

## МЕТОДИКА ИДЕНТИФИКАЦИИ МАТЕРИАЛА СТАНДАРТНОГО ОБРАЗЦА СОСТАВА АЗИТРОМИЦИНА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ СПЕКТРАЛЬНЫХ МЕТОДОВ

© В. И. Гегечкори<sup>1</sup>, Н. А. Шульга<sup>1</sup>, О. Ю. Щепочкина<sup>1</sup>, Н. В. Гороховец<sup>1</sup>,  
А. А. Левко<sup>2</sup>, Н. Н. Чадова<sup>2</sup>, В. Н. Шестаков<sup>2</sup>

<sup>1</sup> ФГАОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова (Сеченовский Университет) Минздрава России», г. Москва, Россия

<sup>2</sup> ФБУ «Государственный институт лекарственных средств и надлежащих практик» (ФБУ «ГИЛС и НП»), г. Москва, Россия  
ResearcherID AAD-2259-2019, e-mail: vgegechkori@gmail.com

Поступила в редакцию – 25 марта 2021 г., после доработки – 20 июня 2021 г.  
Принята к публикации – 5 июля 2021 г.

*При создании новых лекарственных средств, а также актуализации подходов к оценке качества лекарственных средств, находящихся в обращении, важным вопросом стандартизации является разработка методов контроля качества с применением надежных, точных и чувствительных физико-химических методов, что, в свою очередь, обуславливает необходимость создания и использования стандартных образцов. В данной статье рассматривается вопрос о разработке надежных методов идентификации структуры азитромицина, которая позволит гарантировать чистоту стандартного образца, адекватно и однозначно выбрать метод количественного определения в соответствии с действующими требованиями нормативных актов, а также согласно Фармакопее Российской Федерации XIV Издания.*

**Ключевые слова:** азитромицин, стандартные образцы, физико-химические методы, стандартизация, ЯМР-спектроскопия, ИК-спектроскопия, Масс-спектроскопия

---

### Ссылка при цитировании:

Методика идентификации материала стандартного образца состава азитромицина с использованием спектральных методов / В. И. Гегечкори [и др.] // Эталоны. Стандартные образцы. 2021. Т. 17. № 3. С. 21–34. <https://doi.org/10.20915/2687-0886-2021-17-3-21-34>

### For citation:

Gegechkori V. I., Shulga N. A., Shchepochkina O. Yu., Gorokhovets N. V., Levko A. A., Chadova N. N., Shestakov V. N. Procedure of matter identification of reference material for composition of azithromycin with use of spectral method measurement standards. Reference materials. 2021;17(3):21–34. <https://doi.org/10.20915/2687-0886-2021-17-3-21-34> (In Russ.).

# PROCEDURE OF MATTER IDENTIFICATION OF REFERENCE MATERIAL FOR COMPOSITION OF AZITHROMYCIN WITH USE OF SPECTRAL METHOD

© Vladimir I. Gegechkori<sup>1,2</sup>, Nikolai A. Shulga<sup>1</sup>, Olga Iu. Shchepochkina<sup>1</sup>, Neonila V. Gorokhovets<sup>1</sup>, Anatolii A. Levko<sup>2</sup>, Nataliia N. Chadova<sup>2</sup>, Vladislav N. Shestakov<sup>2</sup>

<sup>1</sup>I. M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation (Sechenov University), Moscow, Russia

<sup>2</sup>State Institute of Drugs and Good Practices, Moscow, Russia

Received – 25 March, 2021. Revised – 20 June, 2021.

Accepted for publication – 5 July, 2020

*In new medicinal products development, as well as actualisation of assessment approaches of medicinal products in circulation, the development of quality control procedures remains one of the most important issues in standardisation. Besides, such development should include using reliable, accurate and sensitive physicochemical methods which determine the need development and implementation of reference materials. This paper discusses the development of reliable methods for identifying the structure of azithromycin, which will guarantee the purity of the reference material, as well as adequately and unambiguously choose a method of quantitative determination in accordance with the current requirements of regulatory acts, and according to the Pharmacopoeia of the Russian Federation of the XIV Edition.*

**Keywords:** azithromycin, reference materials, physicochemical methods, standardisation, NMR Spectroscopy, IR Spectroscopy, Mass Spectroscopy

## Введение

В настоящее время при разработке подходов к оценке качества лекарственных средств предпочтение все чаще отдается физико-химическим методам анализа, применение которых требует наличия стандартных образцов активной фармацевтической субстанции (АФС), интермедиатов, вспомогательных веществ и примесей. Кроме того, стандартные образцы должны применяться в смежных научных отраслях, имеющих большое практическое значение для фармации. Исследования фармакокинетики лекарственных препаратов в фундаментальных и прикладных исследованиях, проведение терапевтического мониторинга для дальнейшей коррекции фармакотерапии, химико-токсикологическом анализе для определения дальнейшей детоксикационной терапии и установления факта смерти от того или иного лекарственного препарата. Таким образом, вопрос создания собственной системы обращения и контроля за стандартными образцами различного уровня на территории Российской Федерации является

актуальным вопросом современной науки и фармацевтической промышленности [1–2].

Цель данного исследования – разработка методики идентификации образцов субстанций азитромицина при разработке стандартного образца (СО) состава азитромицина, который в дальнейшем может применяться для идентификации и количественного определения данного лекарственного средства в различных лекарственных формах и для других целей. Подходы к выбору показателей качества, методикам их определения должны подвергаться строгому контролю в соответствии со структурными и физико-химическими особенностями и областью применения стандартного образца [3–4].

Азитромицин ((2R,3S,4R,5R,8R,10R,11R,12S,13S,14R)-3,4,10-Тригидрокси-13-[(2,6-дидезокси-3-С-метил-3-О-метил- $\alpha$ -L-рибо-гексопиранозил)окси]-3,5,6,8,10,12,14-гептаметил-11-[[3,4,6-тридезокси-3-(диметиламино)- $\beta$ -D-ксило-гексопиранозил]



окси)-2-этил-1-окса-6-азациклопентадекан-15-он дигидрат) – представитель группы макролидов, в частности, азалидов, и обладает широким спектром противомикробного действия. Требования к качеству любого препарата из группы антибиотиков должны оставаться на высоком уровне на любом этапе жизненного цикла в связи с особенностью данных препаратов в отношении гепатотоксичности и возможных серьезных побочных эффектов [5]. Структурная формула исследуемого соединения представлена на рис. 1. Молекулярная масса азитромицина –  $M=748.5$  [6].

Подходы к разработке стандартных образцов описываются во многих международных и отечественных нормативных документах. Однако все они подразумевают наличие определенных показателей качества для готовой продукции, а именно «Подлинность», «Чистота» и «Количественное содержание» [7–11].

Одним из важнейших показателей качества стандартных образцов является показатель «подлинность». Для его определения традиционно используют метод ИК-спектроскопии, но при разработке стандартных образцов лекарственных средств целесообразно использовать несколько методов [12–14]. К этим методам, например, относятся УФ-спектрофотометрия, масс-спектрометрия, элементный анализ и ряд других методов, сочетание которых гарантирует однозначную характеристику субстанции. Попытка классифицировать стандартные образцы и описать процесс их получения была совершена в отчете ISO (ISO/TR10989:2009 E) и в действующей Фармакопеи Российской Федерации XIV Издания [8, 16]. Изучив вышеуказанные документы, а также серию руководств, опубликованных организацией ICH (The International Council for Harmonisation of Technical Requirements for Pharmaceuticals for Human Use), занимающейся гармонизацией указаний

и требований регистрации лекарственных средств, авторы сделали акцент на методы ИК-спектроскопии, ЯМР-спектроскопии и масс-спектрометрии как на обязательные и независимые методы для определения структуры полученных образцов [15, 16].

