Таблица 2

**Показатели хемилюминесценции в модельной системе, генерирующей АФК, при добавлении водных извлечений из травы тимьяна Маршалла**

| №п/п | Исследуемые образцы тимьяна Маршалла из разных районов РБ | Светосумма, % | Максимальная светимость, % |
|---|---|---|---|
| 1 | Контроль | 100 | 100 |
| 2 | Абзелиловский район | 40,22±2,01 | 41,89±2,09 |
| 3 | Туймазинский район | 28,31±1,42 | 27,55±1,37 |
| 4 | Зианчуринский район | 20,53±1,03 | 23,12±1,16 |
| 5 | Альшеевский район | 32,58±1,62 | 32,42±1,60 |
| 6 | Дюртюлинский район | 11,91±0,59 | 10,86±0,54 |
| 7 | Плоды шиповника | 20,21±1,00 | 12,42±0,62 |

Таким образом, в модельной системе, где происходит генерация АФК, изучаемые образцы тимьяна Маршалла проявили в той или иной степени антиоксидантные свойства. В меньшей степени образование активных форм кислорода подавлял настой травы тимьяна Маршалла, произрастающего в Абзелиловском районе, а наиболее выраженные антиоксидантные свойства в системе генерации АФК проявили образцы тимьяна, собранные в Зианчуринском и Дюртюлинском районах. Эти данные согласуются с результатами изучения химического состава тимьяна Маршалла, так как именно в видах тимьяна, произрастающих в южных районах РБ (Зианчуринский и Дюртюлинский) накапливалось большее содержание эфирного масла.

**Выводы:**

1. Проведена сравнительная оценка количественного содержания отдельных групп биологически активных веществ в образцах травы тимьяна Маршалла, собранных в различных районах Республики Башкортостан.

2. Изучена антиоксидантная активность видов тимьяна, произрастающих в различных районах Республики Башкортостан в системах, моделирующих процессы выработки активных форм кислорода и перекисного окисления липидов и установлены виды, проявляющие наиболее выраженную активность – это тимьян Маршалла, произрастающий в южных районах РБ.

**Литература:**

1. Государственная фармакопея Российской Федерации XIV изд. [Электронный ресурс] / Федеральная электронная медицинская библиотека, 2018. URL: http://www.femb.ru.

2. Муллагулов Р.Т., Козлов В.Н., Пономарева Л.Ф. Изучение антиоксидантной активности лекарственных трав методом хемилюминесценции в опытах *in vitro*// Вестник Волжского университета им. В.Н. Татищева. 2012. № 1. С.231-234. [Mullagulov R.T., Kozlov V.N., Ponomareva L.F. STUDY OF ANTIOXIDANT ACTIVITY OF MEDICINAL HERBS BY CHEMILUMINESCENCE IN EXPERIMENTS IN VITRO. Bulletin of the Volga University. V.N. Tatishchev. 2012; (1):231-234. (In Russ).]

3. Фархутдинов Р. Р. Свободнорадикальное окисление: мифы и реальность (избранные лекции)// Медицинский вестник Башкортостана. 2006. Т. 1. № 1. С.146-152. [Farkhutdinov R. R. Free radical oxidation: myths and reality (selected lectures). Medical Bulletin of Bashkortostan. 2006; T.1 (1): 146-152. (In Russ).]

УДК 615.074
ГРНТИ 76.31.35

## РАЗРАБОТКА И ВАЛИДАЦИЯ МЕТОДИКИ ОПРЕДЕЛЕНИЯ СОДЕРЖАНИЯ РОДСТВЕННЫХ ПРИМЕСЕЙ В ЛЕКАРСТВЕННОМ ПРЕПАРАТЕ АЗИТРОМИЦИН

DOI: 10.31618/ESU.2413-9335.2020.1.70.533

***Чухутина Ольга Анатольевна***
*Сотрудник отдела контроля качества ООО «Озон-фарм»,*
*г. Жигулёвск, ул. Гидростроителей, д. 6;*
*магистрант кафедры «Химическая технология и ресурсосбережение»*
*Тольяттинского государственного университета,*
*г. Тольятти., ул. Белорусская, 14*

**АННОТАЦИЯ**

Лекарственный препарат азитромицин является полусинтетическим антибиотиком, первым представителем подкласса азалидов, который применяется при комплексном лечения инфекционных заболеваниях органов дыхания и ЛОР-органов, таких как тонзиллит, фарингит, синусит, ларингит; обострившийся хронический бронхит, пневмония, средний отит). В настоящее время литературных данных о определении примесей A, B, C, E, F, G, I, J, L, M, N, O, P азитромицина, нет. В данной работе приведена разработка и валидация методики определения родственных примесей в лекарственном препарате Азитромицин методом ВЭЖХ.

