



УКРАЇНА

(19) UA (11) 63351 (13) U

(51) МПК

A61K 31/545 (2006.01)

G01N 21/17 (2006.01)

G01N 33/15 (2006.01)

ДЕРЖАВНА СЛУЖБА
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
УКРАЇНИОПИС
ДО ПАТЕНТУ
НА КОРИСНУ МОДЕЛЬвидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ КІЛЬКІСНОГО ВИЗНАЧЕННЯ ЦЕФАЛОСПОРИНІВ

1

2

(21) u201102088

(22) 22.02.2011

(24) 10.10.2011

(46) 10.10.2011, Бюл. № 19, 2011 р.

(72) БЛАЖЕСВСЬКИЙ МИКОЛА ЄВСТАХІЙОВИЧ,
ЛАБУЗОВА ЮЛІЯ ЮРІЇВНА(73) НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІ-
ВЕРСИТЕТ(57) Спосіб кількісного визначення цефалоспори-
нів, що включає підготовку проби шляхом послідо-

вного додавання до проби випробуваного зразка окисника та розчину лугу з подальшим вимірюванням оптичної густини одержаного розчину, який **відрізняється** тим, що як окисник використовують 0,02 моль/л розчин калій гідрогенкарбонату, розчин лугу додають у концентрації 0,61 моль/л натрію гідроксиду калій гідрогенкарбонату (калій пероксомоносульфат), додають розчин лугу, а вимірювання здійснюють у часі.

Корисна модель належить до аналітичної та фармацевтичної хімії, а саме – до способів визначення цефалоспоринів, та може знайти застосування для кількісного визначення зазначеної речовини у практиці центральних заводських лабораторій, хімічних і фармацевтичних підприємств, контрольно-аналітичних лабораторій та аптечних установ.

Цефалоспори́ни відносяться до групи напівсинтетичних беталактамних антибіотиків, широко використовуються при лікуванні інфекційних захворювань, викликаних чутливими до нього мікроорганізмами. Завдяки високій ефективності та низькій токсичності, вони посідають одне з перших місць по частоті клінічного використання серед усіх антимікробних препаратів.

Відомий спосіб кількісного визначення цефалоспоринів, який полягає у окисненні випробуваного зразка калій перманганатом у присутності лугу з наступним вимірюванням світлопоглинання одержаного продукту реакції - манганат-іонів при довжині хвилі 610 нм. [Omar Mahmoud A., Abdelmageed Osama A., Attia Tamer Z. Kinetic Spectrophotometric Determination of Certain Cephalosporins in Pharmaceutical Formulations // Int. J. Anal. Chem. - 2009. - Article ID 596379, 12 pages, 2009. doi:10.1155/2009/596379.]

До недоліків даного способу можна віднести його низьку точність та чутливість, адже світлопоглинання вимірюють одноразово, а нижня межа

визначуваних концентрацій становить 5 мкг/мл. Крім того, метод є непрямим, оскільки визначення цефалоспоринів здійснюють за продуктом перетворення використовуюваного окисника.

Найбільш близьким до заявленого способу є спосіб кількісного визначення цефалексину кінетичним методом фіксованого часу за індикаторною реакцією з $5 \cdot 10^{-3}$ моль/л розчином $\text{Co}(\text{NO}_3)_2$ у $1 \cdot 10^{-3}$ моль/л розчині натрій гідроксиду при 60 °C з наступним вимірюванням світлопоглинання утвореного продукту гідролітичного розщеплення цефалексину при 310 нм через 6 хв. [Alwarthan A. A., Al-Lohedan H. A. Kinetic determination of cephalexin in drug formulations // Talanta. - 1994. - 41. - P. 225-231]. За даними дослід будують градувальний графік залежності оптичної густини від концентрації продукту гідролітичного розщеплення цефалексину.

Відомий спосіб чутливий в інтервалі концентрацій досліджуваної речовини 5-15 мкг/мл або нижня межа визначуваних концентрацій досліджуваної речовини становить 5 мкг/мл.

Недоліком даного способу є низька точність та чутливість, а також необхідність нагрівання реакційної суміші до 60 °C впродовж 6 хв.

Задачею корисної моделі є створення способу кількісного визначення цефалоспоринів, який шляхом використання нового окисника та розчину лугу за кімнатної температури, дозволяє підвищити чутливість способу та скоротити час аналізу.

(19) UA (11) 63351 (13) U

Поставлена задача вирішується таким чином, що у способі кількісного визначення цефалоспоринов, який включає підготовку проби шляхом послідовного додавання до випробуваного зразку розчину окисника та розчину лугу, зокрема натрій гідроксиду, з подальшим фотометруванням одержаного розчину, на відміну від найближчого аналога передбачено, що як окисник використовують $4 \cdot 10^{-4}$ моль/л розчин калій гідрогенкарбонату, розчин лугу додають у концентрації $2,4 \cdot 10^{-2}$ моль/л, а вимірювання оптичної густини здійснюють у часі. Нижня межа визначуваних концентрацій цефалоспоринов становить 1 мкг/мл. Всі параметри заявленого способу визначені дослідним шляхом.

