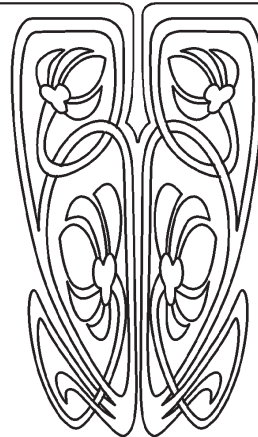
Шаока Зин Алабдин Чалави, аспирант кафедры химии Института биологии и экологии, zeanalaabideen4@gmail.com

Амелин Василий Григорьевич, доктор химических наук, профессор, ²профессор кафедры химии Института биологии и экологии, ³главный научный сотрудник Отделения фармакологических лекарственных средств, безопасности пищевой продукции и кормов, amelinvg@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7477-7398>

Аннотация. Анализ полупродуктов на разных этапах производства и готовой лекарственной продукции является неотъемлемой составляющей эффективной системы обеспечения качества фармацевтического производства. Традиционные методы, используемые в фармацевтической области, такие как капиллярный электрофорез, газовая и жидкостная хроматография, довольно универсальны и эффективны. Однако их отличает высокая стоимость аппаратного оформления, комплектующих материалов, необходимость использования высокочистых растворителей, отсутствие мобильности и возможности исследований *in situ*. Подобные недостатки можно преодолеть при использовании метода цифровой цветометрии. Ее значительной популяризации способствовало развитие портативных и персональных электронных устройств, среди которых можно выделить смартфон. Цель работы заключалась в разработке быстрого и простого способа определения ряда полипептидных антибиотиков в лекарственных препаратах методом цифровой цветометрии с использованием смартфона в качестве цветорегистрирующего устройства. Для реализации подхода твердофазно-флуориметрического определения полипептидных антибиотиков в качестве матрицы использовали пластины ВЭТСХ на основе силикагеля с алюминиевой подложкой. В данных условиях наблюдали флуоресценцию актиномицина D, виргиниамицина M1, виргиниамицина S1 и новобиоцина при воздействии монохроматического излучения в УФ части спектра (365 нм). Измерение интенсивности флуоресценции на поверхности матриц осуществляли с помощью смартфона. Построены градуировочные характеристики для определения полипептидных антибиотиков в диапазоне концентраций 32–500 мкг/мл. Способ оценки качества готовых лекарственных препаратов априори



НАУЧНЫЙ
ОТДЕЛ





рован на коммерческих продуктах «Пиостацин», «Космеген», «Дактиномицин», приобретенных в розничных сетях. Относительное стандартное отклонение результатов анализа не превышает 0.05. Продолжительность анализа составила 10–15 мин. Представлен способ определения некоторых антибиотиков полипептидного ряда по собственной флуоресценции нанесенных растворов на твердую подложку при обработке монохроматическим излучением УФ диапазона. Используемые условия постановки эксперимента позволяют осуществлять анализ лекарственных препаратов на основе актиномицина D, виргиниамицина M1, виргиниамицина S1 и новобиоцина.

Ключевые слова: полипептидные антибиотики, цифровая цветометрия, твердофазная флуориметрия, смартфон, лекарственные препараты

Для цитирования: Большаков Д. С., Шаока З. А. Ч., Амелин В. Г. Использование смартфона в твердофазно-флуориметрическом определении некоторых полипептидных антибиотиков в лекарственных препаратах // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология. 2023. Т. 23, вып. 3. С. 252–261. <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2023-23-3-252-261>, EDN: ZPAUBY

Статья опубликована на условиях лицензии Creative Commons Attribution 4.0 International (CC-BY 4.0)

Article

Smartphone use in solid-phase fluorimetric determination of some polypeptide antibiotics in medicinal preparations

D. S. Bolshakov¹✉, Z. A. Ch. Shogah², V. G. Amelin^{2,3}

¹GENERIUM, 14 Vladimirskaia St., pos. Volginsky, Petushinsky district, Vladimir region 601125, Russia

²Vladimir State University named after Alexander and Nikolay Stoletovs, 87 Gor'kogo St., Vladimir 600000, Russia

³The Russian State Center for Animal Feed and Drug Standardization and Quality, 5 Zvenigorodskoye shosse, Moscow 123022, Russia

Dmitry S. Bolshakov, bolshakovina@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-9233-1349>