### Материалы и методы

Объектами исследования служили образцы субстанций азитромицина трех различных опытно-технологических серий – серия 1, серия 2, серия 3, после проведения входного контроля согласно действующей нормативной документации на АФС для разработки стандартных образцов.

Инфракрасный спектр азитромицина (рис. 2) снимали в диске калия бромида (1–2 мг субстанции в 300 мг калия бромида) в области от 4000 до 400  $\text{cm}^{-1}$  с использованием ИК-Фурье спектрофотометра Bruker Alpha.

### Метод ЯМР-спектроскопии

Определение значений химических сдвигов образца субстанции азитромицина проводили методом спектроскопии ядерного магнитного резонанса (ЯМР)<sup>1</sup>  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$  [8]. ЯМР  $^1\text{H}$  (рис. 3) и  $^{13}\text{C}$  (рис. 4) спектры раствора образца в дейтерированном диметилсульфоксиде ( $\text{DMSO-d}_6$ ) регистрировали на спектрометре Bruker AVANCE III 400MHz UltraShield Plus с рабочими частотами для перечисленных ядер 400 МГц и 100 МГц соответственно.

### Метод масс-спектрометрии

Определение моноизотопной массы образца субстанции азитромицина проводили методом

<sup>1</sup> РФ, ОФС.1.2.1.2.0007.15 «Спектроскопия ядерного магнитного резонанса»

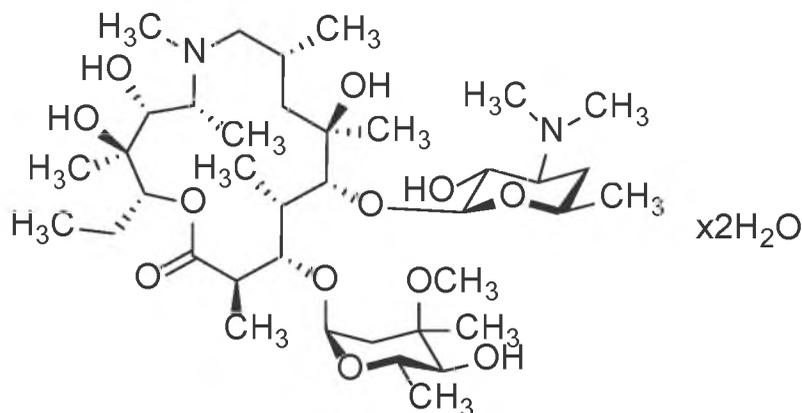


Рис. 1. Структурная формула азитромицина

Fig. 1. Azithromycin structural formula

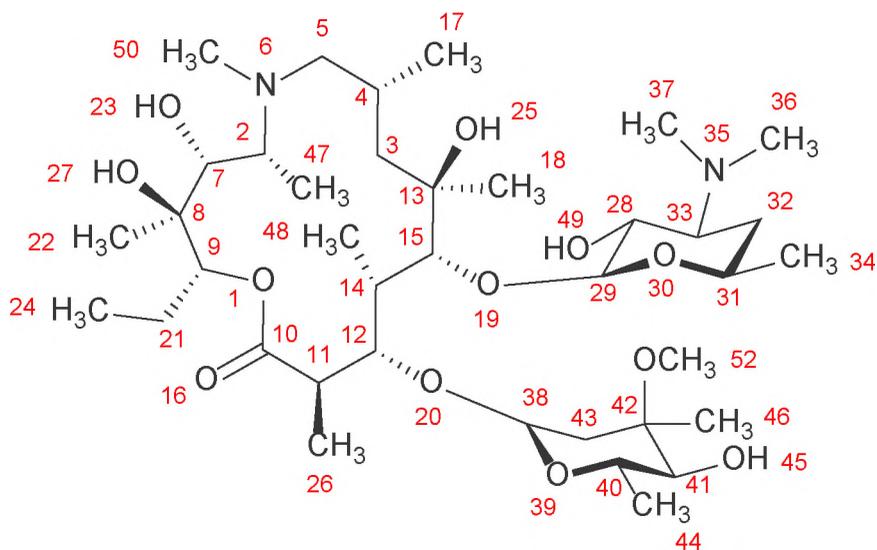


Рис. 2. Структурная формула азитромицина с номерным отнесением атомов  
Fig. 2. Azithromycin structural formula with numbered assignment of atoms

жидкостной хроматографии tandemной масс-спектрометрии (ЖХ–МС/МС)<sup>2</sup> [8].

**Реактивы:** трифторуксусная кислота («for HPLC, ≥ 99,0%», Sigma-Aldrich, кат. № 302031 или аналогичного качества); ацетонитрил («gradient grade for liquid chromatography», Merck, кат. № 1.00030 или аналогичного качества).

**Раствор А.** В мерную колбу вместимостью 1000 мл, содержащую небольшое количество воды для хроматографии, помещают 0,50 мл трифторуксусной кислоты и доводят объем раствора водой для хроматографии до метки, перемешивают. Полученный раствор фильтруют через мембранный фильтр с диаметром пор не более 0,45 мкм (в случае необходимости) и дегазируют ультразвуком.

**Раствор Б.** Ацетонитрил фильтруют через мембранный фильтр с диаметром пор не более 0,45 мкм (в случае необходимости) и дегазируют ультразвуком.

**Растворитель пробы.** Смешивают раствор А и раствор Б в объемном соотношении 50 : 50.

**Испытуемый раствор.** Около 0,005 г (точная навеска) продукта помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в растворителе пробы (допускается использовать ультразвуковую баню, не допуская нагревания раствора), доводят объем раствора до метки растворителем пробы и фильтруют через мембранный PTFE с диаметром пор не более 0,45 мкм.

<sup>2</sup> РФ, ОФС.1.2.1.1.0008.15 «Масс-спектрометрия», ОФС.1.2.1.2.0005.15 «Высокоэффективная жидкостная хроматография»

Анализ проводили при следующих условиях:

**Условия хроматографирования**

- жидкостной хроматограф высокого давления;
- металлическая колонка, заполненная октадецилсилильным сорбентом, 1,8 мкм, размером 2,1 × 150 мм, например, Zorbax SB-C18 (Agilent, США), кат. № 859700–902;
- температура колонки: 35 °С;
- скорость потока подвижной фазы: 0,35 мл/мин;
- режим элюирования градиентный (табл. 1);
- объем анализируемой пробы: 5 мкл.

**Условия детектирования**

- масс-спектрометрический детектор с обогреваемым электроспреем и квадрупольным масс-анализатором;
  - температура капилляра – 350 °С;
  - режим сканирования – полный ионный ток;
  - диапазон сканирования – 35–500 m/z;
  - частота сканирования – 0,5 с;
  - полярность сканирования – положительная.
- Последовательно хроматографируют растворитель пробы и испытуемый раствор.

Хроматомасс-спектры регистрировали на жидкостном хроматографе с масс-селективным детектором Thermo Scientific TSQ Quantum Access MAX™ (тип ионизации HESI), для положительно заряженных ионов.

