

СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ГИДРОХЛОРИДА МИНОЦИКЛИНА В ВОДНОМ РАСТВОРЕ

Т.А. Крысанова¹, Н.А. Тютин¹, А.А. Фомина¹, В.А. Крысанов¹, Е.Г. Давыдова²

¹ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет»

²ФГБОУ ВО «Воронежский государственный технический университет»

Поступила в редакцию 2.04.2024 г.

Аннотация. Тетрациклины относятся к антибиотикам, активно применяемым в медицине и ветеринарии для лечения широкого спектра заболеваний. Среди полусинтетических антибиотиков группы тетрациклинов класса поликетидов представляет интерес гидрохлорид миноциклина, который обладает отсутствием перекрестной резистентности для бактерий и лучшими характеристиками проникновения в ткани по сравнению с аналогами тетрациклина. Препарат используется при лечении угревой сыпи, инфекционно-воспалительных заболеваний, вызванных чувствительными к миноциклину возбудителями (в том числе пневмонии, бронхита, ангины, пиелонефрита, кишечных инфекций, эндометрита, риккетсиозы, остеомиелита).

Определение тетрациклинов является сложной задачей, так как они имеют большое количество функциональных групп. Большинство лекарственных веществ обладает собственным светопоглощением в УФ и видимой области спектра, поэтому среди всех методов определения антибиотиков можно выделить спектрофотометрический анализ, достоинством которого служит экспрессность, незначительное количество необходимого вещества и его сохранение в процессе анализа.

Спектрофотометрическим методом получены данные о спектральных характеристиках водного раствора гидрохлорида миноциклина. Выявлены оптимальные условия количественного анализа исследуемого антибиотика, получен полный спектр поглощения при 25 °С, определена аналитическая длина волны, соответствующая ярко выраженному максимуму при 277 нм.

Исследованием зависимости абсорбционности от значения pH установлено, что положение основного максимума ($\lambda=277$ нм, pH=4,5) не сохраняется при изменении значений pH раствора. В областях значений $1 \leq \text{pH} \leq 3,5$ и $6 \leq \text{pH} \leq 10$ наблюдается смещение максимумов пиков в сторону коротких длин волн, что может быть связано с различным поглощением разных ионных форм препарата при снижении степени сопряжения двойных связей.

При $\lambda=277$ нм представлен градуировочный график зависимости абсорбционности от концентрации гидрохлорида миноциклина в водных растворах в интервале 0,05 - 0,50 ммоль/дм³, рассчитан молярный коэффициент светопоглощения ϵ_{277} , равный $3,23 \cdot 10^3$ дм³/моль·см. Определено время установления равновесия в водном растворе антибиотика, которое составляет 30 минут с момента приготовления водного раствора препарата.

Ключевые слова: спектрофотометрический анализ, водный раствор гидрохлорида миноциклина

Тетрациклиновые антибиотики занимают второе место после β -лактамов по широте клинического применения, они высокоактивны против грамположительных и большинства грамотрицательных бактерий и применяются для борьбы с пневмонией, дизентерией, коклюшем, гонореей, бруцеллезом, тифом, холециститом, менингитом, гнойными осложнениями в хирургии [1, 2]. Определение тетрациклинов является сложной задачей. Эти соединения обладают большим количеством функциональных групп и несколькими

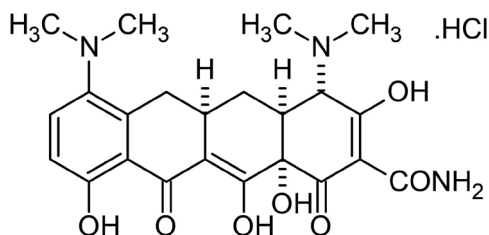
константами диссоциации в широком диапазоне pH, поэтому экстракция и хроматография таких соединений довольно сложны [3-6].

Поиск полусинтетических аналогов тетрациклинов оказался малопродуктивным. В настоящее время ограниченное применение находят лишь некоторые соединения, из которых наиболее интересен миноциклин, обладающий более широким спектром активности, отсутствием перекрестной резистентности для бактерий и лучшими характеристиками проникновения в ткани по сравнению с аналогами тетрациклина, что, вероятно, связано с ярко выраженной липофильностью миноциклина в физиологическом диапазоне pH [7-9].