Zen Alabden Chalawi Shogah, zeanalaabideen4@gmail.com

Vasily G. Amelin, amelinvg@mail.ru, <https://orcid.org/0000-0001-7477-7398>

Abstract. The analysis of semi-products at different stages of production and finished medicinal products is an integral part of an effective quality assurance system for pharmaceutical production. The traditional methods used in the pharmaceutical field, such as capillary electrophoresis, gas and liquid chromatography, are quite versatile and effective. However, they are distinguished by the high cost of instrumentation and component materials, the need to use high-purity solvents, the lack of mobility and the possibility of in situ studies. Such shortcomings can be overcome by using the digital colorimetry method. Its significant popularization has been facilitated by the development of portable and personal electronic devices, among which the smartphone can be distinguished. The aim of the work was to develop a fast and simple method for the determination of a number of polypeptide antibiotics in drugs by digital colorimetry using a smartphone as a color recording device. To implement the solid phase fluorimetric determination of polypeptide antibiotics, HPTLC plates based on silica gel with an aluminum substrate were used as a matrix. Under these conditions, the fluorescence of actinomycin D, virginiamycin M1, virginiamycin S1, and novobiocin was observed when exposed to monochromatic radiation in the UV part of the spectrum (365 nm). The measurement of fluorescence intensity on the surface of the matrices was carried out using a smartphone. Calibration characteristics were constructed for the determination of polypeptide antibiotics in the concentration range of 32–500 µg/mL. The method for assessing the quality of finished drugs was tested on commercial products “Piostacin”, “Cosmegen”, “Dactinomycin” purchased in retail chains. The relative standard deviation of the analysis results does not exceed 0.05. The duration of the analysis was 10–15 min. Based on the results of the studies, the paper presents a method for determining some antibiotics of the polypeptide series by the intrinsic fluorescence of deposited solutions on a solid substrate during treatment with monochromatic UV radiation. The experimental delivery conditions used allow the analysis of drugs based on actinomycin D, virginiamycin M1, virginiamycin S1, and novobiocin.

Keywords: polypeptide antibiotics, digital colorimetry, solid phase fluorimetry, smartphone, drugs

For citation: Bolshakov D. S., Shogah Z. A. Ch., Amelin V. G. Smartphone use in solid-phase fluorimetric determination of some polypeptide antibiotics in medicinal preparations. *Izvestiya of Saratov University. Chemistry. Biology. Ecology*, 2023, vol. 23, iss. 3, pp. 252–261 (in Russian). <https://doi.org/10.18500/1816-9775-2023-23-3-252-261>, EDN: ZPAUBY

This is an open access article distributed under the terms of Creative Commons Attribution 4.0 International License (CC-BY 4.0)

Введение

Актуальной проблемой XXI в. является развитие множественной лекарственной устойчивости организма человека, животных и большинства вредоносных агентов (бактерий, крупных вирусов) к различным лекарственным средствам (ЛС). Главным образом, это обусловлено систематическим и неконтролируемым применением лекарственных препаратов (ЛП) в домашнем и народном хозяйстве, животноводстве и пищевой промыш-

ленности при производстве продуктов питания и напитков (например, бутилированной воды).

Наличие остаточных количеств антимикробных веществ в объектах окружающей среды, продукции животного и растительного происхождения приводит к развитию антибиотикорезистентности. Вследствие чего ЛС перестают оказывать должный эффект в терапевтических дозах, вплоть до критических и более высоких концентраций.



Для решения данной проблемы наиболее результативным является комплекс мероприятий, включающий три направления: 1) мониторинговые исследования остаточных количеств антимикробных веществ в воде, почве и продуктах питания; 2) контроль за применением ЛП антимикробного действия в медицине и домашнем хозяйстве; 3) поиск и разработка новых ЛС, использование которых следует значительно ограничить для сохранения их эффективности (так называемые лекарства последнего резерва).

В рамках третьего направления в настоящее время используют антибиотики поли-

пептидного ряда (ПП). Полипептидные антибиотики – химически разнообразная группа противомикробных препаратов с широким спектром действия против многих грамотрицательных и грамположительных бактерий. Представителями семейства ПП являются бацитрацин, колистин А, колистин В, полимиксин В1, полимиксин В2, виргиниамицин S1, виргиниамицин M1, актиномицин D и новобиоцин. Эти соединения с большой молекулярной массой имеют общую структуру гептапептидного кольца с полипептидной боковой цепью (рис. 1).

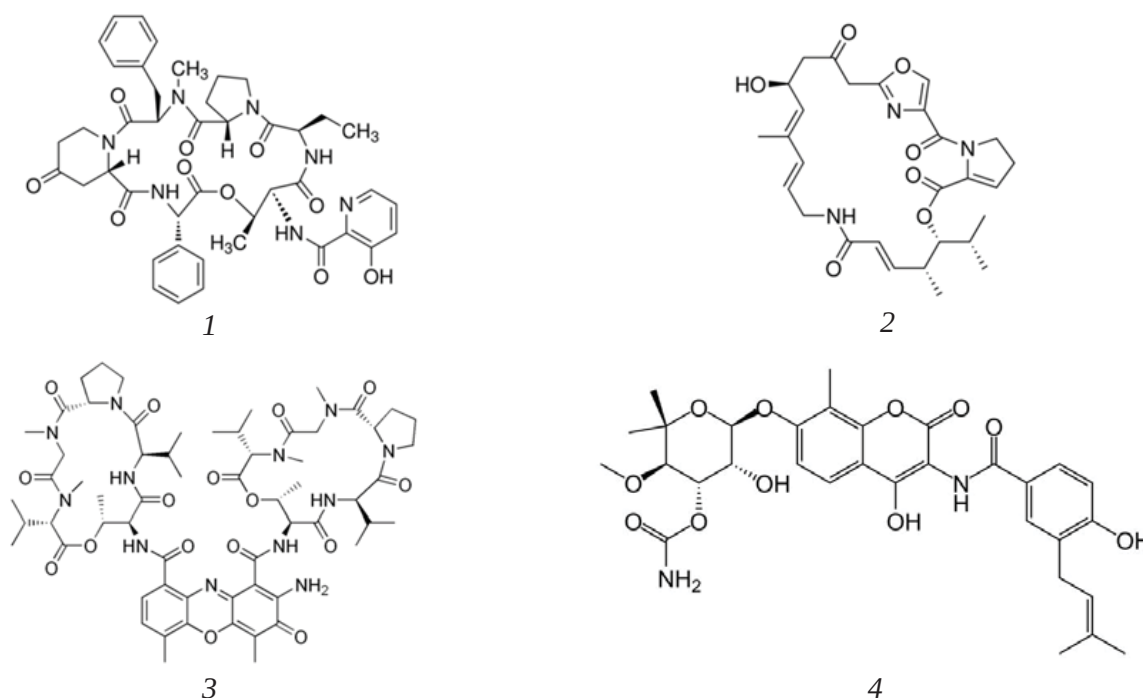


Рис. 1. Структурные формулы виргиниамицина S1 (1), виргиниамицина M1 (2), актиномицина D (дактиномицина) (3), новобиоцина (4)