Целью исследования является разработка и валидация методики определения примесей азитромицина методом ВЭЖХ для проведения аналитической части фармакокинетических исследований.

Метод определения примесей A, B, C, E, F, G, I, J, L, M, N, O, P в лекарственном препарате азитромицин заключался в идентификации пиков хроматограммы, полученной на жидкостном хроматографе высокого давления с УФ-спектрофотометрическим детектором.

Разработанная методика была валидирована по следующим валидационным параметрам: специфичность, проверка пригодности хроматографической системы, специфичность, предел количественного определения, претизионность, правильность, линейность и диапазон, робастность.

Разработана и валидирована методика определения родственных примесей в лекарственном препарате Азитромицин методом ВЭЖХ. Полученные результаты позволяют применять разработанную методику при проведении анализа по определению содержания родственных примесей в препарате Азитромицин.

**ABSTRACT**

The drug is a semi-synthetic antibiotic, the first representative of the subclass of azalides, which is used in the complex treatment of infectious diseases of the respiratory system and ENT organs. such as tonsillitis, pharyngitis, sinusitis, laryngitis; acute chronic bronchitis, pneumonia, otitis media). Currently, there is no literature data on the determination of impurities A, B, C, E, F, G, I, J, L, M, N, O, P of azithromycin. This paper describes the development and validation of methods for determining related impurities in the drug Azithromycin by HPLC.

The aim of the study is to develop and validate a method for determining azithromycin impurities by HPLC for the analytical part of pharmacokinetic studies.

Determination of impurities A, B, C, E, F, G, I, J, L, M, N, O, P in the drug azithromycin.To identify the peaks, chromatography is performed on a high-pressure liquid chromatograph with a UV spectrophotometric detector.

The developed method was validated for the following variational parameters: specificity, checking the suitability of the chromatographic system, specificity, limit of quantitative determination, pretisionality, correctness, linearity and range, robustness.

A method for determining related impurities in the drug Azithromycin by HPLC was developed and validated. The results obtained allow us to apply the developed method when conducting an analysis to determine the content of related impurities in the drug Azithromycin.

**Ключевые слова:** азитромицин, ВЭЖХ, определение, валидация, примеси, методика.

**Keywords**: azithromycin, HPLC, determination, validation, impurities, method.

**Введение.**

В настоящее время в составе комплексного лечения при инфекционных заболеваниях органов дыхания и ЛОР-органов. таких как тонзиллит, фарингит, синусит, ларингит; обострившийся хронический бронхит, пневмония, средний отит) применяется один из самых распространенных лекарственных препаратов- Азитромицин.

Азитромицин [1, 2] представляет собой белый кристаллический порошок, растворимый в воде. Азитромицин является полусинтетическим антибиотиком, первым представителем подкласса азалидов, несколько отличающихся по структуре от классических макролидов.