Литературные данные свидетельствуют о том, что разработке исследования миноциклина спектрофотометрическим методом было уделено мало внимания [10-12], между тем, несмотря на невысокую универсальность данного метода, достоинством его служит экспрессность, незначительное количество необходимого вещества и его сохранение в процессе анализа [13,14]. Исходя из этого, целью работы являлось получение спектрофотометрических характеристик водного раствора гидрохлорида миноциклина.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В качестве объекта исследования выбран полусинтетический тетрациклиновый антибиотик второго поколения – гидрохлорид миноциклина. Химическое название (ИЮПАК): (4S,4aS,5aR,12aR)-4,7-бис(диметил-амино)-1,10,11,12а – тетрагидрокси - 3,12 – диоксо - 4а,5,5а,6 – тетрагидро - 4Н - тетрацен-2-карбоксамид моногидрохлорид [15]. В работе использовали чистые образцы (х.ч.) препарата фирмы “Fengchengroup” (Китай). Гидрохлорид миноциклина выпускается в виде желтого кристаллического порошка без запаха с горьковатым вкусом. Некоторые физико-химические характеристики гидрохлорида миноциклина: температура плавления 234 °С; молекулярная масса 493,94; растворимость образца в воде при 25 °С – 16 мг/мл. Гидрохлорид миноциклина имеет четыре ионизируемые группы с константами диссоциации $pK_{a1} = 2,8$; $pK_{a2} = 5,0$; $pK_{a3} = 7,8$; и $pK_{a4} = 9,3$ [16,17]. Структурная формула препарата представлена ниже:



Ежедневно по точной навеске готовили стандартный раствор антибиотика с концентрацией 0,30 ммоль/дм³. Полученный раствор использовали для приготовления серии стандартных растворов с концентрациями 0,05 – 0,30 ммоль/дм³. Для изучения влияния pH на спектр поглощения применяли раствор гидрохлорида миноциклина с концентрацией 0,15 ммоль/дм³ (pH=4,5). Для достижения pH < 4,5 применяли 1М раствор HCl; pH > 4,5 – 1 М раствор NaOH. Спектрофотометрические измерения в УФ области проводили на спектрофотометре УФ-1200 с кварцевыми кюветами 10 мм (ошибка метода составила 3 %) [13].

Величину pH измеряли с помощью лабораторного иономера И-160 МИ (ошибка 1%).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Известно, что антибиотики тетрациклинового ряда могут существовать в различных ионных формах в зависимости от pH среды, следовательно, их спектры поглощения могут быть разными при различных pH раствора [18,19]. С помощью уравнений материального баланса и констант диссоциации было рассчитано содержание различных форм препарата в водном растворе (рис.1).

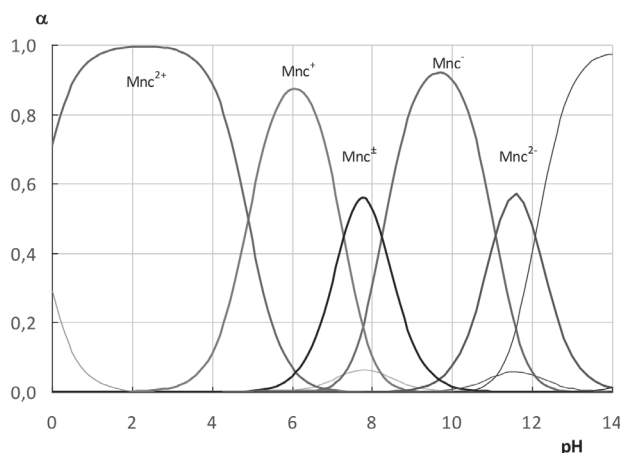


Рис. 1. Диаграмма распределения ионных форм гидрохлорида миноциклина

При исследовании полного спектра поглощения водного раствора гидрохлорида миноциклина с различными концентрациями исследуемого диапазона при температуре 25°С при pH=4,5, где антибиотик присутствовал в растворе преимущественно в виде катиона, было установлено, что влияние изменения концентрации препарата на положение максимумов незначительно.