Fig. 1. Structural formulas of virginiamycin S1 (1), virginiamycin M1 (2), actinomycin D (dactinomycin) (3), novobiocin (4)

Бацитрацин продуцируется *Bacillus licheniformis* и *Bacillus subtilis* и представляет собой смесь нескольких близкородственных полипептидов, в основном состоящих из бацитрацина А (более 50%) и в меньшей степени бацитрацина В1, В2, С и F. Колистин (также известный как полимиксин Е) является важным представителем группы полимиксинов (катионных пептидных антибиотиков) и продуцируется культурами *Bacillus polymyxa* var. *colistinus*. В коммерчески доступном колистине обнаружено не менее тридцати различных соединений. Основными компонентами выступа-

ют колистин А (полимиксин Е1) и колистин В (полимиксин Е2), которые отличаются одним атомом углерода в жирной ацильной части и составляют более 85% от общего количества колистинов, используемых в фармацевтических продуктах. Полимиксин В также является производным *Bacillus polymyxa* и представляет собой смесь более тридцати полипептидов. Полимиксины В1 и В2, которые отличаются одним атомом углерода в жирной ацильной части, являются двумя основными компонентами, на которые приходится более 75% смеси полипептидов.



В отсутствие необходимых контрольных процедур оценки качества исходного сырья и готовой продукции [1] испытательные лаборатории вынуждены пользоваться общими фармакопейными статьями [2] или разрабатывать собственную нормативно-техническую базу [3].

Для идентификации и определения количественного содержания антибиотиков полипептидного ряда в научной литературе предложены подходы, основанные на принципах спектрофотометрии [4–6], высокоэффективной жидкостной хроматографии (**ВЭЖХ**) с масс-спектрометрическим [7–9], УФ- [10, 11] и флуориметрическим [12] детектированием.

Наиболее традиционным и относительно простым в реализации является спектрофотометрический метод, с использованием которого разработан быстрый способ идентификации и определения бацитрацина после реакции конденсации с дабсилхлоридом [4]. В рамках процедуры оптимизации спектрофотометрического определения действующего вещества ЛП выбраны условия проведения реакции дериватизации (время, температурный режим, молярное соотношение исходных веществ) и длины волны максимума поглощения продукта взаимодействия ($\lambda = 474$ нм). Изучена его стабильность в растворе, которая не превышала 2 ч. Диапазон линейности составил $2 \times 10^{-6} - 2 \times 10^{-5}$ моль/л.

Разработан и апробирован способ одновременного определения ципрофлоксацина, колистина и ивакафтора в плазме крыс, лизате эпителиальных клеток человека, среде для культивирования клеток и транспортной среде для ЛС методом ВЭЖХ с тандемным масс-спектрометрическим детектированием [9]. При подготовке пробы аликвоту крысиной плазмы или среды для культивирования клеток объемом 200 мкл обрабатывали 600 мкл экстракционного раствора (ацетонитрил, содержащий 0,1% муравьиной кислоты и 0,2% трифторуксусной кислоты (ТФУ)). Добавление 0,2% ТФУ способствовало разрушению комплекса ЛС–белок. После интенсивного перемешивания и центрифугирования подготовленные пробы подвергали хроматографическому анализу при регистрации масс-спектрометрического сигнала в режиме мониторинга множественных реакций (MRM). В качестве внутреннего стандарта использовали полимиксин В1 и В2. Время анализа одного

образца составляло 6 минут, что обеспечивает высокую экспрессность данного подхода. Градуировочные зависимости линейны в диапазоне концентраций 0,029–5,82 мкг/мл для колистина А, 0,016–3,14 мкг/мл для колистина В, 0,05–10,0 мкг/мл для ивакафтора и 0,043–8,58 мкг/мл для ципрофлоксацина.

Представлена быстрая и простая методика качественного и количественного анализа ряда антибиотиков-гликопептидов (эремомидина, ванкомицина, тейкопланина А2, ристомидина А) и грамицидина S с применением метода обращенно-фазовой ВЭЖХ при детектировании в УФ области спектра и градиентном режиме элюирования [10]. ОФ ВЭЖХ-анализ антибиотиков проводили на микроколоночном жидкостном хроматографе Милихром А-02 с колонкой из нержавеющей стали 2×75 мм, заполненными сорбентом Nucleosil 100-5C18 РАН. В качестве подвижной фазы использовали систему элюентов, включающую 0,1%-ный раствор ТФУ в дистиллированной воде (элюент А) и 0,1%-ный раствор ТФУ в ацетонитриле (элюент В). Хроматографическое разделение проводили при температуре 35°C. Нижняя граница диапазона определяемых содержаний (**ДОС**) составила 0,1 мкг антибиотика в пробе. В работе представлены результаты исследования антибактериальных веществ в неочищенных препаратах (сырцах).

