

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я**

**НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ**

**О.О.БОГОМОЛЬЦЯ**

**ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ ФАКУЛЬТЕТ**

**ХІМІЇ ЛІКІВ ТА ЛІКАРСЬКОЇ ТОКСИКОЛОГІЇ**

(назва кафедри)

**ВИПУСКНА КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА**

на тему «Кларитроміцин як діюча речовина протимікробних лікарських засобів та удосконалення методики його фармацевтичного аналізу методом ВЕРХ»

Виконав: здобувач вищої освіти 3 курсу, групи Б1А  
напряму підготовки (спеціальності)

226 «Фармація, промислова фармація»

(шифр і назва напряму підготовки, спеціальності)

Фармацевтичний факультет, заочна форма навчання

Освітньо-кваліфікаційний рівень «магістр»

«Фармація»

(назва освітньої програми)

Семенюк Анна Станіславівна

(прізвище та ініціали)

Керівник: к.б.н., ас. Мелешко Р.А.

(науковий ступінь, вчене звання, прізвище та ініціали)

Рецензент: доцент, к.фарм.н. Негода Т.С.

(науковий ступінь, вчене звання, прізвище та ініціали)

**Київ – 2023-2024 р.р.**

## ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ.....	3
ВСТУП.....	5
ОСНОВНА ЧАСТИНА.....	8
РОЗДІЛ 1. ОСОБЛИВОСТІ ХІМІЧНОЇ БУДОВИ ТА ВЛАСТИВОСТІ ЕРИТРОМІЦИНІВ.....	8
1.1. Особливості хімічної будови еритроміцинів.....	8
1.2. Біологічна активність еритроміцинів.....	11
РОЗДІЛ 2. ОСОБЛИВОСТІ СИНТЕЗУ ТА ФАРМАЦЕВТИЧНОГО АНАЛІЗУ КЛАРИТРОМІЦИНУ.....	18
2.1. Синтез, фармакопейні вимоги до аналізу якості кларитроміцину.....	18
РОЗДІЛ 3. ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА.....	28
ВИСНОВКИ.....	34
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	35
SUMMARY.....	40
ДОДАТОК 1.....	41

## ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

ВЕРХ – високоефективна рідинна хроматографія

г – грам

ГМДС – гексаметилдисилоксан

ГРХ – газо-рідинна хроматографія

ДФУ – Державна Фармакопея України

ДМСО – диметилсульфоксид

ДМФА – диметилформамід

ІЧ спектр – інфрачервоний спектр

мкл – мікролітр

мкм – мікрометр

мл – мілілітр

ММ – молекулярна маса

НРФ – нерухома рідка фаза

нм – нанометр

РХ – рідинна хроматографія

см<sup>-1</sup> – обернений сантиметр

Спектр ПМР – спектр протонно-магнітного резонансу

ТМС – тетраметилсілан

ТГФ – тетрагідрофуран

T. кип. – температура кипіння

T. пл. – температура плавлення

УФ спектр – ультрафіолетовий спектр поглинання

ЯМР  $^1\text{H}$  – спектр ядерно-магнітного резонансу протонний

Alk – алкіл-радикал

Ar – арил-радикал

$^{\circ}\text{C}$  – градуси Цельсія

DM – Декстрометорфан

Hal – галоген

Heterocycl– гетероциклічний фрагмент

J, Гц – значення константи спінової взаємодії, герци

NMDA – N-метил-d-аспартату

## ВСТУП

### *Актуальність теми.*

Антибіотики увійшли у життя людей та стали необхідними для збереження їх здоров'я і життя. Історія застосування антибіотиків у лікуванні людства має глибоке коріння. Стародавні цивілізації, наприклад, стародавні єгиптяни та греки, використовували плісняву або деякі рослини для лікування інфекцій. Так, ці засоби основою для створення антибіотиків. У Древньому Єгипті, Китаю, Індії використовували пліснявий хліб для дезінфекції, наприклад, для лікування ран або гнійників.

Тільки у 1928 році Олександр Флемінг ізолював перший антибіотик. У 1938 році вчені із Оксфордського університету Говард Флорі та Ернст Чейн синтезували стійку сіль пеніцилінової кислоти. Під час Другої світової війни фіксувалися величезні потреби у в медикаментах. Масове виробництво антибіотиків почалося лише у 1943 році. У 1945 році вчені Флемінг, Флорі і Чейн за наукові розробки антибіотиків отримали Нобелівську премію.

Основними джерелами отримання антибіотиків є актиноміцети (виробляють близько 80% природних антибіотиків), плесні гриби і типові бактерії. На сьогоднішній день науці відомо про 30 000 антибіотиків природного походження, але це все не означає, що всі існуючі нині антибіотики виробляються живими клітинами. Учені-хіміки ще з 60-х років навчилися істотно покращувати протимікробні властивості антибіотиків, вироблених природними мікроорганізмами, модифікуючи їх хімічними методами. Отримані таким чином препарати відносяться до напівсинтетичних антибіотиків. З усього арсеналу антибіотиків у медичних цілях використовують всього близько ста.

За умов використання напівсинтетичних антибіотиків гостро стає питання чистоти отриманих напівсинтетичних антибіотиків. Наукові

дослідження показують, що при виробництві напівсинтетичних антибіотиків досить часто субстанції містять супровідні домішки у кількостях, що перевищують допустимий ліміт (встановлений на 3%). Як результат, змінюється біодоступність препарату та змінюється специфічна антибактеріальна активність, зменшується концентрація діючої речовини в тканинах та ослаблюється терапевтичний ефект [1-6].

Нашу увагу привернула субстанція кларитроміцину. Це антибіотик, макролід, похідний еритроміцину, що використовується для лікування бактеріальної інфекцій.

*Мета і завдання дослідження.* Метою експериментального дослідження є адаптація та підбір умов для проведення дослідження супровідних домішок субстанції кларитроміцину методом висоефективної рідинної хроматографії

*Завдання експериментального дослідження:*

- розробити методику визначення супровідних домішок кларитроміцину методом ВЕРХ з урахуванням підбору та властивостей нерухомої фази (хроматографічних колонок)
- підібрати оптимальні параметри рухомої фази для отримання розділення піків супровідних домішок кларитроміцину в межах, дозволених ДФУ.
- провести хроматографічне дослідження методом ВЕРХ супровідних домішок кларитроміцину та оцінити отримані результати

*Методи дослідження.* Високоєфективна рідинна хроматографія на хроматографі Agilent 1260 Infinity II з УФ детектором, колонка – ZORBAX EclipsePlus C18, 150 мм x 4,6 мм, 5 мкм; комп'ютерний аналіз за програмою OpenLab CDS.

*Новизна та значення одержаних результатів.* Новизна експериментального дослідження полягає розробці коректних умов хроматографування методом ВЕРХ субстанції кларітроміцину.

*Апробація результатів дослідження.* Результат досліджень апробовано на науково-практичній конференції з міжнародною участю «Фармацевтична освіта, наука та практика: стан, проблеми, перспективи розвитку», присвяченій 25-річчю фармацевтичного факультету Національного медичного університету імені О.О. Богомольця, 19-20 грудня 2023 р.

*Публікації:* За матеріалами дослідження подані до публікації 1 тези доповіді.

*Структура роботи:* загальну кількість сторінок – 41, кількість розділів – 3, кількість додатків – 1, кількість використаних джерел – 35.

## ОСНОВНА ЧАСТИНА

### РОЗДІЛ 1. ОСОБЛИВОСТІ ХІМІЧНОЇ БУДОВИ ТА ВЛАСТИВОСТІ ЕРИТРОМІЦИНІВ

#### 1.1. Особливості хімічної будови еритроміцинів

Серед представників нового покоління макролідів інтерес в останні роки викликає кларитроміцин — кислотостійкий оральний протимікробний препарат, структурно пов'язаний з еритроміцином. Патент на кларитроміцин був отриманий японською фірмою Taisho в 1979 році, в 1985 році було підписано угоду з фірмою Abbot про право поширення антибіотиків в межах Японії. В 1991 р. кларитроміцин отримав схвалення FDA. Як відомо, кларитроміцин є напівсинтетичним макролідним протимікробним препаратом. Він складається з 14-членного лактонового кільця, пов'язаного з двома цукрами, і відрізняється від еритроміцину О-метильним розміщенням у положенні 6 лактонового кільця, яке визначає кислотостійкість і покращує протимікробні і фармакокінетичні властивості препарату (рис.1.1.1) [7-10].

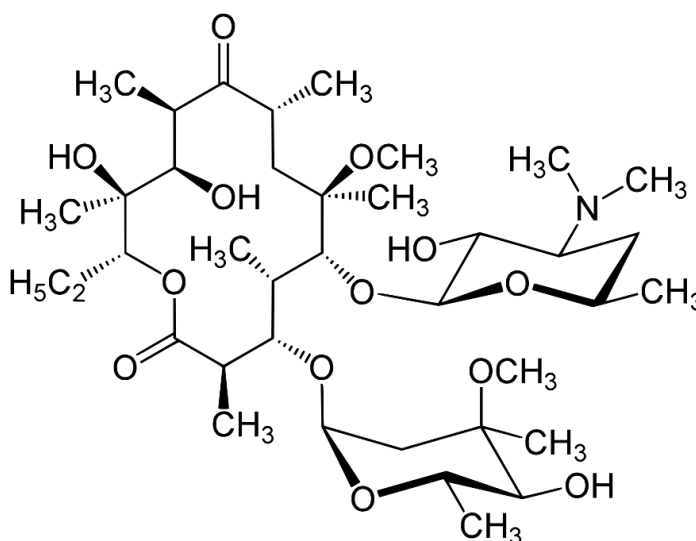


Рисунок 1.1.1. Структурна формула кларитроміцину



Механізм впливу кларитроміцину на бактеріальна клітина полягає в ефективному блокуванні синтезу білкових структур на рівні розщеплення поліпептидного ланцюга в бактеріальних рибосомах. Антибактеріальний ефект кларитроміцину та його 14-гідроксиметаболіту, як і інших макролідів, зумовлених порушенням синтезу білка в мікробній клітині.