Выявлено, что для спектра водного раствора гидрохлорида миноциклина характерно наличие слабо выраженного широкого максимума поглощения при 241 нм и максимума с ярко выраженной колебательной структурой в УФ-области при 277 нм (рис. 2), что не противоречит данным исследования [10].

Для оценки оптимальных спектральных характеристик был выбран четко выраженный максимум поглощения с концентрацией 0,15 ммоль/дм³ при pH=4,5, характеризующийся наибольшим коэффициентом светопоглощения по сравнению с другими пиками.

На рис. 3 представлен спектр поглощения для растворов гидрохлорида миноциклина с различным значением pH.

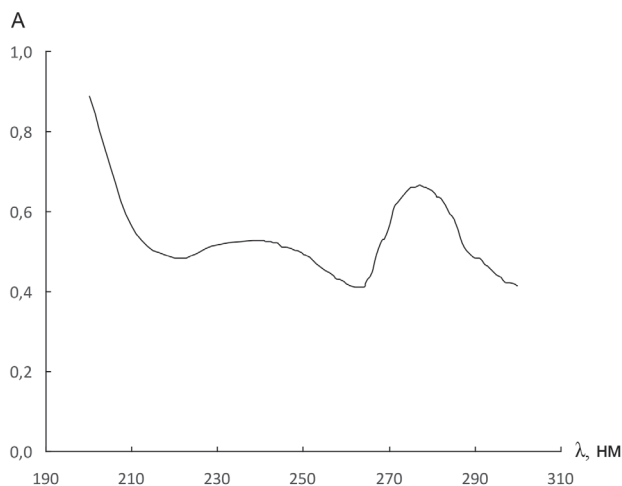


Рис. 2. Спектр поглощения гидрохлорида миноциклина при pH=4,5; $C_{MNC} = 0,15$ ммоль/дм³; $l = 1$ см

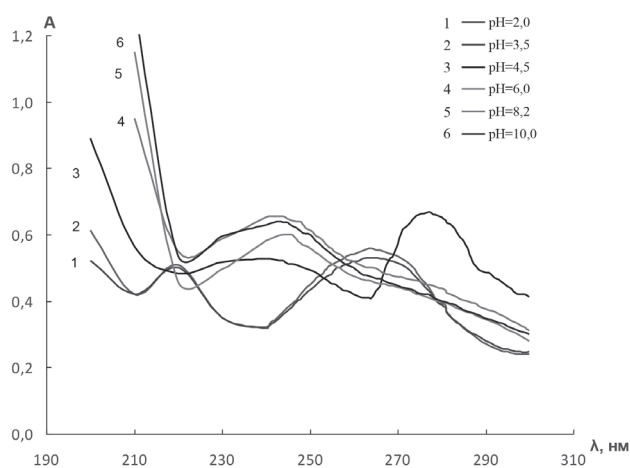


Рис. 3. Спектры поглощения растворов гидрохлорида миноциклина с концентрацией $0,15$ ммоль/дм³ при различных pH: 1 – 3,5; 2 – 2,0; 3 – 4,5; 4 – 6,0; 5 – 8,2; 6 – 10,0

Выявлено, что положение основного максимума при $\lambda = 277$ нм не сохраняется при изменении значений pH раствора. При $pH < 4,5$ наблюдается гипсомный сдвиг максимума поглощения до 264 нм с уменьшением его интенсивности. Повышение pH раствора от 6,0 и выше (в растворе в основном присутствуют цвиттер-ионы и анионы антибиотика) приводит к исчезновению максимума при 277 нм и к увеличению абсорбционности при 241 нм. Вероятно, изменения в спектре поглощения вызваны различием в поглощении разных ионных форм препарата при снижении степени сопряжения двойных связей.

Для определения времени установления равновесия в растворе гидрохлорида миноциклина снимали кинетическую кривую образования водного раствора препарата. В течение 30 минут с момента приготовления водного раствора антибиотика на-

блюдается уменьшение молярного коэффициента светопоглощения (ϵ_{277}), затем значения ϵ_{277} остаются постоянными. Хранение водного раствора препарата более 10 часов приводит к резкому уменьшению коэффициента поглощения и уширению основного максимума поглощения, что, вероятно, также связано с изменениями в электронных спектрах различных ионных форм в растворе антибиотика [20].