Существенно повысить чувствительность определения удастся при использовании флуориметрического детектирования при ВЭЖХ-разделении полипептидного антибиотика цинкбацитрацина (смеси мажорных и минорных компонентов) после реакции дериватизации с *o*-фталевым альдегидом в присутствии нуклеофильного агента 2-меркаптоэтанола [12]. Оптимальные результаты хроматографирования получены при использовании колонки ReprosilODS-AC18 (250×4 мм) с подвижной фазой, представляющей собой смесь ацетонитрил-метанол (1:3, об.) – водный раствор KH_2PO_4 (0,05 М рН 6,0) (60 : 40, об.).

Определение терапевтических количеств полипептидных антибиотиков в кормах для животных проводят методами мицеллярной электрокинетической хроматографии (**МЭКХ**) [13] и ВЭЖХ с тандемным масс-спектрометрическим детектированием при электрораспылительной ионизации [14].



Разработан способ оценки содержания цинкбацитрацина, полимиксина В, окситетрациклина и сульфатамида в кормах для животных методом МЭКХ [13]. Ведущий электролит представлял собой смесь, состоящую из 20 мМ боратного и 20 мМ фосфатного буферных растворов (рН 8,4), 20 мМ додецилсульфата натрия и 10 об.% метанола. Электрофоретическое разделение проводили при 25°C, приложенном напряжении 25 кВ и рабочем давлении 10 мбар. Одновременное детектирование всех аналитов проводили при длине волны УФ излучения $\lambda=215$ нм. Данный способ апробирован при определении антибактериальных веществ в кормовых добавках и кормах для животных.

Описанные в литературе подходы отличаются значительной ресурсоемкостью, их реализация требует наличия дорогостоящего оборудования, расходных материалов, высокочистых реагентов и обученного персонала. В качестве альтернативы традиционным инструментальным методам следует рассматривать метод цифровой цветометрии, который активно развивается в качестве экспресс-методологии, не уступающей по точности классическим приемам [15–19].

Научная новизна заключалась в изучении возможности контроля качества готовых лекарственных препаратов на основе полипептидных антибактериальных веществ, нанесенных на твердый инертный носитель (пластины для ВЭТСХ), по собственной флуоресценции под действием монохроматического излучения длиной волны 365 нм посредством метода цифровой в рамках аддитивной цветометрической системы RGB с привлечением специализированного программного обеспечения и смартфона в качестве инструмента регистрации аналитических характеристик.

Цель работы состояла в разработке быстрого и простого способа определения действующих веществ лекарственных препаратов на основе полипептидов (актиномицина D, виргиниамицина M1, виргиниамицина S1, новобиоцина) методом цифровой цветометрии твердофазной флуоресценции с использованием смартфона в качестве цветорегистрирующего устройства.

Материалы и методы

Аппаратура. В качестве инструмента для регистрации цветометрических параметров

твердофазной флуоресценции в рамках данного исследования использовали смартфон «iPhone X» (Apple, США), оснащенный специализированным программным обеспечением «RGBer». Возбуждение флуоресценции проводили с помощью осветителя люминесцентного диагностического «Лампа Вуда ОЛДД-01» (Россия).

Использовали аналитические весы «Pioneer PA 214C» специального класса точности с пределом взвешивания 0,1 мг (Ohaus Corporation, USA), дозаторы «Proline Biohit» одноканальные механические переменного объема 2–20 мкл, 100–1000 мкл, 1000–5000 мкл (Biohit, Финляндия), пробирки полипропиленовые емк. 15 мл (SPL Life Sciences Co., Корея), полистирольные планшеты для иммуноферментного анализа.

Материалы. В работе применяли пластины для высокоэффективной тонкослойной хроматографии (ВЭТСХ) «HPTLC Silica gel 60» (Merck, Германия).

Реактивы. Использовали стандартные образцы полипептидных антибиотиков (бацитрацина, колистина сульфата, полимиксина В сульфата, виргиниамицина S1, виргиниамицина M1, актиномицина D, новобиоцина натриевой соли) (98–100%, Sigma-Aldrich, США). Исходные стандартные растворы полипептидных антибиотиков массовой концентрацией 1 мг/мл готовили растворением точной навески препаратов в метаноле (Fisher Scientific UK, Великобритания). Рабочие растворы готовили разбавлением исходных деионизированной водой (15–18 МОм×см, ОСТ 11 029.003-80).

Построение градуировочной зависимости. Рабочие растворы полипептидов массовой концентрацией 1 мкг/мл готовили последовательным разбавлением исходного раствора деионизированной водой в полистирольном планшете для иммуноферментного анализа. Полученные таким образом растворы объемом 5 мкл наносили на пластину ВЭТСХ с помощью механического дозатора. После высыхания пятна подвергали обработке монохроматическим УФ излучением ($\lambda = 365$ нм). Измерение цветометрических характеристик проводили посредством смартфона и специализированного программного обеспечения.

Аналитический сигнал (A_r) в системе RGB рассчитывали по формуле:



$$A_r = \sqrt{(R_0 - R_x)^2 + (G_0 - G_x)^2 + (B_0 - B_x)^2},$$

где R_0 , G_0 , B_0 , R_x , G_x , B_x – цифровые значения интенсивностей красного, зеленого, синего цветов холостой и анализируемой пробы соответственно.