В результаті чого відбувається заторможення з 50S-об'єднаних рибосом і інгібування реакцій транслокації і транспептидації пептидного ланцюга. Це призводить до пригнічення синтезу білка.

Проникнення антибіотика всередині клітин забезпечує перевагу кларитроміцину при лікуванні інфекцій, що визивуються мікроорганізмами, які розмножуються всередині клітин господаря – хламідіями, легіонеллою, токсоплазмою. Кларитроміцин активно накоплюється в поліморфноядерних лейкоцитах, лімфоцитах і макрофагах. Відмічено краще проникнення кларитроміцину в лейкоцити в порівнянні з еритроміцином, джозаміцином і рокситроміцином, що свідчить про можливість посилення внутрішньоклітинної протимікробної активності. Спостерігається також підсилення кларитроміцином активності Т-кілерів [11-18].

Дослідження з використанням електронної мікроскопії свідчать, що макролід порушує цілісність зовнішнього шару і цитоплазматичної оболонки клітини мікобактерій. Це призводить до вакуолізації цитоплазми з солюбілізацією рибосом і наступним плазмолізисом.

Кларитроміцин є потужним інгібітором повторного росту бактерій.

Кларитроміцин, як і еритроміцин, має широкий спектр протимікробної активності і надає дію як на грампозитивні, так і на грамнегативні мікроорганізми, атипічні збудники та деякі анаероби. У порівнянні з еритроміцином, кларитроміцину властива більш висока активність *in vitro* у відношенні до деяких патогенних збудників, включаючи *Bacteroides*

*melaninogenicus*, *Chlamydia pneumoniae*, *Chlamydia trachomatis*, підвиди *Mycobacterium chelonae*, *Mycobacterium leprae*, *Mycobacterium marinum*, *Mycobacterium avium complex*, *Legionella spp* [19-22].

Порівняльна протимікробна активність кларитроміцину та антибіотиків інших груп наведена в табл.1.1.1.

Таблиця 1.1.1.

Спектр протимікробної активності антибактеріальних препаратів різних груп

Препарат	Мікроорганізми							
	<i>S. pyogenes</i>	<i>S. pneumoniae</i>	<i>H. influenzae</i>	<i>L. pneumophila</i>	<i>M. pneumoniae</i>	<i>Chlamydia spp</i>	<i>M. Catarrhalis</i>	<i>Staph. aureus</i>
Кларитроміцин	+	+	+	+	+	+	+	+
Пеніцилін	+	+	+/-	-	-	-	-	+/-
Клавуланат	+	+	+	-	-	-	+	+
Цефаклор	+	+	+	-	-	-	+/-	+
Цефалексин	+	+	+	-	-	-	-	+
Доксициклін	-	+	+	+	+	+	+	+
Ципрофлоксацин	-	-	+	+	-	+	+	-
Офлоксацин	-	-	+	+	-	+	+	-

## 1.2. Біологічна активність еритроміцинів

Фармакокінетичні властивості.

Кларитроміцин швидко всмоктується з травного тракту, особливо дуже добре при прийомі у вигляді суспензії. Прийом їжі істотно впливає з його всмоктування [13]. Максимальна концентрація кларитроміцину в плазмі після одноразового прийому препарату в дозі 200 мг становить 0,62-0,84 мг/л, що відрізняє його від еритроміцину. Максимальні концентрації досягається через 1 год (при прийомі 250 мг) або 2 год (при прийомі 500 мг), які складають 1 мг/л і 2,41 мг/л відповідно.

Після повторного прийому п'яти доз кларитроміцину спостерігається утворення у крові його постійної (стаціонарної) концентрації. У стаціонарній стадії  $C_{max}$  кларитроміцину дорівнюють 2-3 мг/л (прийом 250-500 мг) [13]. При повторному прийомі (200 мг двічі на день) два тижні не спостерігається кумуляція кларитроміцину у крові.

Якщо вживають різні дози, то показники  $C_{max}$  та AUC збільшуються пропорційно до підвищення дози [9].

Хоча максимальні концентрації кларитроміцину та еритроміцину в сироватці крові досягаються протягом 2 годин після прийому, її величина для кларитроміцину (1,07 мг/л) була майже в 3 рази вище за таку для еритроміцину (0,38 мг/л).

Площа під фармакокінетичною кривою кларитроміцину (7,18 мг/л\*ч) була в 5 разів більшою за еритроміцин. (1,34 мг/л\*год).

Ці відмінності пояснюються утворенням безводної форми еритроміцину, що відбувається в травному тракті і несприятливо відображається на біодоступності препарату.

Метаболізм кларитроміцину включає в себе окислювальні та гідролітичні механізми.

Основні шляхи біотрансформації макроліду:

1. Окисне N-деметилування;
2. Гідроксилювання у положенні 14 лактонового кільця;
3. Гідролітичне видалення кладинози.

Перші два шляхи мають найбільше значення в метаболізмі кларитроміцину. Гідроксилювання в положенні 14 лактонового кільця має стереоспецифічність, так як мікробіологічно активний головний метаболіт, 14-гідрокси(Р)кларитроміцин утворюється в менших кількостях, ніж 14-гідрокси(8)епімер.

Вторинні метаболіти виявляються в калі та сечі. Виведення з сечею має особливе клінічне значення, оскільки 32% дози в сечі складаються з незміненого препарату та активного 14-гідрокси(Р)метаболіту [12, 15]. Останній виявляється у плазмі у значних концентраціях.

Період напіввиведення кларитроміцину після однократного прийому становить 26-46 годин; цей показник вище для 14-гідроксикларитроміцину - 3,9-6,6 год [11].

Ці дані значно відрізняються від значень, які отримано щодо вживання еритроміцину (до 2,4 год) у терапевтичних дозах [15]. Для кларитроміцину значення загального кліренсу коливаються від 22 до 64 л/год [11].

Кларитроміцин елімінує із організму з сечею – це складає 18-36%. 14-гідроксикларитроміцин виводиться на 9,6-12%. Таким чином, сеча містить високі концентрації кларитроміцину і їх можна виявити.

Кларитроміцин частково у вигляді метаболіту виводиться з фекаліями – це 6,6% (кларитроміцин) та 11,3% (його метаболіт). Фармакокінетика кларитроміцину у дітей від 6 місяців до 10 років аналогічна до фармакокінетики дорослих.

Середній період напіввиведення кларитроміцину у дітей у 2 рази менше, якщо порівнювати з дорослими. У людей похилого віку (вік 65-84 р)  $C_{max}$  кларитроміцину та його метаболіту 14-гідроксикларитроміцину і АUC

значно вищі. Нирковий кліренс є, також, нижчим, ніж у молодих людей (вік 18-30 р) [19].

Збільшення показників  $C_{\max}$  кларитроміцину (кровь), AUC, пролонгація  $T_{1/2}$ , зниження константи швидкості елімінації, спостерігалися у хворих з тяжким порушенням функції нирок, які корелювали зі ступенем ниркової недостатності.

Цікаво, що суттєвих змін фармакокінетики кларитроміцину не спостерігалося у хворих із захворюваннями печінки. Відзначалися зміни показників  $C_{\max}$  та AUC його метаболіту – 14-гідрокси-кларитроміцину [11].

У порівнянні з азитроміцином очевидна відмінність у їх фармакінетиці. По перше, найвища концентрація в сироватці крові ( $C_{\max}$ ) азитроміцину після прийому 500 мг дози в п'ять разів нижче тією, яка досягається такою ж дозою кларитроміцину.

Хоча концентрації азитроміцину низькі у сироватці крові, концентрації у тканинах значно вищі. По-друге, остаточний період напіврозпаду азитроміцину достатньо довгий, щоб обмежитись однією дозою на день.

Дозування двічі на день препарату негайної дії кларитроміцину необхідна, тому що остаточний період напіврозпаду становить від 4 до 5 годин [9]. Зв'язування протеїну вище для кларитроміцину (60-70%) в порівнянні з азитроміцином (7-50%).

Кларитроміцин метаболізується до активного метаболіту, 14-гідроксикларитроміцину. Великі дози кларитроміцину призводять до нелінійних збільшень у  $t_{1/2}$  та зоні під кривою залежності "концентрація - час" (AUC) кларитроміцину через насичення шляху метаболізму [21].

Статистичні максимальні концентрації плазми від 3 до 4 мг/л досягаються протягом 3 днів з кларитроміцином, 500 мг, кожні 8-12 годин та період напіввиведення збільшується до 5 – 7 годин [14].

Хоча статистичні максимальні концентрації плазми нижче і досягаються пізніше формулою кларитроміцину пролонгованої дії, ніж такий

самий денною дозою формули з негайною дією, 24-годинна АUC крива еквівалентна тій, що знаходиться між двома формулами, які підтримують дозування один раз на день формулою пролонгованої дії [23].

Кларитроміцин метаболізується у печінці. цитохромними P450 3A4 (CYP3A4) ензимами до активної 14-гідрокси форми та шести додаткових продуктів.

Від 30% до 40% оральної дози кларитроміцину. виділяється із сечею або в незмінному вигляді або як активний 14-гідрокси метаболіт [24].

Залишок виділяється у жовч. У пацієнтів з помірною та серйозною печінковою недостатністю та нормальною функцією нирок, менший метаболізм кларитроміцину до 14-гідрокси форми, що призводить до зменшеної максимальної концентрації у плазмі метаболіту та збільшеного виділення з нирками незміненого кларитроміцину.

Зміни дозування не є необхідні для таких пацієнтів [13].

При першому проходженні через печінку антибіотик піддається вираженій біотрансформації, що знижує системну біодоступність цього лікарського засобу до 55%.

Кларитроміцин відноситься до макролідів. Він має низький ступінь іонізації, розчинний у ліпідах. У зв'язку з цим кларитроміцин добре розподіляється в різних органах та тканинах.