Для оценки спектрофотометрического определения гидрохлорида миноциклина при длине волны 277 нм строили градуировочный график зависимости абсорбционности от концентрации антибиотика в водных растворах в интервале $0,05$ – $0,30$ ммоль/дм³ (рис.4). Толщина светопоглощающего слоя равнялась 1 см.

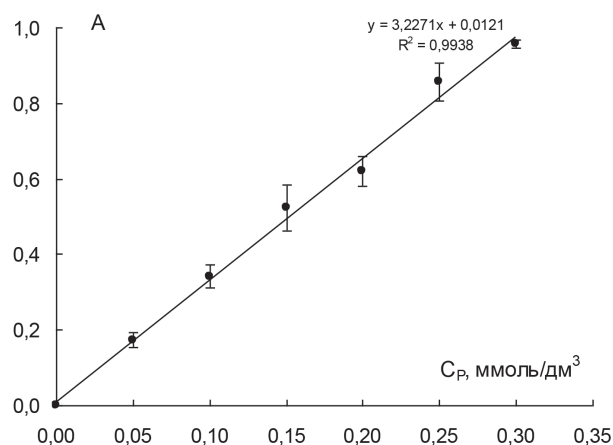


Рис. 4. Градуировочный график для определения миноциклина гидрохлорида в водном растворе при $\lambda = 277$ нм, $C = 0,05$ – $0,30$ ммоль/дм³; $\epsilon_{277} = 3,23 \cdot 10^3$ дм³/моль·см.