Пробоподготовка. Одну таблетку лекарственного препарата помещали в мерную колбу вместимостью 100 мл, приливали 1 мл 1 М раствора HCl и небольшое количество деионизированной воды. Содержимое колбы тщательно перемешивали до полного растворения лекарственного препарата. Объем в колбе доводили до метки деионизированной водой и снова перемешивали. Отбирали 1 мл полученного раствора, приливали 9 мл деионизированной воды, перемешивали и фильтровали через мембранный фильтр 0,20 мкм. Отбирали 5 мкл полученного раствора с помощью механического дозатора и наносили на пластины ВЭТСХ. После высыхания пятна облучали монохроматическим УФ излучением (365 нм) и измеряли смартфоном цветометрические характеристики, по градуировочной зависимости определяли содержание полипептида в таблетке с учетом разбавления.

Результаты и их обсуждение

Для изучения твердофазной флуоресценции антибактериальных веществ полипептидного ряда и ее реализации при оценке качества ЛП в рамках данного исследования рассматривали возможности использования различных матриц: целлюлозная бумага, цеолит, кремнезем и силикагель (в формате пластин ВЭТСХ на алюминиевой подложке). В ходе серии предварительных экспериментов установлено, что наиболее оптимальным является применение пластин ВЭТСХ с силикагелем. Выбор обусловлен простотой использования, наличием инертного носителя, доступностью, экологичностью и относительно низкой себестоимостью данного материала.

Нанесенные на твердую матрицу полипептиды под действием внешнего монохроматического излучения проявляют флуоресцирующие свойства. В рамках реализуемого цветометрического подхода параметры флуоресценции используются в качестве аналитического сигнала

с их последующим преобразованием в цифровой формат посредством аддитивной системы RGB. Из представленного перечня антибактериальных соединений только актиномицин D, виргиниамицин M1, виргиниамицин S1 и новобиоцин при выбранных условиях определения взаимодействуют с электромагнитным излучением длиной волны 365 нм при последующем излучательном переходе в невозбужденное (основное) состояние. Очевидно, что прочие вещества способны к флуоресценции при других, отличных от представленных в данной работе, условиях возбуждения.

В соответствии с описанной выше процедурой получены градуировочные зависимости для определения полипептидных антибиотиков в диапазоне концентраций 32–500 мкг/мл (рис. 2, табл. 1). Согласно представленным данным, следует отметить, что зависимость рассчитанного аналитического сигнала от концентрации компонента для актиномицина D и виргиниамицина M1 носит логарифмический характер, для виргиниамицина S1 и новобиоцина – прямолинейный.

Предел обнаружения ($c_{\text{мин}}$) и предел определения ($c_{\text{д}}$) рассчитывали по формулам $3.3s/k$ и $10s/k$ соответственно (s – стандартное отклонение аналитического сигнала для холостого опыта, k – тангенс угла наклона градуировочной зависимости на линейном участке). Стандартное отклонение для A_r холостого опыта составляло $(0,5 \pm 0,1)$ при $n = 15$.

Анализ готовых лекарственных препаратов. При выбранных параметрах твердофазно-флуориметрического определения полипептидов по собственной флуоресценции на пластинах ВЭТСХ провели анализ готовых лекарственных препаратов медицинского назначения («Пиостацин», «Космеген», «Дактиномицин»). Результаты количественной оценки содержания действующих (активных) веществ с учетом погрешности совпадают с содержанием, заявленным изготовителем на упаковке. В табл. 2 представлены результаты определения полипептидов в лекарственных препаратах, приобретенных в аптечных пунктах розничной торговли. Относительное стандартное отклонение результатов анализа не превышает 0,05. Продолжительность анализа составила 10–15 мин.