Описано доні щодо об'єму розподілу кларитроміцину. Він коливається від 115 до 266 л. Незважаючи на широкий розподіл кларитроміцину по всьому організму, максимальні його концентрації у тканинах та органах значно вищі, ніж у крові

Кларитроміцин у високих концентраціях виявляється в різних тканинах і рідинах організму (слина, мокрота, виділення із середнього вуха, слизова оболонка бронхів, бронхіальний секрет, слизова оболонка носа, мигдалини, легенева тканина, тканина передміхурової залози та інші), вони у багатьох випадках перевищують сироваткові [9,15].

Як видно з табл.1.2.1, максимальна концентрація кла ритроміцину була вищою в слині та шкірі в порівнянні з такою в плазмі майже в 2 рази, в мигдалинах і слизистій оболонці носа - майже в 4 рази, у легенях - у 6 разів.

Таблиця 1.2.1.

Концентрації кларитроміцину в плазмі, тканинах та тканинної рідини (при вживанні)

Тканина/рідина	Доза	Найбільше значення в тканині чи рідині, мг/л	Найбільше значення в плазмі мг/л	Коефіцієнт тканина/плазма
Легені	500 мг в день, 3 дні	17,47	2,8	6,2
Слизисті оболонки носа	250 мг в день, 3 дні	8,32	2,18	3,8
Миндалини	250 мг в день, 3 дні	6,74	1,8	3,7
Слюна	400 мг в день	4,01	2,1	1,9
Шкіра	200 мг в день	1,47	0,79	1,9

Найкраще кларитроміцин проникає у легені. Так, після прийому кларитроміцину в добовій дозі 250 або 500 мг протягом 3 днів; максимальні концентрації 14-гідроксикларитроміцину в бронхіальному секреті, легень,

слизової оболонки та мигдаликів становили близько половини концентрації кларитроміцину [14,15].

Кларитроміцин добре проникає у різні клітини макроорганізму. Після прийому 500 мг один раз на день або по 250 мг 2 рази на день максимальні концентрації кларитроміцину в мононуклеарних клітинах та поліморфноядерних лейкоцитах перевищували сироваткові у 10-40 разів. Концентрації кларитроміцину та 14-гідроксикларитроміцину в альвеолярних макрофаги були вище сироваткових в 83 і 56 разів [13,17].

Кларитроміцин зв'язується із білками сироватки; ступінь зв'язування варіабельний - від 42 до 70%. Найбільшою спорідненістю антибіотик має до  $\alpha$ -кислотного глікопротеїду.

Сироваткова концентрація вільного кларитроміцину підвищується при концентраціях більше 1 мг/л. Це свідчить про насичуваності зв'язування та можливості досягнення вищих концентрацій незв'язаного препарату, який може проникнути до осередків інфекції.

Порівняльні *in vitro* дані чутливості для еритроміцину, кларитроміцину та деяких інших макролідів та кетолідів показані в табл. 4 [14]. Порівняно з еритроміцином, кларитроміцин демонструє рівну або кращу дію *in vitro* проти грампозитивних мікроорганізмів, у той час як азитроміцин від двох до чотирьох разів менш активний [16].

Кларитроміцин та азитроміцин в основному не активні проти стафілококів, стійких до метициліну.

Телітроміцин активніший *in vitro* проти *S. pneumonia* порівняно з кларитроміцином та азитроміцином та зберігає активність проти штамів, стійких до макролідів [21-28]. В одному дослідженні MIC<sub>90</sub> для телітроміцину проти штамів *S pneumonia* з геном *mefA* був 0,25 мг/л або менше порівняно з 1-4 мг/л для макролідів.

Проти штамів, що виражають ген *ermB* телітроміцин мав MIC<sub>90</sub> 0,5 мг/л, тоді як макроліди мали MIC<sub>90</sub> більш як 64 мг/л [29-30].



Телітроміциновий MIC<sub>90</sub> збільшився від 0,015 мг/л до 0,25 мг/л і 0,5 мг/л для пеніцилін-проміжних та пеніцилін-стійких пневмококових штамів відповідно [18]. Телітроміцин також у два-вісім разів більш активний проти еритроміцин-чутливих штамів *S. aureus* у порівнянні з кларитроміцином та азитроміцином. Телітроміцин зберігає активність проти макролід-стійких штамів *S aureus*, які мають індукований MLSB ген, але не проти штамів, у яких суттєво виражена стійкість [30].

Побічні ефекти. Серед побічних дій досліджуваних макролідів переважали диспептичні явища, рідше – алергічні шкірні реакції. Побічні дії внаслідок застосування антибіотиків були відзначені у 40% хворих у вигляді нудоти, незначної печії, проте вони не були яскраво виражені і в жодному разі не вимагали відміни препарату.

У [34] надано цікаві результати лікування позаликарняної пневмонії у дорослих. Автори показали, що клінічна ефективність лікування захворювання за допомогою лікарської форми уповільненого вивільнення кларитроміцину протягом 7 днів становила 94,7%.

Таким чином, кларитроміцин є високоефективним препаратом для лікування інфекцій верхніх і нижніх дихальних шляхів у дітей і обґрунтовано зайняв свою нішу [34, 35].

## РОЗДІЛ 2. ОСОБЛИВОСТІ СИНТЕЗУ ТА ФАРМАЦЕВТИЧНОГО АНАЛІЗУ КЛАРИТРОМІЦИНУ

### 2.1. Синтез, фармакопейні вимоги до аналізу якості

#### Кларитроміцину

Аналіз результатів численних досліджень показав, що кларитроміцин більш стійкий у кислому середовищі шлунку, ніж еритроміцин, має більш високу біологічну доступність та більше проникнення в клітини та тканини.

Крім того, у процесі метаболізму утворюється активний метаболіт (14-гідроксикларитроміцин), що сприяє більш високій антимікробній активності щодо деяких мікроорганізмів, таких як *Haemophilus influenzae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Moraxella catarrhalis*, *Mycoplasma pneumoniae* та *Chlamydia pneumoniae*.

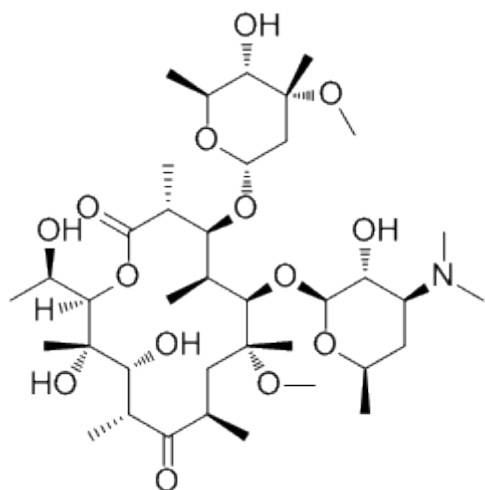
Кларитроміцин має тривалий період напіввиведення, що дозволяє його вводити двічі на добу, на відміну від еритроміцину, який слід вводити чотири рази на день. Звертає увагу, що при використанні кларитроміцину менше зустрічається побічних ефектів з боку травного тракту.

Лікарська форма із уповільненим вивільненням діючої речовини за рахунок спеціального поверхневого шару та матричної основи (клагид СР компанії Abbott) ідентична за ефективністю стандартної, але краще переноситься, сприяє підвищенню комплаєнтності та може рекомендуватись для активного застосування.

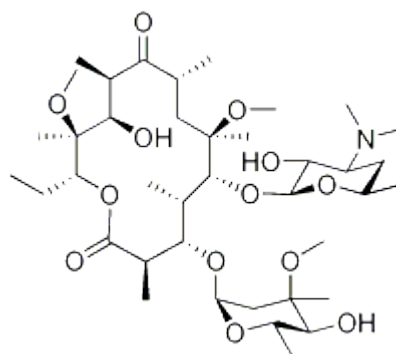
Супровідні домішки кларитроміцину.

Оскільки кларитроміцин є напівсинтетичним антибіотиком, під час його виробництва отримуються також супровідні домішки, кількість яких може впливати на ефективність застосування препаратів на основі кларитроміцину.

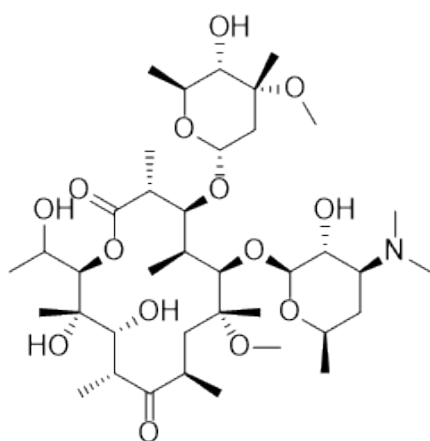
Ідентифіковані домішки кларитроміцину (рис.2.1.1):