## Результаты и обсуждение

Частоты основных полос поглощения ИК-спектра стандартного образца утвержденного типа азитромицина серии 1 приведены ниже в табл. 2.

Таблица 1. Режим элюирования образца субстанции азитромицина  
 Table 1. The mode of elution of a sample of the azithromycin substance

Стадия	Время, мин.	Раствор А, %	Раствор Б, %	Режим элюирования
1	0	95	5	
2	1	95	5	изократический
3	18	5	95	линейный градиент
4	20	5	95	изократический
5	20,1	95	5	линейный градиент
6	25	95	5	изократический, уравнивание колонки

ИК-спектр (KBr),  $\text{cm}^{-1}$ : 459, 573, 731, 797, 833, 897, 957, 993, 1051, 1084, 1096, 1107, 1125, 1157, 1169, 1188, 1271, 1283, 1317, 1344, 1379, 1454, 1470, 1640, 1721, 2783, 2830, 2878, 2893, 2914, 2936, 2961, 2972, 3493, 3561.

Наличие спиртовых групп в соединении проявляется в виде нескольких широких полос в области  $3273\text{--}3561\text{ cm}^{-1}$ , характерных для валентных колебаний ОН, и ряда полос в области  $1084\text{--}1188\text{ cm}^{-1}$ , соответствующих валентным колебаниям связей ССО. Последние находятся в той же области, что и полосы валентных колебаний связей С–N третичных аминогрупп ( $993\text{--}1188\text{ cm}^{-1}$ ), ССО связей простых эфиров ( $1084\text{--}1125\text{ cm}^{-1}$ ) и связей лактона:  $\text{C}=\text{O}$  (около  $1169\text{ cm}^{-1}$ ) и ССО (около  $1096\text{ cm}^{-1}$ ). Полоса поглощения С=О связи сложноэфирной группы

наблюдается около  $1721\text{ cm}^{-1}$ . Асимметричные и симметричные валентные колебания С–Н связей метильных групп дают полосы при  $2972$  и  $2961\text{ cm}^{-1}$  соответственно, а деформационные колебания – при  $1454$  (асимметричные) и  $1379\text{ cm}^{-1}$  (симметричные). Валентные колебания С–Н связей метиленовых и метиновых групп наблюдаются в виде группы полос в области  $2783\text{--}2914\text{ cm}^{-1}$ . Деформационные колебания этих связей дают ряд полос в области  $1157\text{--}1344\text{ cm}^{-1}$  (веерные, крутильные) и полосу при  $1470\text{ cm}^{-1}$  (ножничные колебания).

Таким образом, положение основных полос поглощения, полученных ИК-спектров для разных серий образцов не противоречит химической структуре азитромицина.

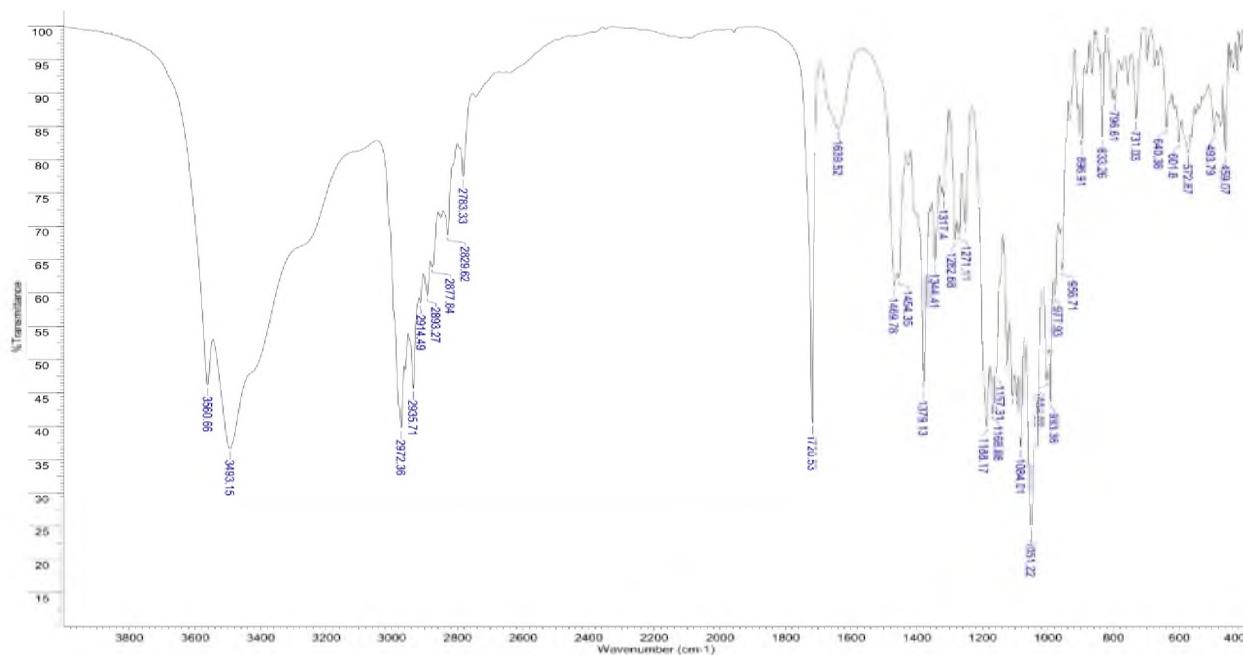


Рис. 3 Типичный ИК-спектр образца азитромицина

Fig. 3. Typical IR-spectrum of azithromycin sample

Таблица 2. Отнесение полос поглощения в ИК-спектре образца вещества 80220  
 Table 2. Assignment of absorption bands in the IR spectrum of a sample of a substance 80220

Максимум поглощения, см <sup>-1</sup>	Форма колебаний	Отнесение
3273–3561	$\nu$ O-H	-OH
2972	$\nu$ as C-H	-CH <sub>3</sub>
2961	$\nu$ s C-H	-CH <sub>3</sub>
2783–2914	$\nu$ C-H	-CH <sub>2</sub> -, -C-H<
1721	$\nu$ C=O	>C=O
1470	$\delta$ s-C-H (ножничные)	-CH <sub>2</sub> -
1454	$\delta$ as-C-H	-CH <sub>3</sub>
1379	$\delta$ s-C-H	-CH <sub>3</sub>
1157–1344	$\delta$ as-C-H (веерные, крутильные)	-CH <sub>2</sub> -
993-1188	$\nu$ C-C-O, $\nu$ C-N, $\nu$ C-O-C, $\nu$ C-(C=O)-O	-C-C-OH, -C-N<, -C-O-C- (простой эфир), -C-(C=O)-O-, -C-C-O- (лактон)

\*  $\nu$  – валентные колебания ( $\nu$ s – симметричные,  $\nu$ as – асимметричные);

$\delta$  – деформационные колебания ( $\delta$ s – симметричные,  $\delta$ as – асимметричные).