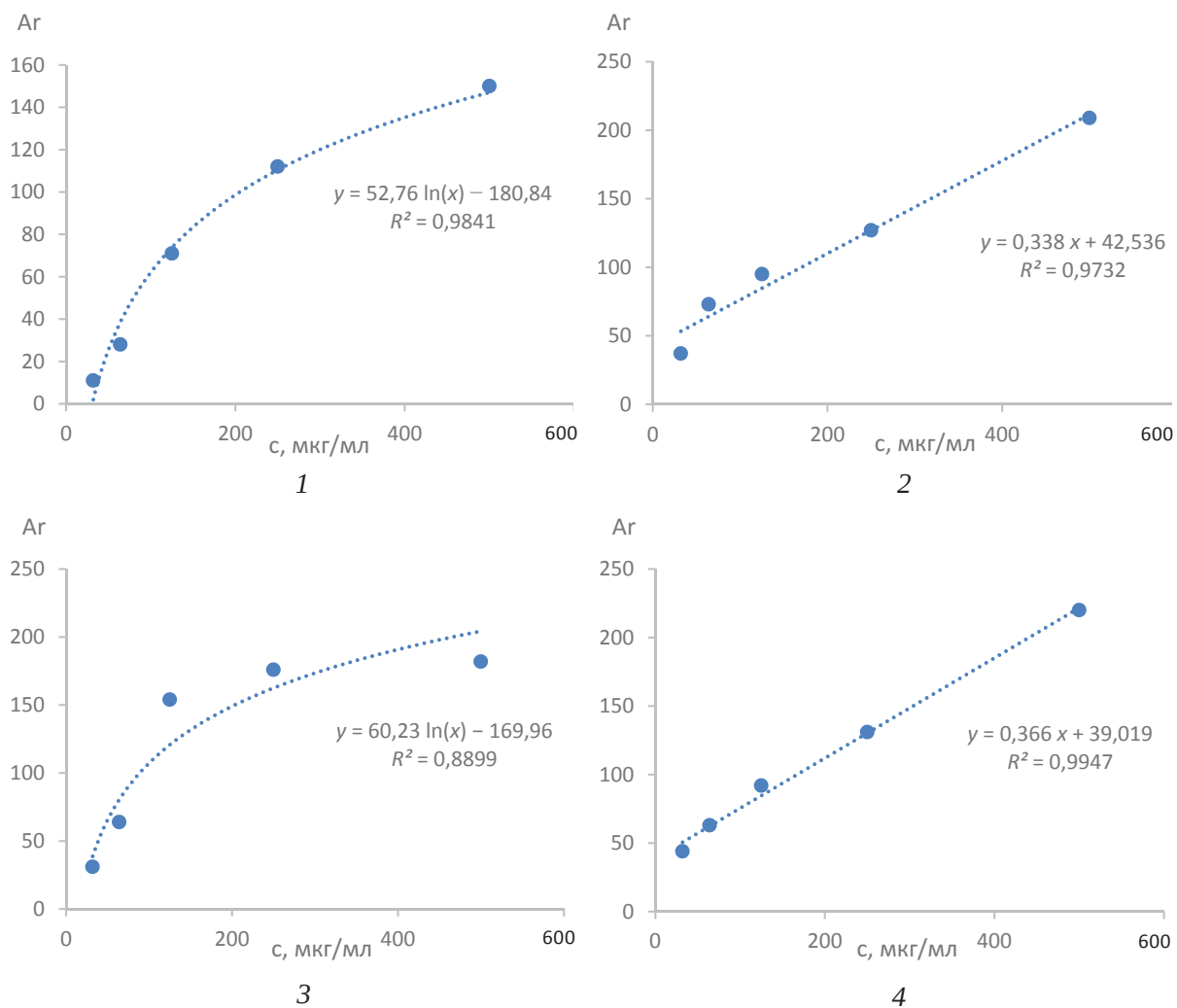


Рис. 2. Градуировочные зависимости для определения актиномицина D (1), виргиниамицина M1 (2), виргиниамицина S1 (3) и новобиоцина (4)

Fig. 2. Calibration dependencies for the determination of actinomycin D (1), virginiamycin M1 (2), virginiamycin S1 (3), and novobiocin (4)

Таблица 1 / Table 1

Аналитические характеристики определения полипептидных антибиотиков цветометрическим методом в диапазоне концентраций 32–500 мкг/мл

Analytical characteristics of the determination of polypeptide antibiotics by the colorimetric method in the concentration range of 32–500 μg/ml

Полипептид Polypeptide	Уравнение градуировочной зависимости Calibration equation	R^2	$C_{\text{мин}}$, мкг/мл	$C_{\text{н}}$, мкг/мл
Актиномицин D Dactinomycin	$y = 52,8 \ln(x) - 180,8$	0,984	10	32
Виргиниамицин M1 Virginiamycin M1	$y = 0,34x + 42,54$	0,973	10	32
Виргиниамицин S1 Virginiamycin S1	$y = 60,2 \ln(x) - 170,0$	0,890	10	32
Новобиоцин Novobiocin	$y = 0,37x + 39,02$	0,995	10	32

Результаты определения полипептидных антибиотиков в лекарственных препаратах ($n = 5$, $P = 0,95$)
Results of the determination of polypeptide antibiotics in drugs ($n = 5$, $P = 0,95$)

Наименование препарата / Name of the preparation	Действующее (активное) вещество / Active substance	Заявленное содержание действующего вещества / Declared content of the active substance	Установленное содержание действующего вещества, ($x_{cp} \pm \Delta x$) / The established content of the active substance ($x_{mean} \pm \Delta x$)	S_r
«Пиостацин» «Pyostacin»	Виргиниамицин M1 Virginiamycin M1	500 мг (mg)	495 ± 15	0,05
«Космеген» «Cosmegen»	Актиномицин D Actinomycin D	500 мкг/фл (µg/fl)	507 ± 9	0,04
«Дактиномицин» «Dactinomycin»	Актиномицин D Dactinomycin	500 мкг/фл (µg/fl)	498 ± 10	0,03

Выводы

В работе представлен способ оценки качества лекарственных препаратов на основе антибактериальных веществ полипептидного ряда по собственной флуоресценции растворов анализов, нанесенных на пластины ВЭТСХ, с использованием метода цифровой цветометрии. Для регистрации цветометрических характеристик в аддитивной системе RGB с последующим расчетом аналитического сигнала применяли смартфон и доступный программный продукт «RGBer». Выбранные условия в рамках данной работы являются пригодными для определения актиномицина D, виргиниамицина M1, виргиниамицина S1 и новобиоцина. После получения стандартных цветовых шкал и построения градуировочных зависимостей в диапазоне концентраций 32–500 мкг/мл апробацию заявленного способа проводили на готовых лекарственных препаратах коммерческого производства «Пиостацин», «Космеген», «Дактиномицин». Результаты определения концентрации действующих (активных) веществ с учетом погрешности совпадают с содержанием, заявленным производителем.