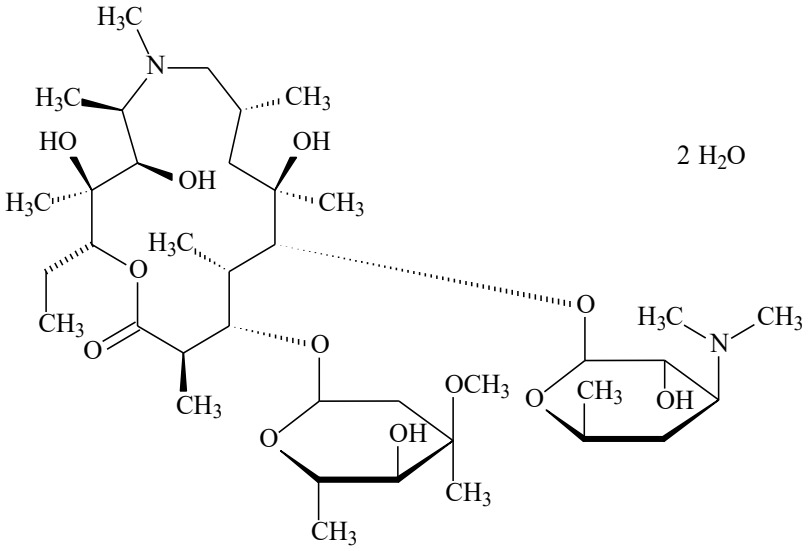



*Рисунок 1. Сруктура препарата Азитромицин (2R,3S,4R,5R,8R,10R,11R,12S,13S,14R)-3,4,10-Тригидрокси-13-[(2,6-дидезокси-3-С-метил-3-О-метил-α-L-рибо-гексопиранозил)окси]-3,5,6,8,10,12,14-гептаметил-11-{[3,4,6-тридезокси-3-(диметиламино)-β-D-ксило-гексопиранозил]окси}-2-этил-1-окса-6-азациклопентадекан-15-он, дигидрат.*

Азитромицин получен путём включения атома азота в 14-членное лактонное кольцо между 9 и 10 атомами углерода. Кольцо превращается в 15-атомное, переставая при этом быть лактонным. Данная структурная перестройка обусловливает значительное повышение кислотоустойчивости препарата – в 300 раз по сравнению с эритромицином

Кроме повышенной устойчивости к действию соляной кислоты, азитромицин, по сравнению с эритромицином, имеет улучшенные фармакокинетические свойства и более широкий спектр антимикробной активности [1]. В частности, азитромицин способен в большей степени, чем эритромицин, проникать через клеточную оболочку грамотрицательных микроорганизмов и проявлять более выраженную активность против H. influenzae, а также действовать на некоторых представителей семейства Enterobacteriaceae.

По механизму действия азитромицин аналогичен другим макролидным антибиотикам. Основной точкой приложения является 50S-субъединица рибосомы, взаимодействуя с которой макролиды нарушают синтез белка, опосредованный мРНК. Макролиды оказывают бактериостатическое действие, однако в определённых условиях в отношении некоторых микроорганизмов могут проявлять бактерицидный эффект. Указанное свойство наиболее выражено у азитромицина за счёт создания более высоких внутриклеточных концентраций.

Для определения содержания родственных примесей [3] в лекарственном препарате Азитромицин используется метод высокоэффективной жидкостной хроматографии.

Разработка методики по определению примесей является необходимой процедурой для аналитической части для исследований примесей. В данной статья приведена разработка и валидация методики [4] определения примесей.

**Валидация методики.**

Валидация методики проводилась по следующим параметрам [5-7]:

1.Специфичность

2.Проверка пригодности хроматографической системы.

3.Специфичность

4.Предел количественного определения

5.Претизионность

6.Правильность, линейность и диапазон

7.Робастность

Оборудование, средства измерения и материалы:

Аналитические весы Mettler Toledo MS105DU, жидкостный хроматограф Waters “Alliance” с УФ-спектрофотометрическим детектором, УЗ-ванна, колбы, пипетки.

Реактивы и растворы:

Во время работы использовались следующие реактивы: **динатрия гидрофосфата додекагидрата,** фосфорная кислота, натрия гидроксид, метанол, ацетонитрил, аммония дигидрофосфат, аммиак.

Условия хроматографического разделения и детектирования.

*Колонка:* хроматографическая колонка из нержавеющей стали размером 250 × 4,6 мм, заполненная октадецилсилильным силикагелем с размером частиц 5 мкм, например, XTerra MS C18. Допускается использование альтернативной колонки, удовлетворяющей требованиям проверки пригодности хроматографической системы;

*Подвижная фаза А:* буферный раствор pH 8,9;

*Подвижная фаза Б:* метанол для жидкостной хроматографии: ацетонитрил для хроматографии (25 : 75);

Скорость потока: 1,0 мл/мин;

Детектор: УФ, 210 нм;

Температура колонки: 60 °С;

Объем пробы: 50 мкл.

Градиент по составу подвижной фазы представлен в таблице1.

Таблица 1.