Описание и отнесение сигналов спектра ЯМР <sup>1</sup>H приведены ниже в таблице 3. Спектр ЯМР <sup>1</sup>H (400 МГц, ДМСО-d<sub>6</sub>)  $\delta$  м. д.: 0,79 (т, J=7,4 Гц, 3H); 0,85 (д, J=6,7 Гц, 3H); 0,90–0,97 (м, 6H); 1,01 (с, 3H); 1,03–1,11 (м, 7H); 1,11–1,20 (м, 9H); 1,26 (дд, J=14,6; 8,0 Гц, 1H); 1,31–1,44 (м, 1H); 1,44–1,63 (м, 3H); 1,70–1,82 (м, 1H); 1,83–1,95 (м, 2H); 2,03–2,14 (м, 1H); 2,16–2,29 (м, 10H); 2,31–2,44 (м, 2H); 2,61–2,72 (м, 2H); 2,91(дд, J=9,4; 7,4 Гц, 1H); 2,98–3,07 (м, 1H); 3,23 (с, 3H); 3,44 (д, J=8,0 Гц, 1H); 3,51 (д, J=7,0 Гц, 1H); 3,60–3,71 (м, 1H); 3,91 (д, J=2,0 Гц, 1H); 4,03–4,12 (м, 1H); 4,13–4,19 (м, 2H); 4,28 (с, 1H); 4,32 (д, J=7,9 Гц, 1H); 4,40 (д, J=7,3 Гц, 1H); 4,74 (дд, J=10,0; 2,8 Гц, 1H); 4,84 (д, J=4,7 Гц, 1H); 7,47 (уш. с, 1H).

Метильная группа при C24, относящаяся к этильному заместителю, наблюдается в виде характерного триплета с константой спин-спинового взаимодействия J=7,4 Гц на 0,79 м. д. Самый слабый сигнал из метильных групп принадлежит протонам, входящим в состав метоксигруппы – ОСН<sub>3</sub> (синглет на 3,23 м. д.). Метильным группам также соответствуют синглет на 1,01 м. д. и дублет с константой спин-спинового взаимодействия J=6,7 Гц на 0,85 м. д. Сигналы остальных десяти метильных групп накладываются друг на друга и сигналы других протонов и присутствуют в спектре в составе различных мультиплетов. Протоны гидроксильных групп проявляются в спектре в виде синглетов на 4,28 и 7,47 м. д.

и дублетов на 3,91 и 4,32 м. д.. Сигнал протона еще одной гидроксильной группы, по-видимому, является частью одного из составных мультиплетов. В виде двух дублетов (4,40 и 4,84 м. д.) наблюдаются сигналы двух метиновых протонов (при C29 и C38). Сигналы этих протонов находятся в более слабopольной области спектра, так как все они имеют в качестве заместителя в  $\beta$ -положении атом кислорода. В этой же части спектра наблюдается дублет дублетов, соответствующий протону при атоме углерода, соседствующим со сложноэфирной группой (C9). Более подробное отнесение сигналов производилось с использованием литературных данных. Общая интегральная интенсивность, положение и мультиплетность сигналов не противоречат строению вещества, а также соответствует литературным данным [17].

Спектр ЯМР <sup>13</sup>C (100 МГц, ДМСО-d<sub>6</sub>)  $\delta$  м. д.: 6,8; 9,1; 11,0; 14,8; 17,7; 18,5; 20,99; 21,03; 21,5; 22,1; 26,1; 27,4; 30,0; 34,7; 35,8; 40,4; 41,7; 41,9; 44,8; 48,8; 61,5; 64,8; 67,0; 68,8; 70,6; 72,6; 72,8; 73,6; 74,9; 76,4; 77,4; 82,7; 94,5; 102,2; 177,1. Отнесение сигналов в спектре ЯМР <sup>13</sup>C приведены в таблице 4.

В спектре ЯМР <sup>13</sup>C количество сигналов меньше, чем количество магнитно-неэквивалентных атомов углерода в молекуле (рис. 1). Это связано с наложением некоторых сигналов, что видно по их интенсивности (предположительно сигналы на 64,8 и 77,4 м. д.).

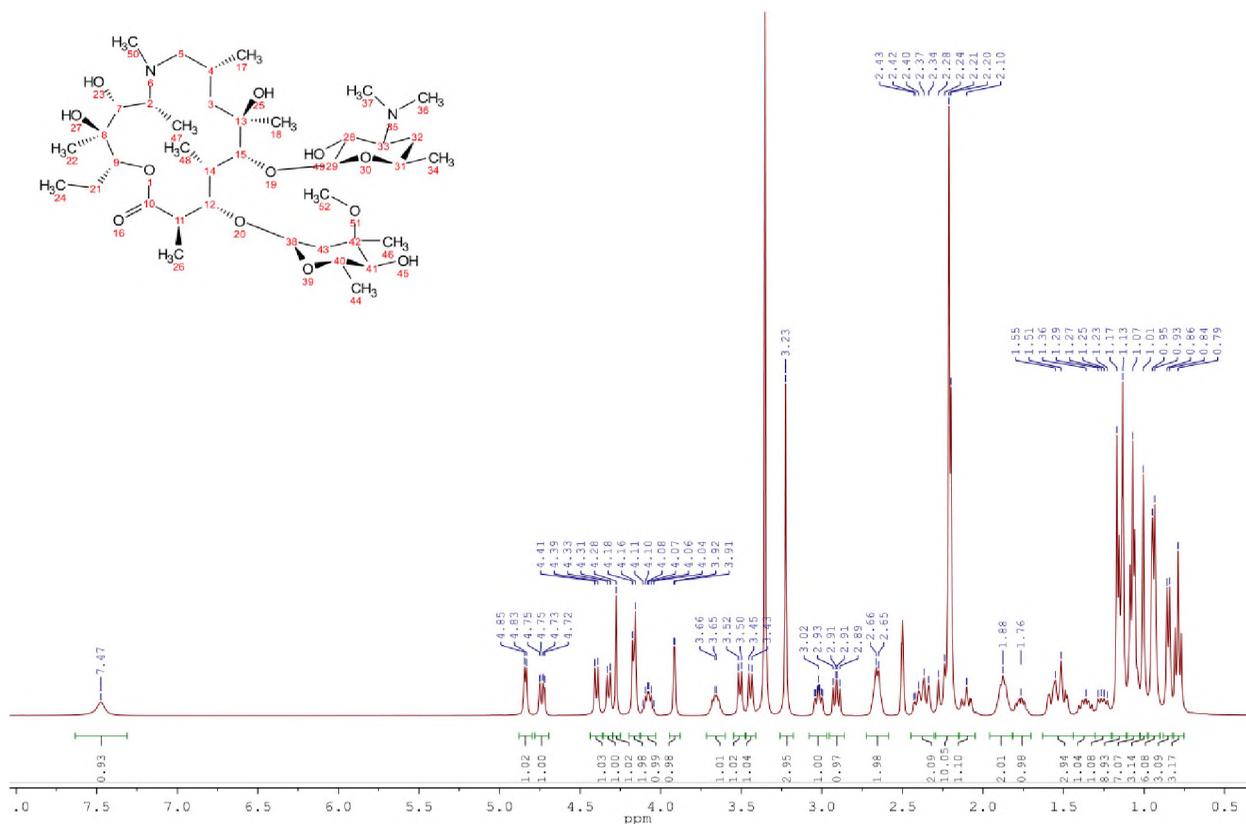


Рис. 4. Спектр ЯМР  $^1\text{H}$  образца азитромицина в ДМСО- $d_6$   
Fig. 4.  $^1\text{H}$  NMR spectrum of an azithromycin sample in DMSO- $d_6$

Таблица 3. Описание и отнесение сигналов в спектре ЯМР  $^1\text{H}$  образца азитромицина  
Table 3. Description and assignment of signals in the  $^1\text{H}$  NMR spectrum of an azithromycin sample