Список литературы

1. Государственная Фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. III. М.: ФЭМБ, 2018. 1926 с.
2. Государственная Фармакопея Российской Федерации. XIV изд. Т. I. М.: ФЭМБ, 2018. 1814 с.
3. ГОСТ Р 52249-2009. Правила производства и контроля качества лекарственных средств. М.: Стандартинформ, 2010. 139 с.
4. Krzek J., Piotrowska J. Spectrophotometric determination of bacitracin in bulk drug as dabsyl derivative in a

range of visible light // Acta Pol. Pharm. 2011. Vol. 68, № 6. P. 853–858.

5. Severino P., Silveira E. F., Vazzana M., Chaud M. V., Santana M. H. A., Souto E.B. Validation of an UV spectrophotometric assay for the quantification of polymyxin B in solid lipid nanoparticles // Pharmazie. 2015. Vol. 70. P. 693–697.
6. Elimam M. M., Shantier S. W., Gadkariem E. A., Mohamed M. A. Derivative spectrophotometric methods for the analysis and stability studies of colistin sulphate // J. Chem. 2015. Vol. 2015 (№ 624316). P. 1–5.
7. Castilhos J. K., Dillenburg T. L., Antunes M. V., Scribel L., Zavascki A. P., Linden R., Verza S. G. Evaluation of the stability of polymyxin B in saline and glucose solutions using LC-MS/MS // Braz. J. Pharm. Sci. 2020. Vol. 56, № e18367.
8. Suleiman S. A., Song F., Su M.-X., Hang T.-J., Song M. Analysis of bacitracin and its related substances by liquid chromatography tandem mass spectrometry // J. Pharm. Anal. 2017. Vol. 7, № 1. P. 48–55.
9. Yuan H., Yu S., Chai G., Liu J., Zhou Q. A LC-MS/MS method for simultaneous analysis of the cystic fibrosis therapeutic drugs colistin, ivacaftor and ciprofloxacin // J. Pharm. Anal. 2017. Vol. 7, № 1. P. 48–55.
10. Тимофеева А. В., Серебрякова М. В., Баратова Л. А. Катруха Г. С. Экспресс-анализ антибиотиков пептидной группы на микроколоночном хроматографе Милюхром А-02 // Биотехнология. 2009. Т. 1. С. 90–95.
11. Хайруллин Д. Д., Галяутдинова Г. Г., Босяков В. И., Шангареев Н. Г., Егоров В.И. Идентификация кормового антибиотика цинкбацилтрацина методом ВЭЖХ // Ученые записки КГАВМ им. Н. Э. Баумана. 2017. Т. 4. URL: <https://cyberleninka.ru/article/n/identifikatsiya-kormovogo-antibiotika-tsinkbatsitratsina-metodom-vezhh> (дата обращения: 26.03.2023).
12. Гуревич П. А., Галяутдинова Г. Г., Босяков В. И., Егоров В. И., Сайфутдинов А. М. Флуориметрическое определение методом ВЭЖХ антибиотика



цинкбацитрацина с предколонной дериватизацией ортофталевым альдегидом его производного в присутствии меркаптоэтанола // Вестник технологического университета. 2019. Т. 22, № 2. С. 10–13.