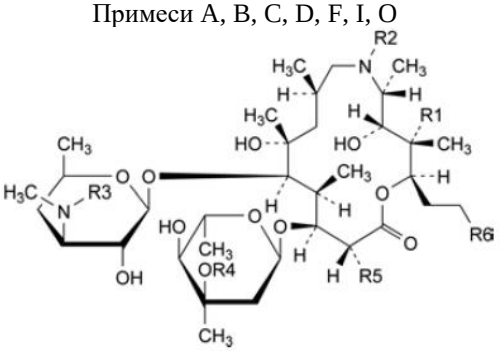
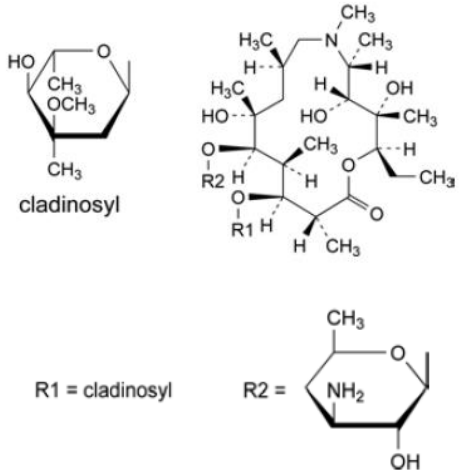
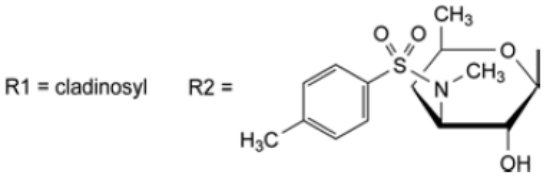
**Градиент по составу подвижной фазы.**

| Время, мин | Подвижная фаза А, % об. | Подвижная фаза Б, % об. |
|---|---|---|
| 0 | 50 | 50 |
| 25 | 45 | 55 |
| 30 | 40 | 60 |
| 80 | 25 | 75 |
| 81 | 50 | 50 |
| 93 | 50 | 50 |

Относительные времена удерживания пиков примесей (относительно пика азитромицина) представлены в таблице 2:

Таблица 2.

**Относительные времена удерживания пиков примесей.**

| Наименование | RRT около |
|---|---|
| Примеси A, B, C, D, F, I, O<br>  <br>*A*. R1–OH, R2–R6–H, R3–R4–R5–$CH_3$: 6-деметилазитромицин, | 0,83 |
| *B*. R1–R6–H, R2–R3–R4–R5–$CH_3$: 3-дезоксиазитромицин (азитромицин B),<br>*C*. R1–OH, R2–R3–R5–$CH_3$, R4–R6–H: 3”-*O*-деметилазитромицин (азитромицин C),<br>*D*. R1–OH, R2–R3–R4–$CH_3$, R5–$CH_2OH$, R6–H:<br>14-деметил-14-(гидроксиметил)азитромицин (азитромицин F),<br>*F*. R1–OH, R2–R4–R5–$CH_3$, R3–CHO, R6–H:<br>3’-*N*-деметил-3’-*N*-формилазитромицин,<br>*I*. R1–OH, R2–R4–R5–$CH_3$, R3–R6–H:<br>3'-N-деметилазитромицин<br>*O*. R1–OH, R2–R3–R4–R5–R6–$CH_3$:<br>2-дезэтил-2-пропилазитромицин. | 1,33<br>0,73<br>0,52<br>0,49<br>0,58<br>1,23 |
| Примесь E<br>  <br>3’-(*N*,*N*-дидеметил)азитромицин (аминоазитромицин) | 0,45 |
| Примесь G<br>  <br>3’-*N*-деметил-3’-*N*-[(4-метилфенил)сульфонил] азитромицин | 1,27 |
| | |

| Наименование | RRT около |
|---|---|
| Примесь H<br>R1 = cladinosyl R2 =<br>3’-*N*-[[4-(ацетиламино)фенил]сульфонил]-3’-*N*-деметилазитромицин | 0,79 |
| Примесь J<br>R1 = H R2 =<br>13-*O*-декладиносилазитромицин | 0,52 |
| Примесь L<br>R1 = cladinosyl R2 =<br>азитромицин 3’-*N*-оксид | 0,28 |
| Примесь M<br>R1 = cladinosyl R2 =<br>3’-(*N*,*N*-дидеметил)-3’-*N*-формилазитромицин | 0,41 |
| Примесь N<br>R1 = cladinosyl R2 =<br>3’-де(диметиламино)-3’-оксоазитромицин | 0,76 |
| Примесь P<br>неизвестная структура | 0,92 |

Результаты испытания считаются достоверным, если выполняются требования теста «Проверка пригодности хроматографической системы».