Химический сдвиг, м. д.	Мультиплетность	КССВ J, Гц	Количество протонов	Отнесение
0,79	Т	7,4	3	24
0,85	Д	6,7	3	17
0,90–0,97	М	-	6	47, 48
1,01	С	-	3	22
1,03–1,11	М	-	7	26, 34, 32
1,11–1,20	М	-	9	18, 44, 46
1,26	Дд	14,6, 8,0	1	3
1,31–1,44	М	-	1	21
1,44–1,63	М	-	3	3', 32', 43
1,70–1,82	М	-	1	21'
1,83–1,95	М	-	2	4, 14

Окончание табл. 3  
End of Table 3

Химический сдвиг, м. д.	Мультиплетность	КССВ J, Гц	Количество протонов	Отнесение
2,03–2,14	М	-	1	5
2,16–2,29	М	-	10	36, 37, 50, 43'
2,31–2,44	М	-	2	5', 33
2,61–2,72	М	-	2	2, 11
2,91	Дд	9,4, 7,4	1	41
2,98–3,07	М	-	1	28
3,23	С	-	3	52
3,44	Д	8,0	1	7
3,51	Д	7,0	1	15
3,60–3,71	М	-	1	31
3,91	Д	2,0	1	49
4,03–4,12	М	-	1	40
4,13–4,19	М	-	2	12, 45
4,28	С	-	1	27
4,32	Д	7,9	1	23
4,40	Д	7,3	1	29
4,74	Дд	10,0, 2,8	1	9
4,84	Д	4,7	1	38
7,47	уш. С	-	1	25

\* с – синглет, д – дублет, т – триплет, м – мультиплет, дд. – дублет дублетов, уш.с – уширенный синглет

Также сигнал на 21,0 представляет собой наложение двух сигналов, один из которых относится к метиленовой группе (С21), что становится видно благодаря эксперименту DEPT135 (рис. 5).

Также с помощью этого спектра становится возможным идентификация и отнесение других метиленовых групп (С3, С5, С32, С43) и четвертичных атомов углерода (С8, С10, С13, С42). Самый слабый из них (177,1 м. д.) относится к углероду карбонильной группы (С10). Сигналы на 94,5 и 102,2 м. д. относятся к атомам углерода, связанным с двумя атомами кислорода (С28 и С29).

Положение и мультиплетность сигналов на спектрах ЯМР <sup>1</sup>Н и <sup>13</sup>С образца азитромицин не противоречит химическому строению соединения. Полученные

значения химических сдвигов ЯМР <sup>1</sup>Н и <sup>13</sup>С различных серий образцов азитромицина совпадают (расхождение не превышает 0,01 м. д.).

На масс-спектре образцов всех серий обнаружен пик протонированного молекулярного иона m/z [С38Н72N2O12+Н] +=749,8 (рис. 7), это значение соответствует расчетному, [М+Н] +=749,5 [6].

### Заключение

В результате проведенного исследования была разработана методика идентификации СО азитромицина с использованием трех различных физико-химических методов.

Полностью подтверждено строение азитромицина по положению основных полос поглощения ИК-спектра.

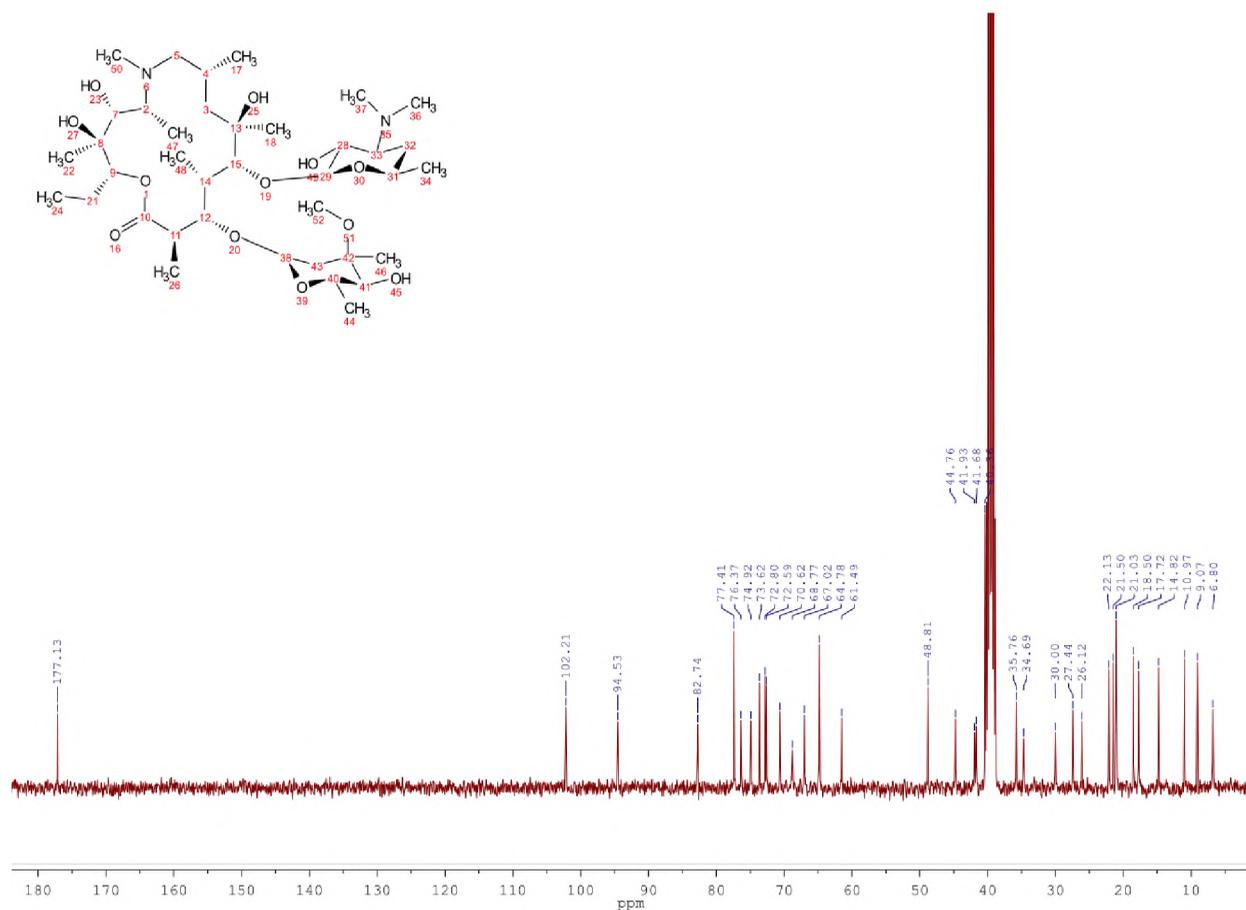


Рис. 5. Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  образца азитромицина в ДМСО- $d_6$   
 Fig. 5.  $^{13}\text{C}$  NMR spectrum of an azithromycin sample in DMSO- $d_6$

Таблица 4. Значения величин относительного химического сдвига и отнесение сигналов в спектре ЯМР  $^{13}\text{C}$  образца азитромицина

Table 4. The values of the relative chemical shift and the assignment of signals in the  $^{13}\text{C}$  NMR spectrum of the azithromycin sample

$\delta^{13}\text{C}$ , м. д.	Отнесение	$\delta^{13}\text{C}$ , м. д.	Отнесение
6,8	47, 48	44,8	11
9,1		48,8	52
11,0	22, 24, 26, 44	61,5	2, 31, 33, 40
14,8		64,8	
17,7		67,0	
18,5		68,8	5
20,99	21	70,6	28