13. Injac R. D., Mlinaric A., Djordjevic-Milic V., Karljickovic-Rajic K., Strukelj B. Optimal Condition for determination of zinc bacitracin, polymyxin B, oxytetracycline and sulfacetamide in animal feed by micellar electrokinetic capillary chromatography // *Food Addit. Contam.* 2008. Vol. 25, № 04. С. 424–431.
14. Tao Y., Xie S., Zhu Y., Chen D., Pan Y., Wang X., Liu Z., Huang L., Peng D., Yuan Z. Analysis of major components of bacitracin, colistin and virginiamycin in feed using matrix solid-phase dispersion extraction by liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry // *J. Chromatogr. Sci.* 2018. Vol. 56, № 3. P. 285–291.
15. Моногарова О. В., Осколок К. В., Аняри В. В. Цветометрия в химическом анализе // *Журн. аналит. химии.* 2018. Т. 73, № 11. С. 857–867.
16. Shrivastava K., Monisha, Patel S., Thakur S. S., Shankar R. Food safety monitoring of the pesticide phenthoate using a smartphone-assisted paper-based sensor with bimetallic Cu@Ag core-shell nanoparticles // *Lab. Chip.* 2020. Vol. 20. P. 3996–4006.
17. Valek T., Valkova P., Pohanka M. Colorimetric method for the determination of proteins using immobilized microbial protease and a smartphone camera // *Anal. Letters.* 2021. Vol. 54. P. 1023–1037.
18. Calabria D., Mirasoli M., Guardigli M., Simoni P., Zangheri M., Severi P., Caliceti C., Roda A. Paper-based smartphone chemosensor for reflectometric on-site total polyphenols quantification in olive oil // *Sens. Actuators B: Chemical.* 2020. Vol. 305, № 127522.
19. Soares S., Fernandes G. M., Moraes L. M. B., Batista A. D., Rocha F. R. P. Single-phase determination of calcium and magnesium in biodiesel using smartphone-based digital images // *Fuel.* 2022. Vol. 307, № 121837.
5. Severino P., Silveira E. F., Vazzana M., Chaud M. V., Santana M. H. A., Souto E. B. Validation of an UV spectrophotometric assay for the quantification of polymyxin B in solid lipid nanoparticles. *Pharmazie*, 2015, vol. 70, pp. 693–697.
6. Elimam M. M., Shantier S. W., Gadkariem E. A., Mohamed M. A. Derivative spectrophotometric methods for the analysis and stability studies of colistin sulphate. *J. Chem.*, 2015, vol. 2015, no. 624316, pp. 1–5.
7. Castilhos J. K., Dillenburg T. L., Antunes M. V., Scribel L., Zavascki A. P., Linden R., Verza S. G. Evaluation of the stability of polymyxin B in saline and glucose solutions using LC-MS/MS. *Braz. J. Pharm. Sci.*, 2020, vol. 56, no. e18367.
8. Suleiman S. A., Song F., Su M.-X., Hang T.-J., Song M. Analysis of bacitracin and its related substances by liquid chromatography tandem mass spectrometry. *J. Pharm. Anal.*, 2017, vol. 7, no. 1, pp. 48–55.
9. Yuan H., Yu S., Chai G., Liu J., Zhou Q. A LC-MS/MS method for simultaneous analysis of the cystic fibrosis therapeutic drugs colistin, ivacaftor and ciprofloxacin. *J. Pharm. Anal.*, 2017, vol. 7, no. 1, pp. 48–55.
10. Timofeeva A. V., Serebryakova M. V., Baratova L. A., Katruha G. S. Express analysis of antibiotics of the peptide group on a Milichrome A-02 microcolumn chromatograph. *Biotehnologiya*, 2009, vol. 1, pp. 90–95 (in Russian).
11. Hajrullin D. D., Galyautdinova G. G., Bosyakov V. I., Shangaraev N. G., Egorov V. I. Identification of feed antibiotic zincbacitracin by HPLC. *Uchenye zapiski KGAVM im. N. E. Baumana*, 2017, vol. 4. Available at: <https://cyberleninka.ru/article/n/identifikatsiya-kormovogo-antibiotika-tsinkbatsitratsina-metodom-vezhh> (accessed March 26, 2023) (in Russian).
12. Gurevich P. A., Galyautdinova G. G., Bosyakov V. I., Egorov V. I., Sajfutdinov A. M. Fluorimetric HPLC determination of the antibiotic zincbacitracin with pre-column derivatization of its derivative with orthophthalaldehyde in the presence of mercaptoethanol. *Herald of Technological University*, 2019, vol. 22, no. 2, pp. 10–13 (in Russian).
13. Injac R. D., Mlinaric A., Djordjevic-Milic V., Karljickovic-Rajic K., Strukelj B. Optimal Condition for determination of zinc bacitracin, polymyxin B, oxytetracycline and sulfacetamide in animal feed by micellar electrokinetic capillary chromatography. *Food Addit. Contam.*, 2008, vol. 25, no. 04, pp. 424–431.
14. Tao Y., Xie S., Zhu Y., Chen D., Pan Y., Wang X., Liu Z., Huang L., Peng D., Yuan Z. Analysis of major components of bacitracin, colistin and virginiamycin in feed using matrix solid-phase dispersion extraction by liquid chromatography-electrospray ionization tandem mass spectrometry. *J. Chromatogr. Sci.*, 2018, vol. 56, no. 3, pp. 285–291.

References

1. *State Pharmacopoeia of the Russian Federation.* XIV ed. Vol. III. Moscow, FEML, 2018. 1926 p. (in Russian).
2. *State Pharmacopoeia of the Russian Federation.* XIV ed. Vol. I. Moscow, FEML, 2018. 1814 p. (in Russian).
3. GOST R 52249-2009. *Good manufacturing practice for medicinal products (GMP).* Moscow, Standartinform, 2010. 139 p. (in Russian).
4. Krzek J., Piotrowska J. Spectrophotometric determination of bacitracin in bulk drug as dabsyl derivative in a range of visible light. *Acta Pol. Pharm.*, 2011, vol. 68, no. 6, pp. 853–858.



15. Monogarova O. V., Oskolok K. V., Apyari V. V. Colorimetry in chemical analysis. *Journal of Analytical Chemistry*, 2018, vol. 73, no. 11, pp. 857–867 (in Russian).
16. Shrivastava K., Monisha, Patel S., Thakur S.S., Shankar R. Food safety monitoring of the pesticide phenthoate using a smartphone-assisted paper-based sensor with bimetallic Cu@Ag core-shell nanoparticles. *Lab. Chip.*, 2020, vol. 20, pp. 3996–4006.
17. Valek T., Valkova P., Pohanka M. Colorimetric method for the determination of proteins using immobilized microbial protease and a smartphone camera. *Anal. Letters*, 2021, vol. 54, pp. 1023–1037.
18. Calabria D., Mirasoli M., Guardigli M., Simoni P., Zangheri M., Severi P., Caliceti C., Roda A. Paper-based smartphone chemosensor for reflectometric on-site total polyphenols quantification in olive oil. *Sens. Actuators B: Chemical*, 2020, vol. 305, no. 127522.
19. Soares S., Fernandes G. M., Moraes L. M. B., Batista A. D., Rocha F. R. P. Single-phase determination of calcium and magnesium in biodiesel using smartphone-based digital images. *Fuel*, 2022, vol. 307, no. 121837.

Поступила в редакцию 12.04.2023; одобрена после рецензирования 10.05.2023; принята к публикации 23.05.2023
The article was submitted 12.04.2023; approved after reviewing 10.05.2023; accepted for publication 23.05.2023