По градуировочному графику (тангенсу угла наклона) был рассчитан молярный коэффициент светопоглощения (ϵ_{277}), который составил $3,3 \cdot 10^3 \pm 0,05 \cdot 10^3$ дм³/моль·см. Предел обнаружения антибиотика – $0,012$ ммоль/дм³; относительное стандартное отклонение (в серии из пяти параллельных опытов в идентичных условиях) при определении $0,15$ ммоль/дм³ гидрохлорида миноциклина – $0,025$).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, при выборе оптимальных условий количественного анализа гидрохлорида миноциклина спектрофотометрическим методом следует учитывать влияние pH среды, времени установления равновесия при образовании раствора препарата в определенном интервале концентраций при соблюдении основного закона светопоглощения.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Егоров Н.С. Основные учения об антибиотиках / Н.С. Егоров. – Москва: МГУ, Наука, 2004. – 528 с.
2. Garrido-Mesa N. Minocycline: far beyond an antibiotic / N. Garrido-Mesa, A. Zarzuelo, J. Galvez // Br. J. Pharmacol. – 2013. – V.169, № 2. – P.37-52.
3. Mascher H. J. Determination of minocycline in human plasma by highperformance liquid chromatography with UV detection after liquid-liquid extraction / H.J. Mascher // Journal of Chromatography. – 1998, №812. – С. 339-342.
4. Prasad Adapa V.S.S. Determination of minocycline by oxidative coupling and diazocoupling reactions in pharmaceutical formulations / Adapa V.S.S. Prasad, S.R. Lakshmi Chilukuri, S.P. Sastry Chilukuri, Viprava P. Uppuleti // Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. – 2002. – V.30, №3. – С. 491- 498.
5. Черкашина К.Д. Жидкостная микроэкстракция тетрациклинов из биологических жидкостей для их последующего определения методом высокоэффективной жидкостной хроматографии с УФ-детектированием / К.Д. Черкашина, А.И. Сумина, К.С. Вах, А.В. Булатов // Журнал аналитической химии. – 2020. – Т. 75, № 11. – С. 1014-1020.
6. Araujo M.V. Determination of minocycline in human plasma by high-performance liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry: application to bioequivalence study / M. V. Araujo, D. R. Ifa, W. Ribeiro, M.E. Moraes, M.O. Moraes, G. de Nucci // Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications. – 2001. – V. 755, Iss. 1-2. – P.1-7.
7. Самцов А.В. Миноциклин в системной терапии акне / А.В. Самцов // Вестник дерматологии и венерологии. – 2020. – Т.96, №1. – С. 67-71.
8. Beliavskaia I.V. Study of the mechanism of action of minocycline and of certain other tetracycline group compounds / I.V. Beliavskaia, M. K. Kukhanova, I.Yu. Sazykin, S.M. Navashin // Antibiotiki. – 1976. – V.21, №3. – P. 242-245.
9. Jonas M. Minocycline / M. Jonas, B.A. Cunha // Therapeutic Drug Monitoring. – 1982. – V.4, Iss.2. – P. 115-146.
10. Mohite P.B. Derivative spectrophotometric estimation of minocycline hydrochloride in bulk and pharmaceutical dosage forms / P.B. Mohite, R. B. Pandhare, S. G. Khanage, V. H. Bhaskar // International Journal of PharmTech Research. – 2010. – V.2, № 1. – P.177-180.
11. Mori I. Applications of xanthene derivatives in analytical chemistry. Part LVII. Spectrophotometric determination of minocycline using gallium and Eosin / I. Mori, Y. Fujita, H. Kawabe, K. Fujita, T. Tanaka, A. Kishimoto // Analyst. – 1986. – V.111, Iss.12. – P. 1409-1412.
12. Raghavendra Guru Prasad A. First derivative spectrophotometric determination of demeclocycline and minocycline in clinical samples, urine and homey / A. Raghavendra Guru Prasad, V. Suryanarayana Rao // Scientific World. – 2010. – V. 8, № 8. – P. 34-38.
13. Оптические методы в фармацевтическом анализе: лабораторный практикум / Ю. А. Глазырина, С. Ю. Сараева, А. Н. Козицина, Е. Л. Герасимова, А. И. Матерн; под общ. ред. С. Ю. Сараевой. – Министерство образования и науки РФ, Екатеринбург: Изд во Уральского ун та, 2015. – 96 с.
14. Берштейн И.Я. Спектрофотометрический анализ в органической химии / И.Я. Берштейн, Ю.Л. Каминский. – Ленинград: Химия, 1981. – 198 с.
15. Zbinovsky V. Minocycline hydrochloride / V. Zbinovsky and G.P. Chrekan // Analytical profile of drug substances: th Edn. Florey K. Academic Press, New York, 1977. – P. 323-339.
16. Dinnendahl V. Minocyclin. Arzneistoff-Profil / V. Dinnendahl, U. Fricke. – 2010. – V.7, Iss. 24. Eschborn, Germany: Govi Pharma-zeutischer Verlag.
17. Tinotenda Chipo Victoria Sachikonye Development and assessment of minocycline sustained release capsule formulation: A Thesis Submitted to Rhodes University in Fulfillment of the Requirements for the degree of Master of Science (Pharmacy). Rhodes University Grahamstown, South Africa, 2010. – 185 p.
18. Власова И.В. Спектрофотометрические методы в анализе лекарственных препаратов / И.В. Власова, А.В. Шилова, Ю. С. Фокина // Заводская лаборатория. Диагностика материалов. – 2011. – Т. 77, №1. – С.21-28.
19. Colaizzi J.L. pH-Partition behavior of tetracyclines / J.L. Colaizzi, P. R. Klink // J. Pharm. Sci. – 1969. – V.58, №10. – P. 1184-1189.
20. Штерн Э. Электронная абсорбционная спектроскопия в органической химии / Э. Штерн, К. Тиммонс. – Москва: Мир, 1974. – 296 с.

Крысанова Т.А., Тютина Н.А., Фомина А.А., Крысанов В.А., Давыдова Е.Г.

Воронежский государственный университет
*Крысанова Татьяна Анатольевна, к.х.н., доцент кафедры аналитической химии
E-mail: takrys@yandex.ru

Voronezh State University
*Krysanova Tatiana A., PhD., associate professor at Department of Analytical Chemistry
E-mail: takrys@yandex.ru

Тютина Наталья Андреевна, студентка кафедры аналитической химии
E-mail: tyutina170@mail.ru

Tyutina Natalya A., student of the Department of Analytical Chemistry
E-mail: tyutina170@mail.ru

Фомина Алина Александровна, студентка кафедры аналитической химии
E-mail: alina.fomina.2002@inbox.ru

Fomina Alina A., student of the Department of Analytical Chemistry
E-mail: alina.fomina.2002@inbox.ru

Крысанов Вячеслав Александрович, к.х.н., доцент кафедры физической химии
E-mail: krysanov@chem.vsu.ru

Krysanov Viacheslav A., PhD., associate professor at Department of Analytical Chemistry
E-mail: krysanov@chem.vsu.ru