Окончание табл. 4  
End of Table 4

$\delta^{13}\text{C}$ , м. д.	Отнесение	$\delta^{13}\text{C}$ , м. д.	Отнесение
21,03	17, 34, 46	72,6	8, 13, 42
21,5		72,8	
22,1		73,6	
26,1	4, 18	74,9	7, 9, 12, 41
27,4		76,4	
30,0	32, 43	77,4	
34,7		82,7	
35,8	50	94,5	38
40,4	36, 37	102,2	29
41,7	14	177,1	10
41,9	3	-	-

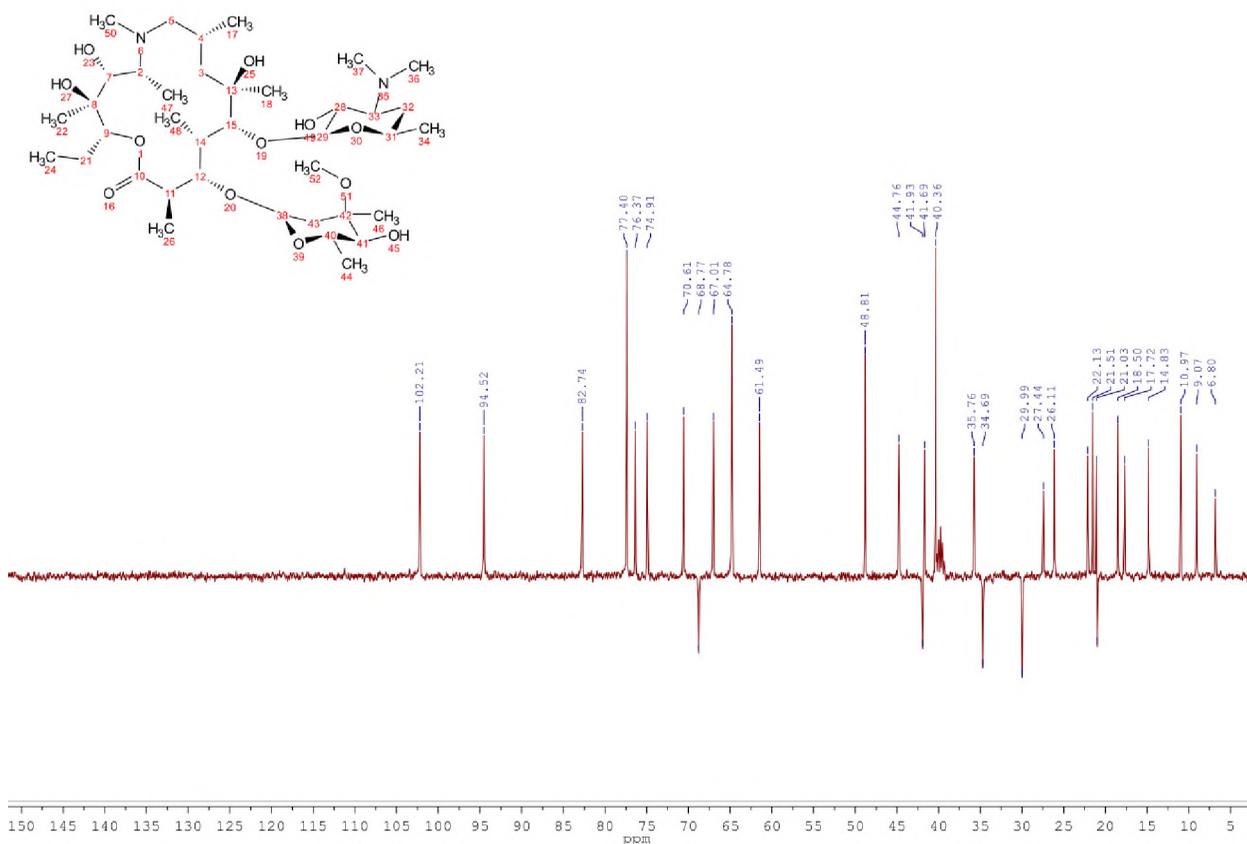


Рис. 6. Спектр ЯМР  $^{13}\text{C}$  DEPT135 образца азитромицина в ДМСО- $d_6$   
Fig. 6. NMR spectrum  $^{13}\text{C}$  DEPT 135 of an azithromycin sample in DMSO- $d_6$

L#0178 #737-753 RT: 10.60-10.83 AV: 17 SB: 42 10.38-10.60, 10.81-11.17 NL: 1.02E6  
T: + c ESI Q I MS [25.000-2000.000]

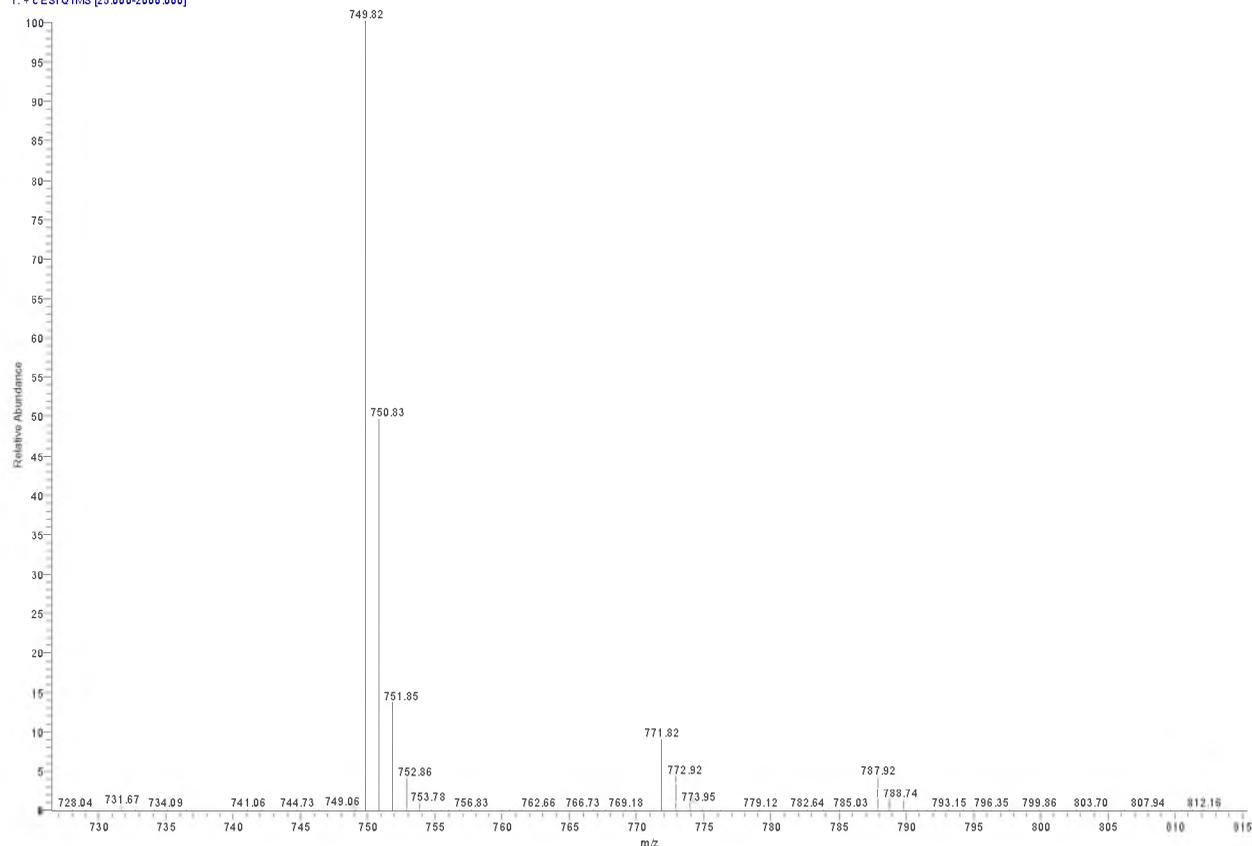


Рис. 7. Масс-спектр образца азитромицина (ВЭЖХ–МС, HESI+)