**Специфичность.**

В условиях валидируемой методики хроматографируют следующие растворы: растворитель, раствор плацебо, испытуемый раствор, раствор для идентификации пиков.

Для подтверждения специфичности методики, заключающейся в возможности точно и

специфично провести исследование искомого вещества при отсутствии интерференции пиков растворителя и компонентов плацебо, анализируют хроматограммы раствора «плацебо», растворителя, отмечая наличие пиков с временами удерживания, совпадающими с временами удерживания пиков азитромицина и примесей A, B, C, E, F, G, I, J, L, M, N, O, P на хроматограмме раствора для идентификации пиков.

Проводят измерение времени удерживания ($t_R$) пика азитромицина на хроматограмме испытуемого раствора и раствора для идентификации пиков. Данные приедены таблице 3.

Таблица 3.

**Измерение времени удерживания азитромицина**

| Специфичность времени удерживания ($t_R$) пика азитромицина | |
|---|---|
| $t_R$ пика на хроматограмме раствора для идентификации пиков, мин ( $А$ ) | |
| 46,668 | |
| $t_R$ пика на хроматограмме испытуемого раствора, мин ( $Б$ ) | |
| 47,489 | |
| Отклонение $t_R$ пика, % | |
| 1,73 | |
| Наличие пиков с $t_R$, совпадающим с $t_R$ азитромицина и примесей A, B, C, E, F, G, I, J, L, M, N, O, P на хроматограмме раствора для идентификации пиков | |
| На хроматограмме раствора «плацебо» | отсутствуют |
| На хроматограмме растворителя | отсутствуют |

Методика определения родственных примесей методом ВЭЖХ является специфичной, т.к.:

-на хроматограммах раствора плацебо, растворителя отсутствуют пики с временами удерживания, совпадающими с временами удерживания пиков азитромицина и примесей A, B, C, E, F, G, I, J, L, M, N, O, P на хроматограмме раствора для идентификации пиков;

-отклонение времени удерживания пика азитромицина на хроматограмме испытуемого раствора от времени удерживания пика азитромицина на хроматограмме раствора для идентификации пиков не превышает 2 %;

Проверка пригодности хроматографической системы

Хроматографическая система считается пригодной, если:

1) на хроматограммах раствора сравнения выполняются следующие условия:

- фактор асимметрии пика азитромицина не более 2,0;

- относительное стандартное отклонение площади, рассчитанное для пика азитромицина, не более 5,0 %.

2) на хроматограмме раствора для проверки чувствительности хроматографической системы отношение сигнал/шум для пика азитромицина не менее 10,0.

3) на хроматограмме раствора для проверки пригодности хроматографической системы отношение высоты пика примеси J к высоте самой низкой точки кривой, соединяющей этот пик с пиком примеси F, не менее 1,4.

Далее приведены результаты проверки пригодности хроматографической системы:

На хроматограмме раствора сравнения:

- относительное стандартное отклонение площади пика азитромицина (*RSD*) – 0,6;

- фактор асимметрии пика азитромицина ($A_s$) – 0,87.

На хроматограмме раствора ППХС:

отношение высоты пика примеси J к высоте самой низкой точки кривой, соединяющей этот пик с пиком примеси F – 2,3.

На хроматограмме раствора ПЧХС:

отношение сигнал/шум для пика азитромицина – 30,5

Условия пригодности хроматографической системы выполнены.

Предел количественного определения

Готовят растворы, содержащие азитромицин при номинальной концентрации, начиная с 0,01 % рабочей концентрации; растворы хроматографируют в условиях, описанных в разделе «Родственные примеси». Рассчитывают отношение сигнал/шум.

Для концентрации, при которой отношение сигнал/шум (S/N) ≥10, готовят пять растворов, хроматографируют, рассчитывают относительное стандартное отклонение (RSD).