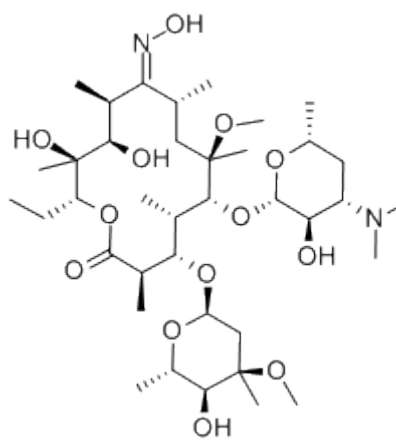
(14R)-14-Hydroxy Clarithromycin



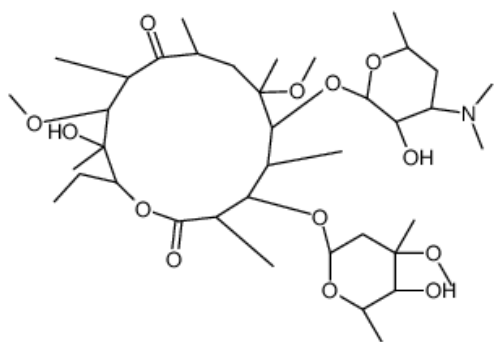
12-O-Methyl Clarithromycin



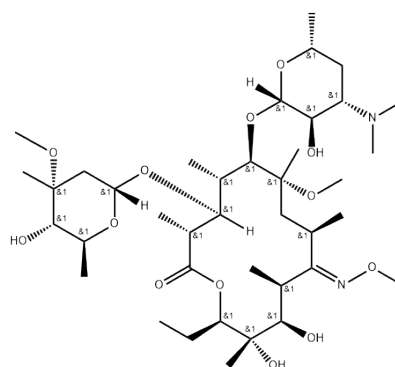
14-Hydroxycarithromycin



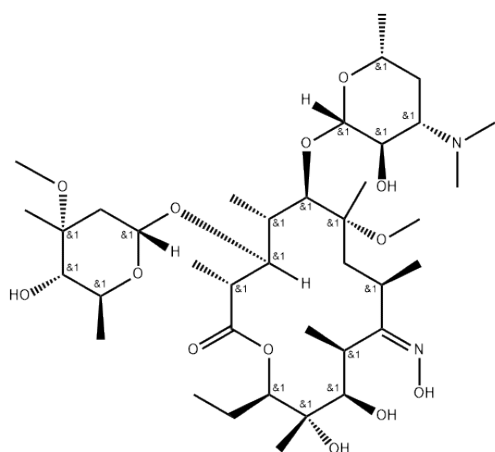
Домішка С



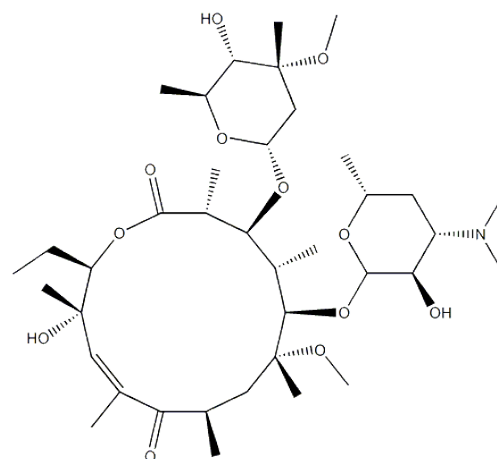
Домішка Е



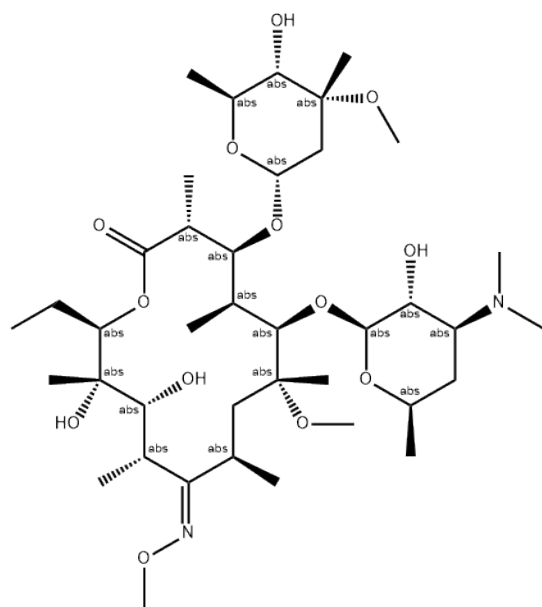
Домішка G



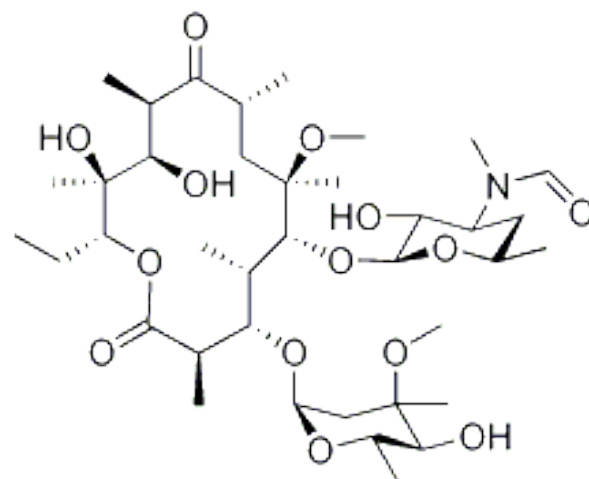
Домішка L



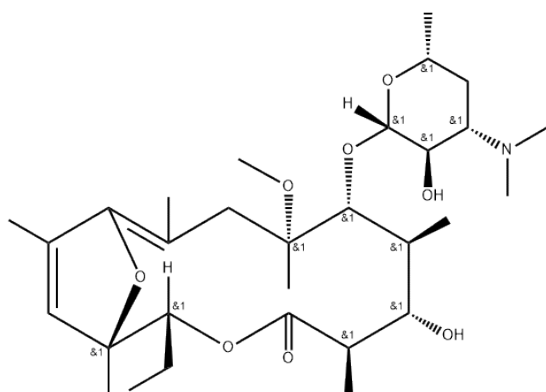
Домішка N



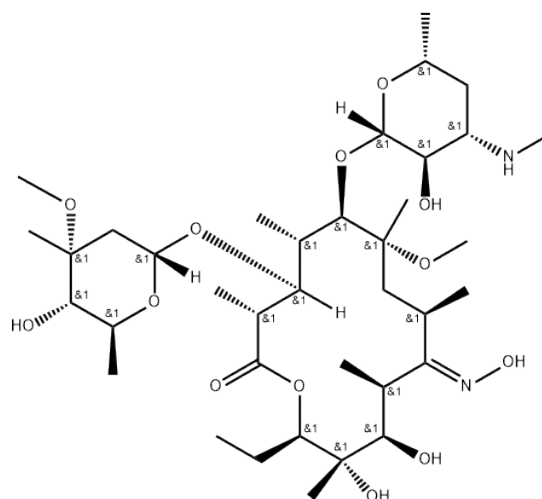
Домішка O



Домішка H



Домішка К



Домішка М

Рисунок 2.1.1. Домішки кларитроміцину.

Кларитроміцин є напівсинтетичним антибіотиком. Є декілька методів його отримання. З літературних джерел відомо, що кларитроміцин існує щонайменше у трьох різних кристалічних формах, “форма О”, “форма І” та “форма ІІ”.

Ці кристалічні форми можуть бути ідентифіковані за допомогою інфрачервоної спектроскопії, диференціальної скануючої калориметрії та порошкової дифракційної спектроскопії рентгенівських променів.

Форма ІІ, яка є термодинамічно стійкішою, ніж форма І, використовується в лікарських препаратах, що є в даний час на ринку.

Відомо декілька способів одержання кристалів форми ІІ з кларитроміцину, який не мав необхідного для фармацевтичного використання якості.

Наприклад, кристали форми О або форми І нагрівають у вакуумі при температурі від 70 до 110°C протягом тривалого періоду часу з отриманням кристалічної форми ІІ, проте проблемою притаманною цьому методу є низька продуктивність.

Кларитроміцин у вигляді кристалів форми II (формула I) отримують шляхом обробки кларитроміцину метансульфоною кислотою в суміші органічного розчинника, що змішується з водою, і води з утворенням кристалічного тригідрату мезилату кларитроміцину формули (II), який піддають нейтралізації водним розчином аміаку в суміші. води.

Кларитроміцин, який не володіє фармацевтичним ступенем чистоти, отримують шляхом захисту 9-оксимної гідроксигрупи 9-оксиму еритроміцину А або його солі тропільною групою, а 2'- і 4"-гідроксигруп - триметилсилільними групами з отриманням 9-О-тропілоксиму 2''-О-біс(триметилсиліл)еритроміцину А, який піддають взаємодії з метилуючим агентом з отриманням 9-О-тропілоксиму 2',4''-О-біс(триметилсиліл)-6-О-метилеритроміцину А формули, а потім видаляють захисні групи та оксимну групу.

Також винахід відноситься до проміжних сполук формули (II) і формули (III), де R1 являє собою водень або метил, а R2 являє собою водень або триметилсиліл, причому якщо R1 являє собою метил, R2 являє собою триметилсиліл. Схематично спосіб отримання фармацевтичного кларитроміцину наведено в наступному рисунку 2.1.2:

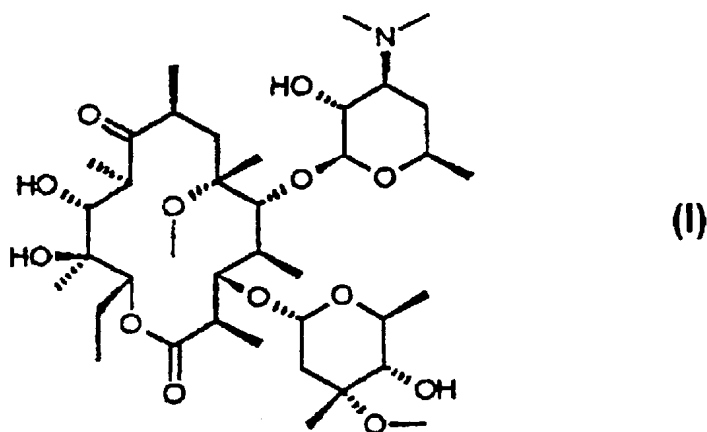


Рисунок 2.1.2. Отримання фармацевтичного кларитроміцину.

I) обробку кларитроміцину, що не володіє фармацевтичним ступенем чистоти, метансульфоною кислотою в суміші органічного розчинника, що змішується з водою, і води з отриманням при цьому кристалічного тригідрату мезилату кларитроміцину формули (II) (рис.2.1.3).