Fig. 7. Mass spectrum of the azithromycin sample (HPLC–MS, HESI+)

Положение и мультиплетность сигналов на спектрах ЯМР  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$  образца азитромицин не противоречат химическому строению соединения. Доказано, что спектроскопия ЯМР на ядрах  $^{13}\text{C}$  с развязкой от протонов является более удобной и информативной для идентификации азитромицина. На масс-спектре образца обнаружен пик протонированного молекулярного иона  $m/z$   $[\text{C}_{38}\text{H}_{72}\text{N}_{20}\text{O}_{12}+\text{H}]^+ = 749,8$ , который также соответствует химической структуре Азитромицина.

Полученные в ходе исследований результаты позволяют надежно идентифицировать структуру азитромицина благодаря сочетанию нескольких различных физико-химических методов.

Стандартизация состава азитромицина остается перспективной темой для исследования, так как разработка стандартного образца помимо идентификации включает в себя также установление аттестованных значений величин, характеризующих содержание определяемых компонентов в веществе и исследование однородности и стабильности.

### Благодарности

Авторы выражают благодарность Первому заместителю директора Полякову Сергею Викторовичу, сотрудникам лаборатории аналитических методов исследования ФБУ «Государственный институт лекарственных средств и надлежащих практик» Минпромторга России, а также сотрудникам ООО «Национальный центр стандартных образцов».

### Вклад соавторов

Гегечкори В. И., Щепочкина О. Ю.: обсуждение, анализ и обработка экспериментальных данных, подготовка текста статьи.

Шульга Н. А.: анализ литературных данных.

Гороховец Н. В.: получение и анализ экспериментальных данных, доработка текста статьи.

Шестаков В. Н., Левко А. А.: общее руководство проведения исследований.

Чадова Н. Н.: редакция текста статьи.

**Конфликт интересов**

Материал статьи подготовлен на основе доклада, представленного на IV Международной научной конференции «Стандартные образцы в измерениях и технологиях» (С.–Петербург, 1–3 декабря 2020 г.). Материал статьи допущен к публикации после доработки материалов тезисов доклада, оформления статьи и проведения процедуры рецензирования.

Переводная версия статьи на английском языке планируется к публикации в книге *Medvedevskikh S., Sobina E., Kremleva O., Okrepilov M. (eds.). Reference Materials in Measurement and Technology. RMMT 2020. Switzerland: Springer, Cham.*

**ЛИТЕРАТУРА**

1. Современные подходы к разработке стандартных образцов лекарственных средств / О. Ю. Щепочкина [и др.] // Химико-фармацевтический журнал. 2020. Т. 54 № 7. С. 49–54. <https://doi.org/10.30906/0023-1134-2020-54-7-49-54>
2. Дорощев В. Л., Арзамасцев А. П. Стандартные образцы для фармакопейного анализа // Вопросы биологической, медицинской и фармацевтической химии. 2010. Т. 8. № 5. С. 6–10.
3. ГОСТ Р ИСО 9001–2015 Системы менеджмента качества. Требования. М.: Стандартинформ, 2020.
4. ГОСТ ISO Guide 35–2015 Стандартные образцы – Общие и статистические принципы сертификации (аттестации). М.: Стандартинформ, 2016. 61 с.
5. Веселов А. В., Козлов Р. С. Азитромицин: современные аспекты клинического применения // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2006. Т. 8. № 1. С. 18–32.
6. Exact Mass Calculator, Single Isotope Version // Scientific instrument services [website]. URL: <https://www.sisweb.com/referenc/tools/exactmass.htm?> (дата обращения: 12.01.2021)
7. Государственная фармакопея Союза Советских Социалистических Республик. 10-е изд. М.: Медицина, 1968. 1079 с.
8. Государственная фармакопея Российской Федерации. XIV изд. М.: // Федеральная электронная медицинская библиотека Министерства здравоохранения Российской Федерации [Сайт]. URL: <http://www.femb.ru> (дата обращения: 12.01.2021).
9. European Pharmacopoeia. 8th Ed. European Department for the Quality of Medicines. Strasbourg, France: European Department for the Quality of Medicines; 2017.
10. British Pharmacopoeia 2016. London: H. M. Stationary Office; 2015. 1276 p.
11. The United States Pharmacopoeia 40 – National Formulary 35, Reissue. 2018.
12. Разработка методики определения тяжелых металлов в стандартных образцах препаратов пептидной структуры с применением метода атомно-абсорбционной спектроскопии / Гегечкори В. И [и др.] // Естественные и технические науки. 2015. Т. 10. № 88 С. 201–205.
13. Применение спектроскопии ЯМР  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$  в анализе стандартных образцов для лекарственных средств пептидной структуры Дилепт и ГБ-115/ Гегечкори В. И [и др.] // Биофармацевтический журнал. 2016. Т. 8. № 3. С. 37–43.
14. Применение метода газо-жидкостной хроматографии в контроле качества стандартных образцов препаратов пептидной структуры / Гегечкори В. И [и др.] // Биофармацевтический журнал. 2015. Т. 7. № 6. С. 43–48.
15. ГОСТ ISO Guide 33–2019 Стандартные образцы. Надлежащая практика применения стандартных образцов. М.: Стандартинформ, 2019.
16. ISO/TR10989:2009: Reference materials – Guidance on, and keywords used for, RM categorization // ISO [website]. URL: <https://www.iso.org/standard/46526.html> (дата обращения: 12.01.2021)
17. Brennan R. J., Barber J. Full assignments of the  $^{13}\text{C}$  and  $^1\text{H}$  NMR spectra of azithromycin in buffered D $_2$ O and DMSO- $d_6$  // Magnetic resonance in chemistry. 1992. Vol. 30. Iss. 4. pp. 327–333. <https://doi.org/10.1002/mrc.1260300410>

**REFERENCES**

1. Shchepochkina O. Y., Gegechkori V. I., Prokof'eva V. I., Chepilo D. A., Levko A. A., Chadova N. N., Shestakov V. N. Modern approaches to the development of standard samples of drugs. *Pharmaceutical chemistry journal*. 2020;54(7):761–765. <https://doi.org/10.1007/s11094-020-02267-y>
2. Dorofeev V. L., Arzamastsev A. P. Reference samples for pharmacopoeial analysis. *Problems of biological, medical and pharmaceutical chemistry*. 2010; 8(5): 6–10. (In Russ.).
3. GOST R ISO 9001–2015 Quality management systems. Requirements. Moscow: Standartinform; 2020. (In Russ.).
4. GOST ISO Guide 35–2015 Reference materials. General and statistical principles for certification. Moscow: Standartinform; 2016. (In Russ.).
5. Veselov A. V., Kozlov R. S. Azithromycin: modern aspects of clinical application. *Clinical microbiology and antimicrobial chemotherapy*. 2006; 8(1):18–32. (In Russ.).
6. Exact Mass Calculator, Single Isotope Version. Available at: <https://www.sisweb.com/referenc/tools/exactmass.htm?> (date of access: 12.01.2021).
7. State Pharmacopoeia of the Union of Soviet Socialist Republics. 10th ed. Moscow: Medicine, 1968. 1079 p. (In Russ.).
8. State Pharmacopoeia of the Russian Federation. XIV ed. Moscow. Available at: <http://www.femb.ru> (date of access: 12.01.2021).