**Критерий приемлемости.**

При соотношении сигнал-шум (S/N) ≥ 10, концентрация образца равна пределу количественного определения при значении RSD ≤ 5,0 %

Таблица 4.

| № п/п | Концентрация модельного раствора, мкг/мл | Отношение сигнал/шум | Площадь пика азитромицина | RSD (%) | Концентрация, % относительно содержания основного вещества в испытуемом растворе (около) |
|---|---|---|---|---|---|
| 1 | 4,0 | 31,2 | 11404 | 3,37 | 0,05 % |
| 2 | 4,0 | 30,5 | 11057 | | |
| 3 | 4,0 | 29,3 | 10731 | | |
| 4 | 4,0 | 29,8 | 10854 | | |
| 5 | 4,0 | 28,6 | 10422 | | |

Предел количественного определения азитромицина составил 4,0 (концентрация раствора мкг/мл) при среднем значении RSD = 3,37 %.

Прецизионность

Прецизионность аналитического метода оценивают по результатам не менее шести определений для образцов с содержанием определяемого вещества, близким к номинальному.

Готовят шесть растворов сравнения согласно разделу «Родственные примеси». Проводят анализ в условиях валидируемой методики, вычисляют относительное стандартное отклонение (RSD).

Таблица 5.

| № раствора | Площадь пика азитромицина | |
|---|---|---|
| | Исполнитель 1 | Исполнитель 2 |
| 1 | 225154 | 227549 |
| 2 | 224796 | 221364 |
| 3 | 227496 | 227159 |
| 4 | 226214 | 224551 |
| 5 | 224154 | 225614 |
| 6 | 223104 | 221317 |
| Среднее значение | 225153 | 224592 |
| $RSD_{n=6}$, % (повторяемость) | 0,69 | 1,22 |
| $RSD_{n=12}$, % (внутрилабораторная прецизионность) | 0,95 | |

Прецизионность соответствует требованиям т.к. относительное стандартное отклонение (RSD) (повторяемость) - не более 5,0 % и внутрилабораторная прецизионность – не более 10,0 %.

**Правильность, линейность и диапазон.**

Готовят модельные растворы с разными навесками указанных в таблице 5.

Таблица 6.

| № раствора | Азитромицина дигидрат, мг | Смесь плацебо, мг | Концентрация раствора (X) в % от теоретической по проекту НД |
|---|---|---|---|
| 1 | 10,6 | 115,8 | 0,05 (ПКО) |
| 2 | 42,5 | 115,8 | 0,2 |
| 3 | 106,3 | 115,8 | 0,5 |
| 4 | 170,0 | 115,8 | 0,8 |
| 5 | 212,5 | 115,8 | 1,0 |
| 6 | 255,0 | 115,8 | 1,2 |
| 7 | 318,8 | 115,8 | 1,5 |
| 8 | 425,0 | 115,8 | 2,0 |
| 9 | 510,0 | 115,8 | 2,4 |

Для оценки правильности определяют степень соответствия между известным истинным значением и значением, полученным по данной методике. Правильность методики определяем величиной отношения «найденного» к «введенному».

Результаты сведены в таблицу 7.

Таблица 7.

| Р-р №1 | Р-р №2 | Р-р №3 | Р-р №4 | Р-р №5 | Р-р №6 | Р-р №7 | Р-р №8 | Р-р №9 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| Площадь пика азитромицина на хроматограмме раствора сравнения ( $S_0$ ) | | | | | | | | |
| 225815 | | | | | | | | |
| Площадь пика азитромицина на хроматограмме модельного раствора ( $S$ ) | | | | | | | | |
| 11275 | 44335 | 113684 | 182892 | 226337 | 266401 | 338829 | 449734 | 535742 |
| Навеска СО азитромицина дигидрата для приготовления раствора сравнения , мг ( $a$ ) | | | | | | | | |
| 8,57 | | | | | | | | |
| Навеска субстанции азитромицина дигидрата для приготовления модельного раствора, мг ( $a_0$ ) | | | | | | | | |
| 10,52 | 42,58 | 106,37 | 169,87 | 212,55 | 255,03 | 318,84 | 425,06 | 510,04 |
| Концентрация модельного раствора в % от теоретической по НД, % ( $X$ ) | | | | | | | | |
| 0,05 (ПКО) | 0,2 | 0,5 | 0,8 | 1,0 | 1,2 | 1,5 | 2,0 | 2,4 |
| Коэффициент, учитывающий концентрации и разведение модельных растворов (*V*) | | | | | | | | |
| 1,25 | 5 | 12,5 | 20 | 25 | 30 | 37,5 | 50 | 60 |
| Введено, % (*X*) | | | | | | | | |
| 4,95 | 20,04 | 50,06 | 79,94 | 100,02 | 120,01 | 150,04 | 200,03 | 240,02 |
| Найдено, % (*Y*) | | | | | | | | |
| 5,08 | 19,76 | 50,70 | 81,72 | 101,03 | 118,93 | 151,24 | 200,77 | 239,18 |
| Правильность, % | | | | | | | | |
| 102,71 | 98,60 | 101,29 | 102,23 | 101,01 | 99,10 | 100,79 | 100,37 | 99,65 |
| Линейность и диапазон | | | | | | | | |
| Квадрат коэффициента линейной корреляции | | | | | | | | |
| 0,9998 | | | | | | | | |