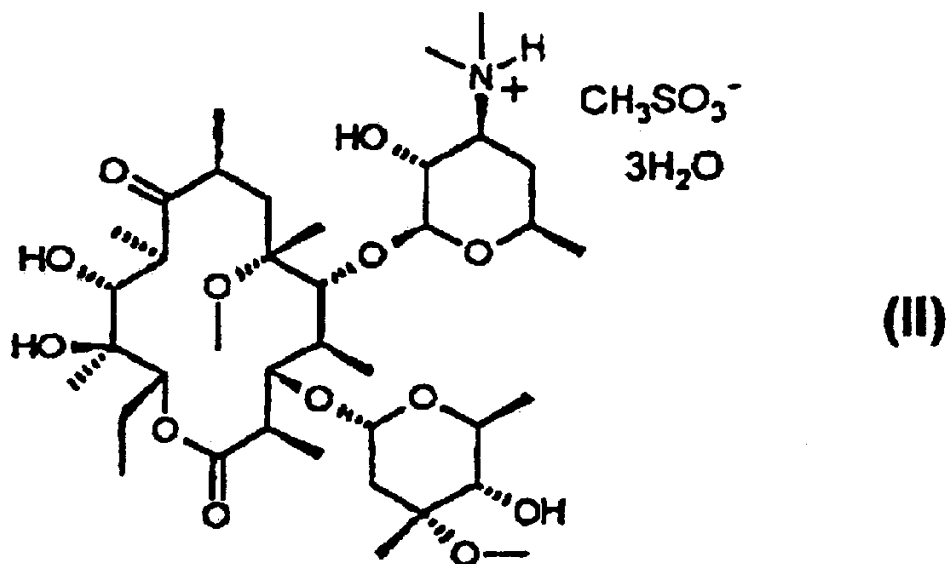


Рисунок 2.1.3. Обробка фармацевтичного кларитроміцину.

II) нейтралізацію кристалічного тригідрату мезилату кларитроміцину, отриманого на стадії (I), водним розчином аміаку в суміші органічного розчинника, що змішується з водою, і води, де термін “кларитроміцин, що не володіє фармацевтичним ступенем чистоти”, відноситься до кларитроміцину будь-якої чистоти або будь-якої чистоти, включаючи неочищений продукт (рис.2.1.4).

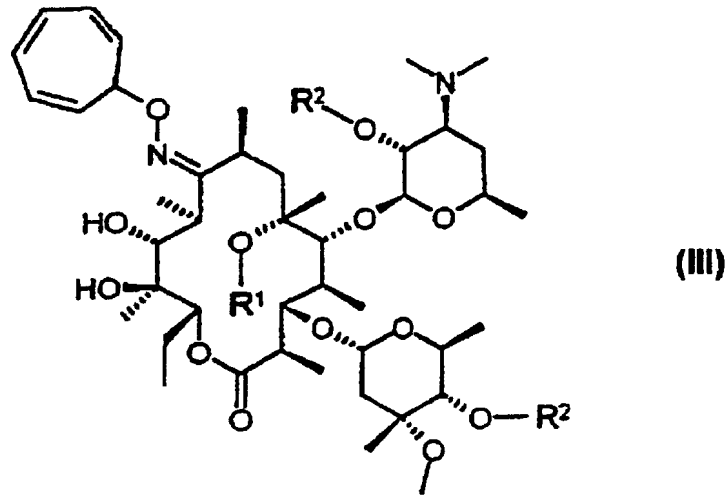


Рисунок 2.1.4. Неочищений фармацевтичний кларитроміцин.

III) Отримані таким чином кристали тригідрату мезилату кларитроміцину можуть бути додатково перекристалізовані з тієї ж суміші розчинників.

Тригідрат мезилату кларитроміцину, отриманий як зазначено вище, нейтралізують водним розчином аміаку в суміші органічного розчинника, що змішується з водою, і води, і кларитроміцин вигляді кристалів форми II може бути підданий перекристалізації.

Зокрема, тригідрат мезилату кларитроміцину розчиняють у суміші органічного розчинника, що змішується з водою, і води при кімнатній температурі. Потім розчин відфільтровують для того, щоб видалити домішки, і фільтрат нейтралізують значення рН від 9 до 12 за допомогою додавання водного розчину аміаку.

Отриманий розчин перемішують протягом 30 хвилин або більше для того, щоб викликати осадження кристалів.



На закінчення кристали, що випали, відфільтровують, промивають тією ж сумішшю розчинників і висушують при температурі від кімнатної до 60°C, отримуючи кларитроміцин у вигляді кристалів форми II.

Органічний розчинник, що змішується з водою, який може бути використаний відповідно до зазначеного вище способу, являє собою ацетон, етанол, ізопропанол або їх суміш.

Вода і органічний розчинник, що змішується з водою, можуть бути змішані в об'ємному співвідношенні від 30:70 до 70:30.

На рисунку 2.1.5 приведено ІЧ-спектр отриманого таким чином кларитроміцину у вигляді кристалів форми II:

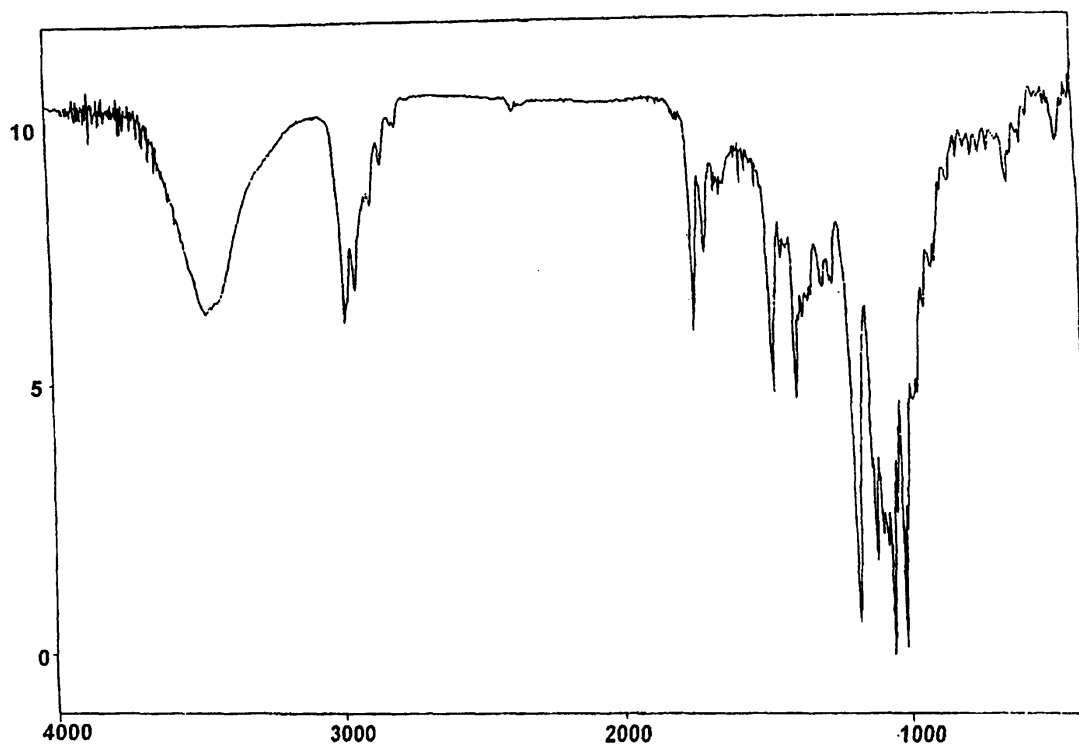


Рисунок 2.1.5. ІЧ-спектр кларитроміцину

Також, кларитроміцин досліджують за допомогою методу мас-спектрометрії (рис.2.1.6, 2.1.7).