Воронежский государственный технический университет
Давыдова Екатерина Геннадьевна, к.х.н., доцент кафедры химии и химической технологии материалов
E-mail: davkat@mail.ru

Voronezh State Technical University
Davydova Ekaterina G., PhD., associate professor at Department of Chemistry and Chemical Technology of materials
E-mail: davkat@mail.ru

SPECTROPHOTOMETRIC DETERMINATION OF MINOCYCLINE HYDROCHLORIDE IN AQUEOUS SOLUTION

T.A. Krysanova¹, N.A. Tyutina¹, A.A. Fomina¹, V.A. Krysanov¹, E.G. Davydova²

¹Voronezh State University

²Voronezh State Technical University

Abstract. Tetracyclines belong to antibiotics actively used in medicine and veterinary medicine for the treatment of a wide range of diseases. Among semi-synthetic antibiotics of the tetracyclines group of the polyketide class, minocycline hydrochloride is of interest, which has no cross-resistance for bacteria and better tissue penetration characteristics compared to tetracycline analogs. The drug is used in the treatment of acne, infectious and inflammatory diseases caused by minocycline-sensitive pathogens (including pneumonia, bronchitis, angina, pyelonephritis, intestinal infections, endometritis, rickettsiosis, osteomyelitis).

Determination of tetracyclines is a difficult task, as they have a large number of functional groups. Most drugs have their own light absorption in the UV and visible spectral region, so among all methods of antibiotic determination we can emphasize spectrophotometric analysis, the advantage of which is expressiveness, small amount of the required substance and its preservation in the process of analysis.

Spectrophotometric method was used to obtain data on the spectral characteristics of aqueous solution of minocycline hydrochloride. The optimal conditions for quantitative analysis of the antibiotic under study were revealed, the full absorption spectrum at 25 °C was obtained, and the analytical wavelength corresponding to a pronounced maximum at 277 nm was determined.

By studying the dependence of absorbance on pH value it was found that the position of the main maximum ($\lambda=277$ nm, pH=4,5) is not preserved when the pH value of the solution is changed. In the regions of values $1 \leq \text{pH} \leq 3.5$ and $6 \leq \text{pH} \leq 10$ there is a shift of peak maxima towards shorter wavelengths, which may be due to different absorption of different ionic forms of the drug with decreasing degree of conjugation of double bonds.

At $\lambda=277$ nm a calibration plot of absorbance dependence on the concentration of minocycline hydrochloride in aqueous solutions in the range of 0,05 – 0,50 mmol/dm³ is presented, the molar coefficient of light absorption ε 277, equal to $3,23 \cdot 10^4$ dm³/mol·cm, is calculated. The time of equilibrium establishment in the aqueous solution of the antibiotic was determined, which is 30 minutes from the moment of preparation of the aqueous solution of the drug.

Keywords: spectrophotometric analysis, aqueous solution of minocycline hydrochloride