Правильность составила 98,60-102,71 %, что не выходит за пределы допустимого диапазона (97-103 %). Квадрат коэффициента линейной корреляции составил 0,9998, линейность подтверждена в рассматриваемом диапазоне.

**Робастность.**

Готовят 3 раствора сравнения и 3 испытуемых раствора.

Растворы проверяют после хранения при комнатной температуре в течение 8 ч (две точки измерения: сразу после приготовления ($S_{нач}$) и через 8 ч ($S_i$)). Результаты сведены в таблицу 8.

Таблица 8.

| Стабильность растворов. | | | |
|---|---|---|---|
| Наименование, № раствора / Время | Сразу после приготовления, ($S_{нач}$) | Через 8 часов, ($S_i$) | Разница в содержании $\frac{S_i - S_{нач}}{S_{нач}} \times 100, \%$ |
| Раствор сравнения №1 | 225154 | 227121 | 0,87 % |
| Раствор сравнения №2 | 224796 | 226328 | 0,68 % |
| Раствор сравнения №3 | 227496 | 224054 | 1,51 % |
| Наименование, № раствора / Время | Сразу после приготовления, ($S_{нач}$) | Через 8 часов, ($S_i$) | Разница в содержании $\frac{S_i - S_{нач}}{S_{нач}} \times 100, \%$ |
| Испытуемый раствор № 1 | 28770208 | 29084785 | 1,09 % |
| Испытуемый раствор № 2 | 29055142 | 28845793 | 0,72 % |
| Испытуемый раствор № 3 | 28832659 | 28469874 | 1,26 % |

Растворы сравнения и испытуемые растворы выдерживают требования по стабильности в течение 8 часов.

**Заключение.**

Разработана и отвалидирована методика определения родственных примесей в лекарственном препарате Азитромицин методом ВЭЖХ. Полученные результаты позволяют

применять разработанную методику при проведении анализа по определению содержания родственных примесей в препарате Азитромицин.

**Список литературы.**

1.Azithromycin. Peters D.H., Friedel H.A., McTavish D. - Drugs, 1992, Nov;44(5):750-99. – Springer.

2.Azithromycin clinical pharmacokinetics, Lalak N.J., Morris D.L. - Clinical pharmacokinetics, Nov;25(5):370-4.1993 – Springer.

3.Quantitative thin-layer chromatographic method of analysis of azithromycin in pure and capsule forms .A. Khedr, M. Sheha - Journal of chromatographic science, 2003. URL: https://academic.oup.com.

4.XII Государственная фармакопея РФ - 2 часть - М: - Научный центр экспертизы средств медицинского применения, 2010 год. [XII State Pharmacopoeia of the Russian Federation - 2 part - M: - Scientific Center for Expertise of Medical Applications, 2010.]

5.Валидация аналитических методик для производителей лекарств. Под ред. Береговых В.В. Москва, 2008 - 132 с. [Validation of analytical techniques for drug manufacturers. Edited by. Beregovyh V.V., Moscow, 2008 - 132 p.]

6.Аладышева Ж.И., Береговых В.В., Мешковский А.П. Основные принципы проведения валидации на фармацевтическом производстве. Москва, 2005 г. [Aladysheva Zh.I., Beregovy V.V., Meshkovsky A.P. The basic principles of validation in the pharmaceutical industry. Moscow, 2005]

7. Note for guidance on validation of analytical procedures: text and methodology (cpmp/ich/381/95) ICH Q2(R1). Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology. European Medicines Agency. 1995. URL: https://www.ema.europa.eu/en/documents/scientific-guideline/ich-q-2-r1-validation-analytical-procedures-text-methodology-step-5_en.pdf