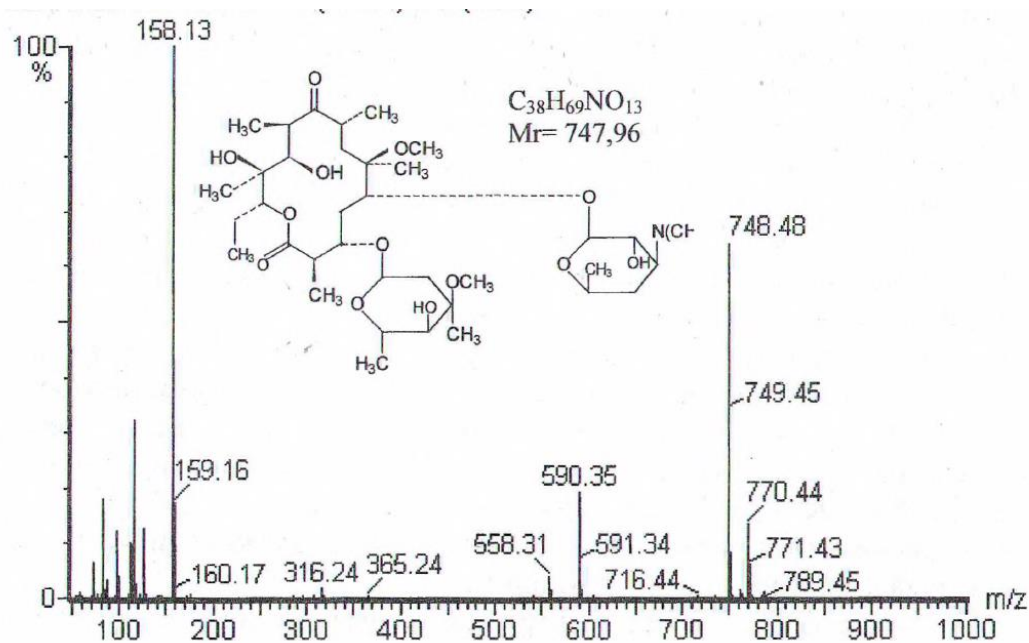


Рисунок 2.1.6. Мас-спектр кларитроміцину

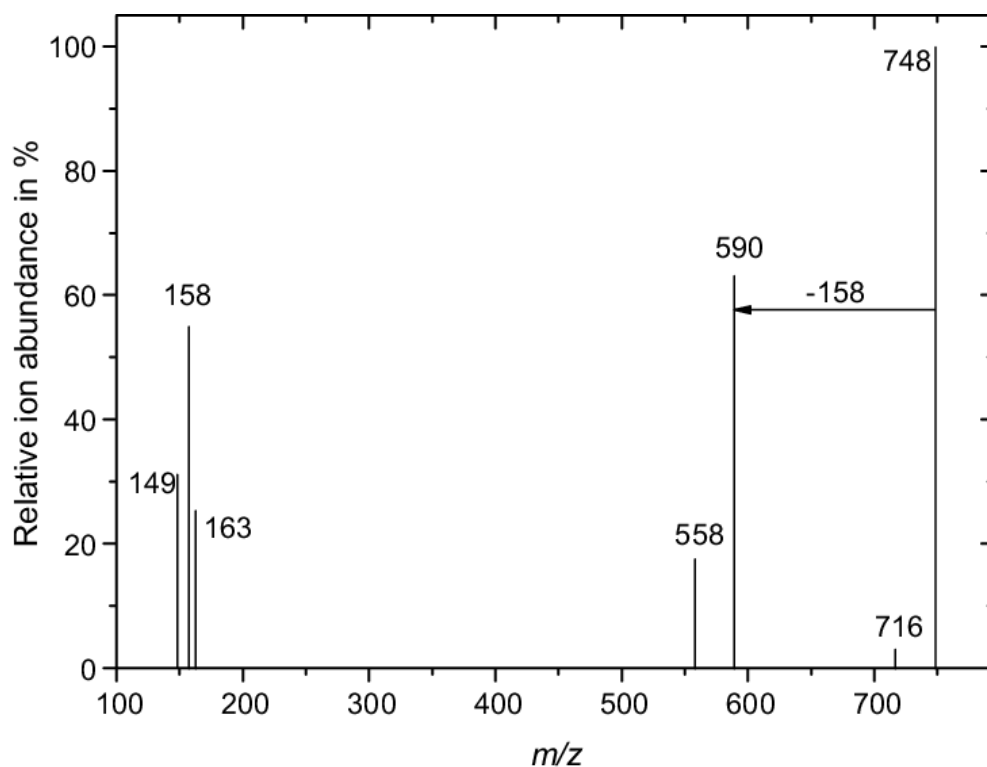


Рисунок 2.1.7. Мас-спектр кларитроміцину – стандарту

Більшість антимікробних тестів *in vitro* проводилися з урахуванням позаклітинних бактерій, які впливають на МІК та МВС препарату *in vitro*, на його фармакокінетику.

Тому загальноприйнятою практикою є співвіднесення активності препарату *in vitro* з його концентрацією в сироватці крові після стандартної дози антибіотика (рис. 2.1.8).

Pathogen type and species	pH 6.0 <sup>b</sup>	pH 6.8 <sup>c</sup>	pH 7.4 <sup>d</sup>
<b>Strict Pathogens</b>			
<i>M. tuberculosis</i> H37Rv (ATCC 27294)	80.0	20.0	8.0
Clinical isolate 88-0902	40.0	20.0	4.0
Clinical isolate 91-0328	80.0	20.0	16.0
<i>M. africanum</i> ATCC 25420	80.0	10.0	8.0
<i>M. bovis</i> ATCC 19210	80.0	10.0	8.0
<i>M. bovis</i> BCGPasteur	0.5	0.5	0.1
BCG-Denmark	0.5	0.25	0.1
BCG-Russia	2.0	0.5	0.2
<b>Potential pathogens</b>			
<i>M. avium intracellulare</i> ATCC 13950	1.0	1.0	0.2
AIDS isolate 90-0827	8.0	2.0	1.6
<i>M. scrofulaceum</i> ATCC 19981	0.5	0.25	0.2
<i>M. simiae</i> ATCC 25275	10.0	5.0	4.0
AIDS isolate 91-0198	40.0	20.0	8.0
<i>M. szulgai</i> NCTC 10831	4.0	0.5	0.4
<i>M. malmoense</i> ATCC 29571	4.0	1.0	0.4
<i>M. xenopi</i> ATCC 19970	1.0	0.25	0.2
<i>M. marinum</i> ATCC 927	4.0	0.5	0.4
<i>M. kansasii</i> ATCC 12478	0.8	0.2	0.2

Рисунок 2.1.8. Перелік патогенів, на які впливає кларитроміцин.

### РОЗДІЛ 3. ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

Державна Фармакопея України регламентує [35] аналіз супровідних домішок кларитроміцину

#### **Матеріали та методи.**

Хроматографічні дослідження супровідних домішок кларитроміцину проводили на хроматографі Agilent 1260 Infinity II з УФ детектором (детектування – УФ при 205 нм), з колонкою – ZORBAX EclipsePlus C18, 150 мм x 4,6 мм, 5 мкм. Температура колонки - 40°C.

Використовували наступні умови хроматографування:

- температура зразка – кімнатна
- потік – 1,5 мл/хв
- об'єм інжекції – 10 мкл

**Рухома фаза А** – розчин 4,6 г/л калію дигідрофосфату Р, рН якого доведено фосфорною кислотою розведеною Р до 4.4

**Рухома фаза В** – ацетонітрил Р

*Градiєнти представлено у таблиці 3.1.*

Таблиця 3.1. Градієнти – Рухома фаза А та Рухома фаза В:

Час (хв)	0	32	34	45	56
Рухома фаза А (% V/V)	75	40	40	75	75
Рухома фаза В (% V/V)	25	60	60	25	75

Час хроматографування – процедура займала 56 хв.

*Методика приготування випробувальних розчинів:*

*Розчин (1) (випробовуваний розчин):* 75,0 мг субстанції розчиняють у 25 мл ацетонітрилу Р1 і доводять об'єм розчину до 50 мл водою Р.

*Методика приготування розчинів порівняння:*

*Розчин порівняння (а):* 75,0 г фармакопейного стандартного зразку Державної фармакопеї України кларитроміцину (6-(4-dimethylamino-3-hydroxy-6-methyl-tetrahydropyran-2-yl) оху-14-ethyl-12,13-dihydroxy-4-(5-hydroxy-4-methoxy-4,6-dimethyl-tetrahydropyran-2-yl) оху-7-methoxy-3,5,7,9,11,13-hexamethyl-1-oxacyclotetradecane-2,10-dione) розчиняють у 25 мл ацетонітрилу Р1 і доводять об'єм розчину до 50 мл водою Р.

*Розчин порівняння (b):* 5,0 мл розчину порівняння (а) доводять сумішшю рівних об'ємів ацетонітрилу Р1 і води Р до об'єму 100,0 мл.

*Розчин порівняння (c):* 1,0 мл розчину порівняння (b) доводять сумішшю рівних об'ємів ацетонітрилу Р1 і води Р до об'єму 10,0 мл.

Для проведення комп'ютерного аналізу використовували програму OpenLab CDS та інтерпретували результати.

Для проведення хроматографічних процедур для визначення сторонніх домішок методом ВЕРХ в експерименті використовували наступні хімічні реактиви:

- ацетонітрил (чистоти для ВЕРХ),
- воду (чистоти для ВЕРХ),
- калію дигідрофосфат,
- фосфорну кислоту.

### Отримані результати.

При дослідженні стандартних зразків ДФУ та розчинів досліджуваних зразків отримано наступні результати (табл. 3.2, 3.3).

Таблиця 3.2. Стандартний розчин кларітроміцину (С)

<b>Кларітроміцин (С)</b>		
	<i>RT</i>	<i>Area</i>
	11,642	131,300
	12,056	130,442
	12,035	130,620
<b>Середнє</b>	<b>11,911</b>	<b>130,787</b>
<b>SD</b>		<b>0</b>
<b>RSD</b>		<b>0,35%</b>

Таблиця 3.3. Досліджуваний розчин субстанції кларітроміцину

	<i>Imp J</i>		<i>Кларітроміцин</i>		<i>Imp N</i>		<i>Imp E</i>		<i>Imp F</i>	
	<i>RT</i>	<i>Area</i>	<i>RT</i>	<i>Area</i>	<i>RT</i>	<i>Area</i>	<i>RT</i>	<i>Area</i>	<i>RT</i>	<i>Area</i>
	7,608	12,529	11,928	9100,841	18,265	7,727	19,198	5,456	22,600	5,742
	7,247	12,514	13,259	9092,451	18,732	8,240	19,562	9,813	22,701	5,901
	7,276	12,341	12,904	9096,926	18,641	8,595	19,486	9,776	22,650	5,880
<b>Середнє</b>	<b>7,377</b>	<b>12,461</b>	<b>12,697</b>	<b>9096,739</b>	<b>18,546</b>	<b>8,187</b>	<b>19,415</b>	<b>8,348</b>	<b>22,650</b>	<b>5,841</b>

	<i>Imp O</i>		<i>Imp K</i>		<i>Imp G</i>		<i>Imp H</i>	
	<i>RT</i>	<i>Area</i>	<i>RT</i>	<i>Area</i>	<i>RT</i>	<i>Area</i>	<i>RT</i>	<i>Area</i>
	25,210	7,479	26,421	2,565	28,132	7,199	29,565	6,271
	25,254	8,193	26,427	2,361	28,139	6,150	29,583	6,095
	25,234	8,941	26,448	2,137	28,150	6,329	29,583	6,239
<b>Середнє</b>	<b>25,233</b>	<b>8,204</b>	<b>26,432</b>	<b>2,354</b>	<b>28,140</b>	<b>6,559</b>	<b>29,577</b>	<b>6,202</b>

В результаті проведених досліджень встановлено, що надана на дослідження субстанція кларітроміцину містить своєму складі ідентифіковані супровідні домішки (домішки J, N, E, F, P, O, K, G, та H).

Сумарний вміст визначених супровідних домішок не перевищує 3% що є прийнятним для використання антибіотика при виробництві лікарських засобів.

Встановлено, що концентрації домішок G та H не перевищують встановлені межі.

Як видно з отриманих хроматограм, підібрано оптимальні умови для розділення супровідних домішок з урахуванням їх розділення.

При проведенні досліджень нами використовувалася колонка для високоефективної рідинної хроматографії більшої довжини та з

модифікованою C18 фазою, що забезпечило краще розділення піків. Зміна часу хроматографування та часових параметрів градієнту, як і його процентний вміст (в межах, дозволених ДФУ) позитивно вплинули на форму піків та їх розділення.

Отримані хроматограми представлено на рисунках 3.1, 3.2.