REFERENCES

1. Egorov N.S. Osnovnye ucheniya ob antibiotikakh / N.S. Egorov. – Moscow: MGU, Nauka, 2004. – 528 s.
2. Garrido-Mesa N. Minocycline: far beyond an antibiotic / N. Garrido-Mesa, A. Zarzuelo, J. Galvez // Br. J. Pharmacol. – 2013. – V.169, № 2. – P.37-52.
3. Mascher H. J. Determination of minocycline in human plasma by highperformance liquid chromatography with UV detection after liquid-liquid extraction / H.J. Mascher // Journal of Chromatography. – 1998, №812. – C. 339-342.
4. Prasad Adapa V.S.S. Determination of minocycline by oxidative coupling and diazocoupling reactions in pharmaceutical formulations / Adapa V.S.S. Prasad, S.R. Lakshmi Chilukuri, S.P. Sastry Chilukuri, Viprava P. Uppuleti // Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis. – 2002. – V.30, №3. – C. 491- 498.
5. Cherkashina K.D. Zhidkostnaya mikroekstraktsiya tetratsiklinov iz biologicheskikh zhidkostei dlya ikh posleduyushchego opredeleniya metodom vysokoeffektivnoi zhidkostnoi khromatografii s UF-detektirovaniem / K.D. Cherkashina, A.I. Sumina, K.S. Vakh, A.V. Bulatov // Zhurnal analiticheskoi khimii. – 2020. – T. 75, № 11. – C. 1014-1020.
6. Araujo M.V. Determination of minocycline in human plasma by high-performance liquid chromatography coupled to tandem mass spectrometry: application to bioequivalence study / M. V. Araujo, D. R. Ifa, W. Ribeiro, M.E. Moraes, M.O. Moraes, G. de Nucci // Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications. – 2001. – V. 755, Iss. 1-2. – P.1-7.
7. Samtsov A.V. Minotsiklin v sistemnoi terapii akne / A.V. Samtsov // Vestnik dermatologii i venerologii. – 2020. – T.96, №1. – S. 67-71.
8. Beliavskaia I.V. Study of the mechanism of action of minocycline and of certain other tetracycline group compounds / I.V. Beliavskaia, M. K. Kukhanova, I.Yu. Sazykin, S.M. Navashin // Antibiotiki. – 1976. – V.21, №3. – P. 242-245.
9. Jonas M. Minocycline / M. Jonas, B.A. Cunha // Therapeutic Drug Monitoring. – 1982. – V.4, Iss.2. – P. 115-146.
10. Mohite P.B. Derivative spectrophotometric estimation of minocycline hydrochloride in bulk and pharmaceutical dosage forms / P.B. Mohite, R. B. Pandhare, S. G. Khanage, V. H. Bhaskar // International Journal of PharmTech Research. – 2010. – V.2, № 1. – P.177-180.
11. Mori I. Applications of xanthene derivatives in analytical chemistry. Part LVII. Spectrophotometric determination of minocycline using gallium and Eosin / I. Mori, Y. Fujita, H. Kawabe, K. Fujita, T. Tanaka, A. Kishimoto // Analyst. – 1986. – V.111, Iss.12. – P. 1409-1412.
12. Raghavendra Guru Prasad A. First derivative spectrophotometric determination of demeclocycline and minocycline in clinical samples, urine and homey / A. Raghavendra Guru Prasad, V. Suryanarayana Rao // Scientific World. – 2010. – V. 8, № 8. – P. 34-38.
13. Opticheskie metody v farmatsevticheskom analize: laboratornyi praktikum / Yu. A. Glazyrina, S. Yu. Saraeva, A. N. Kozitsina, E. L. Gerasimova, A. I. Matern; pod obshch. red. S. Yu. Saraevoi. – Ministerstvo obrazovaniya i nauki RF, Ekaterinburg: Izd vo Ural'skogo un ta, 2015. – 96 s.
14. Bershtein I.Ya. Spektrofotometricheskii analiz v organicheskoi khimii / I.Ya. Bershtein, Yu.L. Kaminskii. – Leningrad: Khimiya, 1981. – 198 s.
15. Zbinovsky V. Minocycline hydrochloride / V. Zbinovsky and G.P. Chrekan // Analytical profile of drug substances: th Edn. Florey K. Academic Press, New York, 1977. – P. 323-339.
16. Dinnendahl V. Minocyclin. Arzneistoff-Profil / V. Dinnendahl, U. Fricke. – 2010. – V.7, Iss. 24. Eschborn, Germany: Govi Pharma-zeutischer Verlag.
17. Tinotenda Chipo Victoria Sachikonye Development and assessment of minocycline sustained release capsule formulation: A Thesis Submitted to Rhodes University in Fulfillment of the Requirements for the degree of Master of Science (Pharmacy). Rhodes University Grahamstown, South Africa, 2010. – 185 p.
18. Vlasova I.V. Spektrofotometricheskie metody v analize lekarstvennykh preparatov / I.V. Vlasova, A.V. Shilova, Yu. S. Fokina // Zavodskaya laboratoriya. Diagnostika materialov. – 2011. –T. 77, №1. – C.21-28.
19. Colaizzi J.L. pH-Partition behavior of tetracyclines / J.L. Colaizzi, P. R. Klink // J. Pharm. Sci. – 1969. – V.58, №10. – R. 1184-1189.
20. Shtern E. Elektronnaya absorbtionnaya spktroskopiya v organicheskoi khimii / E. Shtern, K. Timmons. – Moscow: Mir, 1974. – 296 s.