9. European Pharmacopoeia. 8th Ed. European Department for the Quality of Medicines. Strasbourg, France: European Department for the Quality of Medicines; 2017.
10. British Pharmacopoeia 2016. London: H. M. Stationary Office; 2015. 1276 p.
11. The United States Pharmacopoeia 40 – National Formulary 35, Reissue. 2018.
12. Gegechkori V. I., Shchepochkina O. Iu., Pyatin B. M., Grushevskaya L. N. Development of a method for the determination of heavy metals in standard samples of preparations of peptide structure using the method of atomic absorption spectrometry. *Natural and technical sciences*. 2015;10(88): 201–205. (In Russ.).
13. Gegechkori V. I., Kokorekin V. A., Shchepochkina O. Yu., Piatin B. M., Grushevskaya L. N., Avdunina N. I., Gaevaya L. I. Application of <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C nmr spectroscopy in the analysis of reference standards of dilept and GB-115, medicinal products of peptide structure. *Russian Journal of Biopharmaceuticals*. 2016; 8(3): 37–43. (In Russ.).
14. Gegechkori V. I., Shchepochkina O. Yu., Rodionova G. M., Grushevskaya L. N., Piatin B. M. Use of gas chromatography in quality control of reference standards of medicinal products of peptide structure. *Russian Journal of Biopharmaceuticals*. 2015;7(6):43–48. (In Russ.).
15. GOST ISO Guide 33–2019 Reference materials. Good practice in using reference materials. Moscow: Standartinform; 2019. (In Russ.).
16. ISO/TR10989:2009: Reference materials – Guidance on, and keywords used for, RM categorization. Available at: <https://www.iso.org/standard/46526.html>
17. Brennan R. J., Barber J. Full assignments of the <sup>13</sup>C and <sup>1</sup>H NMR spectra of azithromycin in buffered D<sub>2</sub>O and DMSO-d<sub>6</sub>. *Magnetic resonance in chemistry*. 1992; 30(4):327–333. <https://doi.org/10.1002/mrc.1260300410>

## ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

**Владимир Ираклиевич Гегечкори** – канд. фарм. наук, доцент кафедры фармацевтической и токсикологической химии им. А. П. Арзамасцева Института фармации им. А. П. Нелюбина ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет)», ФБУ «Государственный институт лекарственных средств и надлежащих практик». Россия, 121019, г. Москва, Никитский бул., д. 13, стр. 1  
e-mail: [vgegechkori@gmail.com](mailto:vgegechkori@gmail.com)  
ResearcherID AAD-2259–2019

**Николай Андреевич Шульга** – лаборант кафедры фармацевтической и токсикологической химии им. А. П. Арзамасцева Института фармации им. А. П. Нелюбина ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет)». Россия, 121019, г. Москва, Никитский бул., д. 13, стр. 1

**Ольга Юрьевна Щепочкина** – канд. фарм. наук, доцент кафедры фармацевтической и токсикологической химии им. А. П. Арзамасцева Института фармации им. А. П. Нелюбина ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет). Россия, 121019, г. Москва, Никитский бул., д. 13, стр. 1  
e-mail: [shchepochkina\\_o\\_yu@staff.sechenov.ru](mailto:shchepochkina_o_yu@staff.sechenov.ru)

## INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

**Vladimir I. Gegechkori** – PhD (Farm.), associate professor of the department of pharmaceutical and toxicological chemistry A. P. Arzamastsev institute of pharmacy A. P. Nelyubina. I. M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation (Sechenov University), State Institute of Drugs and Good Practices. 13 Nikitsky blvd., building 1, Moscow, 121019, Russia  
e-mail: [vgegechkori@gmail.com](mailto:vgegechkori@gmail.com)  
ResearcherID AAD-2259–2019

**Nikolai A. Shulga** – laboratory assistant at the Department of Pharmaceutical and Toxicological Chemistry named after A. P. Arzamastsev Institute of Pharmacy. A. P. Nelyubina. I. M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation (Sechenov University), State Institute of Drugs and Good Practices. 13 Nikitsky blvd., building 1, Moscow, 121019, Russia

**Olga Iu. Shchepochkina** – PhD (Farm.), associate professor of the department of pharmaceutical and toxicological chemistry A. P. Arzamastsev institute of pharmacy A. P. Nelyubina. I. M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation (Sechenov University). 13 Nikitsky blvd., building 1, Moscow, 121019, Russia  
e-mail: [shchepochkina\\_o\\_yu@staff.sechenov.ru](mailto:shchepochkina_o_yu@staff.sechenov.ru)

**Неонила Васильевна Гороховец** – канд. биол. наук, ведущий научный сотрудник лаборатории молекулярной биологии и биохимии ФГАОУ ВО «Первый МГМУ им. И. М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет)».

Россия, г. Москва

Трубецкая ул., 8, стр. 2

e-mail: gorokhovets\_n\_v@staff.sechenov.ru

ORCID 0000-0003-4542-2007

**Левко Анатолий Анатольевич** – канд. мед. наук, заместитель начальника управления по инспектированию производства лекарственных средств и экспертизе ФБУ «Государственный институт лекарственных средств и надлежащих практик» Минпромторга России.

Россия, 109044, г. Москва,

Лавров пер., д. 6

ORCID 0000-0002-0129-9871

**Чадова Наталия Николаевна** – канд. хим. наук, начальник управления по инспектированию производства лекарственных средств и экспертизе ФБУ «Государственный институт лекарственных средств и надлежащих практик» Минпромторга России.

Россия, 109044, г. Москва,

Лавров пер., д. 6

**Шестаков Владислав Николаевич** – директор ФБУ «Государственный институт лекарственных средств и надлежащих практик» Минпромторга России.

Россия, 109044, г. Москва,

Лавров пер., д. 6

ORCID 0000-0002-6507-7530

**Neonila V. Gorokhovets** – PhD (Biol.), leading researcher, laboratory of molecular biology and biochemistry I. M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation (Sechenov University).

8 Trubetskaya str., bldg. 2,

Moscow, Russia

e-mail: gorokhovets\_n\_v@staff.sechenov.ru

ORCID 0000-0003-4542-2007

**Anatolii A. Levko** – PhD (Med.), deputy head of the department for inspection of production of medicines and expertise State Institute of Drugs and Good Practices.

6 Lavrov lane, Moscow, 109044,

Russia

ORCID 0000-0002-0129-9871

**Nataliia N. Chadova** – PhD (Chem.), head of the department for inspection of production of medicines and expertise State Institute of Drugs and Good Practices.

6 Lavrov lane, Moscow, 109044,

Russia

**Vladislav N. Shestakov** – director State Institute of Drugs and Good Practices.

6 Lavrov lane, Moscow, 109044,

Russia

ORCID 0000-0002-6507-7530