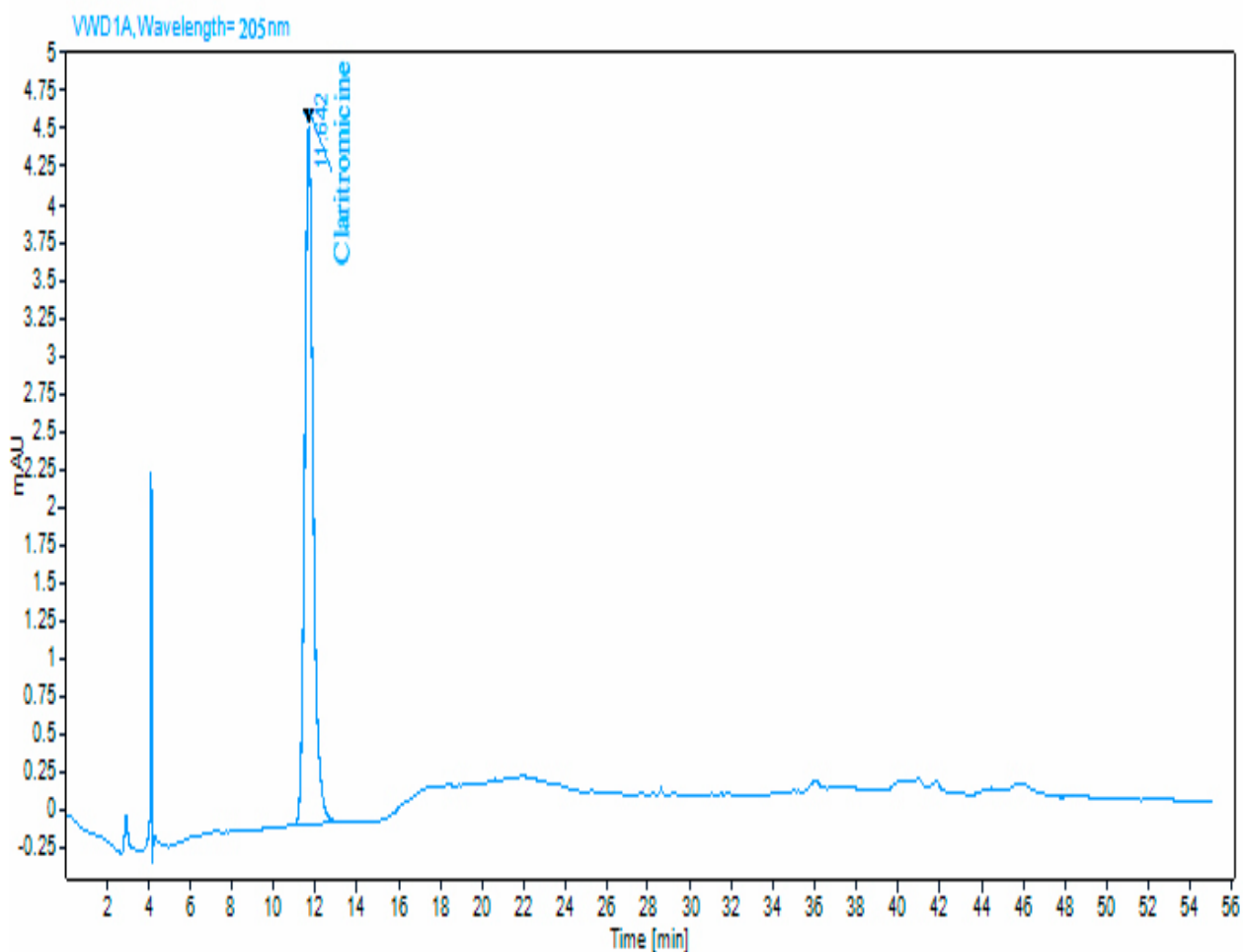


Рисунок 3.1. Хроматограма стандартного зразку (с) кларітроміцину ( $R_t=11,642$  хв).



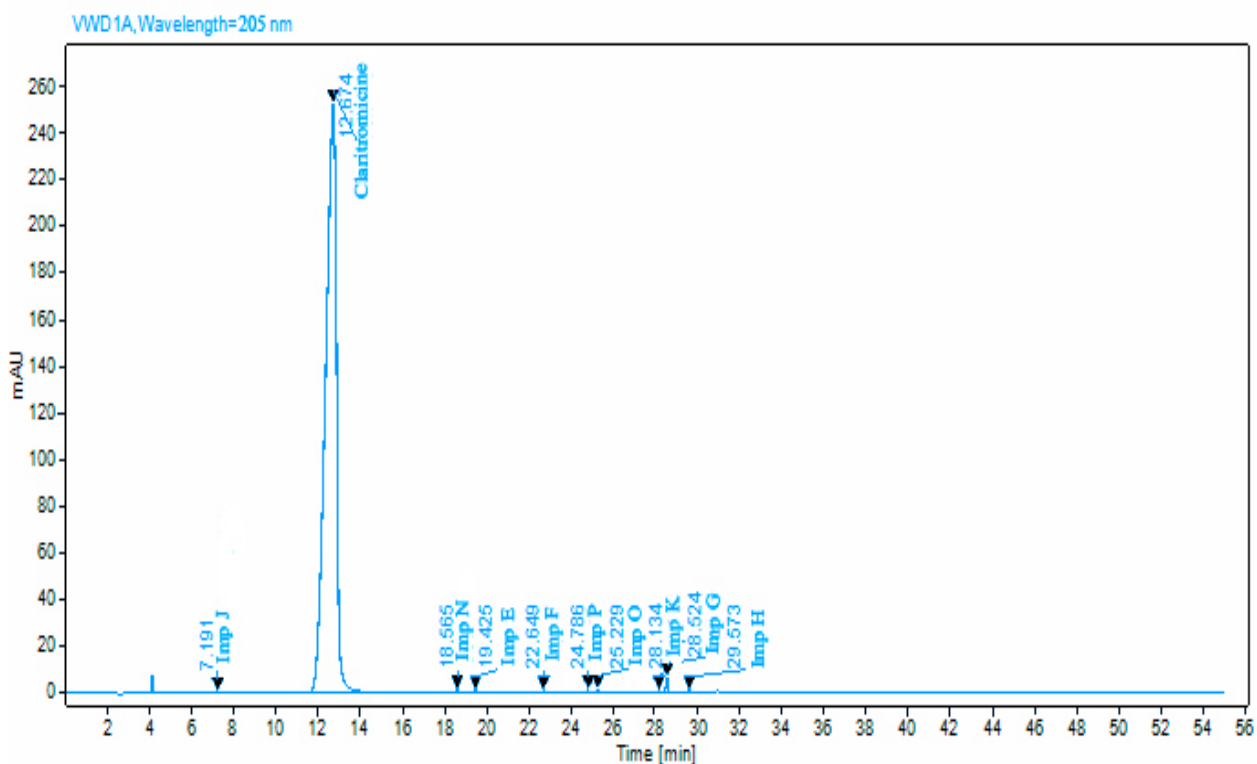


Рисунок 3.2. Хроматограма тестового зразку кларітроміцину ( $R_t=12,674$  хв), ідентифікованої домішки J ( $R_t=7,191$  хв), ідентифікованої домішки N ( $R_t=18,565$  хв), ідентифікованої домішки E ( $R_t=19,425$  хв), ідентифікованої домішки F ( $R_t=22,649$  хв), ідентифікованої домішки P ( $R_t=24,786$  хв), ідентифікованої домішки O ( $R_t=25,229$  хв), ідентифікованої домішки K ( $R_t=28,134$  хв), ідентифікованої домішки G ( $R_t=28,524$  хв), ідентифікованої домішки h ( $R_t=28,524$  хв).

## ВИСНОВКИ

1. Розроблено та адаптовано методику визначення супровідних домішок кларитроміцину методом ВЕРХ з урахуванням підбору та властивостей нерухомої фази (хроматографічних колонок). Встановлено, що використання нами при проведенні досліджень колонка для вискоєфективної рідинної хроматографії більшої довжини та з модифікованою C18 фазою, забезпечило краще розділення піків.
2. Адаптовано рухомих фазу для проведення досліджень та підібрано оптимальні умови для градієнту (в межах, дозволених ДФУ), що позитивно вплинуло на форму піків та їх розділення.
3. Проведене хроматографічне дослідження методом ВЕРХ наданої на дослідження субстанції кларитроміцину показало наявність у її складі ідентифікованих супровідних домішок (домішки J, N, E, F, P, O, K, G, та H). Сумарний вміст визначених супровідних домішок не перевищує 3% що є прийнятним для використання антибіотика при виробництві лікарських засобів. Встановлено, що концентрації домішок G та H не перевищують встановлені межі.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Shervington L. A., Abba M., Hussain B. and Donnelly J. The simultaneous separation and determination of five quinolone antibiotics using isocratic reversed-phase HPLC: Application to stability studies on an ofloxacin tablet formulation // J. Pharm. Biomed. Anal. 2005. V. 39. №3-4. P.769-775.
2. Inks M., Santoro R.M., Kassab N. M., Singh A.I K., Kedor-Hackmam E. M. Quantitative determination of gatifloxacin, levofloxacin, lomefloxacin and pefloxacin fluoroquinolonic antibiotics in pharmaceutical preparations by high-performance liquid chromatography // J. Pharm. Biomed. Anal. 2006. V. 40. №1. P.179-184.
3. Mancean S., Giequel M., Lanrentie M. Simultaneous determination of enrofloxacin and ciprofloxacin in animal biomedical fluids by high-performance liquid chromatography. Application in pharmacokinetic studies in pig and rabbit // J. Chromatogr. B: Biomed. Sci. Appl. 1999. V.726. №1-2. P.175-178.
4. Imre S., Dogaru M.T., Vari C.E., Muntean T., Kelemen L. Validation of an HPLC method for the determination of ciprofloxacin in human plasma // J. Pharm. Biomed. Anal. 2003. V. 33. №1. P.125-130.
5. Ramos M., Aranda A., Garcia E., Reuvers T., Hooghuis H. Simple and sensitive determination of five quinolones in food by liquid chromatography with fluorescence detection // J. Chromatogr. B. 2003. V. 789. №2. P.373-381.
6. Zotou A., Miltiadou N. Sensitive LC determination of ciprofloxacin in pharmaceutical preparations and biological fluids with fluorescence detection // J. Pharm. Biomed. Anal. 2002. V. 28. №3-4. P.559-568.
7. El-Kemary M., Dauhal A. Photochemistry and photophysics of cyclodextrin caged drugs: relevance to their stability and efficiency // Cyclodextrin materials in photochemistry, photoph. Ed. by Douhal A. - Elsevier. 2006. V.1. P.79-105.

8. Arnold F.W., McDonald L.C., Newman D. et al. Improving Antimicrobial Use: Longitudinal Assessment of an Antimicrobial Team Including a Clinical Pharmacist. *J Manag Care Pharm.* 2004;10(2):152- 158.
9. Zuckerman J.M., Qamar F., Bono B.R. Review of Macrolides (Azithromycin, Clarithromycin), Ketolids (Telithromycin) and Glycylcyclines (Tigecycline). *Med Clin N Am.* 2011; 95(4): 761–791.
10. Peters D.H., Clissold S.P. Clarithromycin: a review of its antimicrobial activity, pharmacokinetic properties and therapeutic potential. *Drugs* 1992; 44(1):117–164.
11. Wozniak D.J., Keyser R. Effects of subinhibitory concentrations of macrolide antibiotics on *Pseudomonas aeruginosa*. *Chest.* 2004; 125: 62-69.
12. Ubukata K., Iwata S., Sunakawa K. In vitro activities of new ketolide, telithromycin, and eight other macrolide antibiotics against *Streptococcus pneumoniae* having *mefA* and *ermB* genes that mediate macrolide resistance. *J Infect Chemother* 2003;9(3):221–226.
13. Doern G.V., Heilmann K.P., Huynh H.K. et al. Antimicrobial resistance among clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae* in the United States during 1999–2000, including a comparison of resistance rates since 1994–1995. *Antimicrob Agents Chemother* 2001;45(6):1721–1729.
14. Barry A.L., Fuchs P.C., Brown S.D. Antipneumococcal activities of a ketolide (HMR 3647), a streptogramin (quinupristin-dalfopristin), a macrolide (erythromycin), and a lincosamide (clindamycin). *Antimicrob Agents Chemother* 1998;42(4):945–946.
15. Piscitelli S.C., Danziger L.H., Rodvold K.A. Clarithromycin and azithromycin: new macrolide antibiotics. *Clin Pharm* 1992;11(2):137–152.
16. Ferrero J.L., Bopp B.A., Marsh K.C. et al. Metabolism and disposition of clarithromycin in man. *Drug Metab Dispos* 1990;18(4):441–446

17. Hardy D.J., Guay D.R., Jones R.N. Clarithromycin, a unique macrolide: a pharmacokinetic, microbiological, and clinical overview. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1992; 15(1):39–53.
18. Chu S.Y., Granneman G.R., Pichotta P.J. et al. Effect of moderate or severe hepatic impairment on clarithromycin pharmacokinetics. *J Clin Pharmacol* 1993;33(5):480–485.
19. Clark J.P., Langston E. Ketolides: a new class of antibacterial agents for treatment of community-acquired respiratory tract infections in a primary care setting. *Mayo Clin Proc* 2003;78(9):1113–1124.
20. Bauernfeind A., Jungwirth R., Eberlein E. Comparative pharmacodynamics of clarithromycin and azithromycin against respiratory pathogens. *Infection*. 1995; 23(5):316-321.
21. Gutierrez-Castrellon P., Mayorga-Buitron J.L., BoschCanto V. et al. Efficacy and safety of clarithromycin in pediatric patients with upper respiratory infections: a systematic review with meta-analysis. *Rev Invest Clin*.2012; 64(2):126-135.
22. Roblin P.M., Montalban G., Hammerschlag M.R. Susceptibilities to clarithromycin and erythromycin of isolates of *Chlamydia pneumoniae* from children with pneumonia. *Antimicrob Agents Chemother*. 1994; 38: 1588-1589.
23. Welsh L., Gaydos C., Quinn T.C. In vitro activities of azithromycin, clarithromycin, erythromycin, and tetracycline against 13 strains of *Chlamydia pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother* 1996; 40: 212-214.
24. Hardy R.D., Rios A.M., Chavez-Bueno S. et al. Antimicrobial and immunologic activities of clarithromycin in a murine model of *Mycoplasma pneumoniae*-induced pneumonia. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 47:1614-1620.

25. Fogarty C., Grossman C., Williams J. et al. Efficacy and safety of moxifloxacin vs. clarithromycin for community-acquired pneumonia. *Inf Med.* 1999; 16:748- 763.
26. Ramirez J., Nguyen T.H., Tellier G. et al. Once daily 400 mg oral gatifloxacin (GAT) vs. twice daily 500 mg oral clarithromycin (CLA) in the treatment of community-acquired pneumonia (CAP) [Abstract 2242]. In: Program and Abstracts of the 39th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy; September 26-29, 1999; San Francisco, Calif.
27. Ramirez J., Unowsky J., Talbot G.H. et al. Sparfloxacin vs. clarithromycin in the treatment of community-acquired pneumonia. *Clin Ther.* 1999; 21:103-117.
28. Moola S., Hagberg L., Churchyard G.A. et al. A multicenter study of grepafloxacin and clarithromycin in the treatment of patients with community-acquired pneumonia. *Chest.* 1999; 116:974-983.
29. Drnec J., Vance A., Avila M. et al. Safety and efficacy comparison of clarithromycin immediate release with trovafloxacin in community-acquired pneumonia [abstract 04.25]. In: Program and Abstracts of the International Conference on Macrolides, Azalides, Streptogramins, Ketolides, and Oxazolidinones; January 26-28, 2000; Seville, Spain.
30. Hoeffken G., Meyer H.P., Winter J., Verhoef L. The efficacy and safety of two oral moxifloxacin regimens compared to oral clarithromycin in the treatment of community-acquired pneumonia. *Respir Med.* 2001; 95:553-564.
31. Gotfried M.H., Dattani D., Riffer E. et al. A controlled, double-blind, multi-center study comparing clarithromycin extended-release tablets and levofloxacin tablets in the treatment of community-acquired pneumonia. *Clin Ther.* 2002; 24:736-751.
32. Sokol W.N.Jr, Sullivan J.G., Acampora M.D. et al. A prospective, double-blind, multi-center study comparing clarithromycin extended-release with trovafloxacin in patients with community-acquired pneumonia. *Clin Ther.* 2002; 24:605-615.

33. Bonvehi P., Weber K., Busman T. et al. Comparison of clarithromycin and amoxicillin/clavulanic acid for community-acquired pneumonia in a era of drug-resistant *Streptococcus pneumoniae*. *Clin Drug Investig.* 2003; 23:491-501.
34. Anzueto A., Norris S. Clarithromycin in 2003: sustained efficacy and safety in an era of rising antibiotic resistance. *Int J Antimicrob Agents.* 2004; 24:1–17.
35. Державна Фармакопея України. 2-ге вид., у 3-х т. Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». Х.: Укр. наук. фармакоп. центр якості лік. засобів. 2014. Т. 2. С. 359-362.

## SUMMARY

**Semenyuk Anna**  
**CLARITHROMYCIN AS AN ACTIVE SUBSTANCE OF ANTIMICROBIAL  
DRUGS AND IMPROVEMENT OF THE TECHNIQUE OF ITS PHARMACEUTICAL  
ANALYSIS BY HPLC**

**The department of medicinal chemistry and toxicology**

**Scientific supervisor: PhD (Biol), as. Meleshko R.A.**

**Keywords:** clarithromycin, antibiotic, HPLC, pharmaceutical analysis.

**Introduction.** Under the conditions of the use of semi-synthetic antibiotics, the question of the purity of the obtained semi-synthetic antibiotics becomes acute. Scientific studies show that during the production of semi-synthetic antibiotics, substances often contain accompanying impurities in quantities exceeding the permissible limit (set at 3%). As a result, the bioavailability of the drug changes and the specific antibacterial activity changes, the concentration of the active substance in tissues decreases and the therapeutic effect weakens. Our attention was drawn to the substance clarithromycin. It is an antibiotic, a macrolide, a derivative of erythromycin, used to treat bacterial infections.

**Materials and methods.** Research object are clarithromycin substances, standard samples. Research subject: implementation of HPLC method to pharmaceutical analysis of clarithromycin. Methods: HPLC (Agilent 1260 Infinity II chromatograph with UV detector), column ZORBAX EclipsePlus C18, 150 mm x 4,6 mm, 5 μm; computer analysis using the OpenLab CDS program.

**Results.** The method of determining accompanying impurities of clarithromycin by HPLC was developed and adapted, taking into account the selection and properties of the stationary phase (chromatographic columns). It was established that our use of a column for high-performance liquid chromatography with a longer length and with a modified C18 phase during our research provided better peak separation. The mobile phase was adapted for conducting research and the optimal conditions for the gradient were selected (within the limits allowed by the SPU), which had a positive effect on the shape of the peaks and their separation.

**Conclusions.** The conducted chromatographic study by HPLC of the clarithromycin substance submitted for research showed the presence of identified accompanying impurities in its composition (impurities J, N, E, F, P, O, K, G, and H). The total content of specified accompanying impurities does not exceed 3%, which is acceptable for the use of antibiotics in the production of medicinal products. It was established that the concentrations of impurities G and H do not exceed the established limits.



## ДОДАТОК 1

Публікації, участь у роботі конференцій, симпозіумів.

1. Мелешко Р.А., Стрічка І.С., **Семенюк А.С.** ВИЯВЛЕННЯ РОНГАЛІНУ МЕТОДОМ ВЕРХ. Тези доповіді на конференції «Фармацевтична освіта, наука та практика: стан, проблеми, перспективи розвитку», присвячена 25-річчю фармацевтичного факультету Національного медичного університету імені О.О. Богомольця, 19-20 грудня 2023 р., стор. 398.



2. FIP Symposium, Digital Event «Designing pharmacies towards an accessible, patient-centred and service-oriented model of practice», 12.09.2023, The Netherland (Online educational activity). Certificate.