Експериментальним шляхом встановлено, що порядок змішування розчинів суттєво чинить вплив на кінетику та вихід продукту реакції. Найвища швидкість накопичення продукту реакції спостерігається лише після попереднього змішування розчину зразка досліджуваного цефалоспоринов з розчином калій гідрогенкарбонату, а відтак - розчином лугу. Максимальна активність калій гідрогенкарбонату у реакції спостерігалася при її концентрації $4 \cdot 10^{-4}$ моль/л. Встановлено, що оптимальна концентрація лугу, при якій спостерігалася найбільша швидкість утворення продукту реакції, $2,4 \cdot 10^{-2}$ моль/л. У відсутності калій гідрогенкарбонату у зазначених вище умовах впродовж 30 хв. (час спостереження) утворення продукту реакції не відбувалось. Такий необхідний надлишок калій гідрогенкарбонату може бути пояснений його участю у процесі подальшого гідролітичного розщеплення утвореного на першій стадії реакції відповідного S-оксиду цефалоспоринов в лужному середовищі.

Заявлений спосіб дозволяє спростити процедуру виконання аналізу уникаючи нагрівання реакційної суміші, а також підвищити чутливість та точність визначення.

Корисну модель здійснюють наступним чином. У мірні колби на 50 мл за допомогою мікrobюретки послідовно відміряють 0,5; 1,00; 2,00; 4,00; 6,00; 7,00; 8,00 мл стандартного розчину досліджуваного цефалоспоринов, при постійному перемішуванні додають по 2,00 мл 0,02 моль/л розчину калій гідрогенкарбонату та по 2,00 мл 0,61 моль/л розчину натрій гідроксиду з наступним доведенням об'єму дистильованою водою до позначки. Після додавання розчину лугу починають відлік часу. Одержані розчини фотометрують у кварцовій кюветі з товщиною 1 см при відповідній довжині хвилі для досліджуваного цефалоспоринов проти дистильованої води (компенсаційний розчин) впродовж 10

хв. через кожну хвилину або одноразово через 20хв. За даними дослідів будують градувальну залежність тангенсу кута нахилу лінійної ділянки кінетичної кривої $\text{tg}\alpha$ від концентрації досліджуваного цефалоспоринов або залежність оптичної густини за 20 хв, A_{20} від концентрації досліджуваного цефалоспоринов.

Корисна модель ілюструється прикладами.

Приклад 1. Кількісне визначення цефалексину у гранулах для приготування пероральних суспензій кінетичним методом здійснювали наступним чином. Близько 0,5 г (точна наважка) препарату розчиняли в 50 мл дистильованої води, фільтрували у мірну колбу місткістю 100 мл, доводили об'єм розчину до позначки і ретельно перемішували. 2,00 мл отриманого розчину переносили у мірну колбу на 100 мл, при постійному перемішуванні послідовно додавали 4,00 мл 0,02 моль/л розчину калій гідрогенкарбонату, 3,4 мл 0,61 моль/л розчину натрій гідроксиду та доводили об'єм до позначки дистильованою водою. Після додавання розчину лугу починали відлік часу. Отриманий розчин фотометрували у кварцовій кюветі з товщиною 1 см при 305 нм, використовуючи дистильовану воду як компенсаційний розчин, щохвилини протягом 10хв. та будували кінетичну криву залежності оптичної густини розчину від часу, знаходили тангенс кута нахилу ділянки кінетичної кривої.

Кількісне визначення цефалексину здійснювали у відповідності з градувальним графіком (мал. 1) залежності концентрації цефалексину (С, мкг/мл) від тангенса кута нахилу лінійної ділянки кінетичної кривої.

Аналіз даних (мал. 1) свідчить, що в межах від 1 до 14 мкг/мл, умовна швидкість реакції зберігає лінійний характер залежно від концентрації цефалексину. Це дозволяє здійснювати визначення цефалексину в зазначеному інтервалі концентрацій стандартним кінетичним методом тангенсів (початкових швидкостей).

Вміст цефалексину у перерахунку на цефалексину моногідрат ($\text{C}_{16}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_5\text{S}$) в гранулах (Х, мг) розраховували за формулою:

$$X = C \cdot 20,$$

де, С - вміст цефалексину, розрахований за методом стандарту, мкг/мл,

$$C = \frac{C_{\text{cm}}}{\text{tg}\alpha_{\text{cm}}} \cdot \text{tg}\alpha_{\text{лф}}; 20 - \text{коефіцієнт перерахунку}$$

у мг на 5 мл розчину готової до вживання лікарської форми.

Таблиця 1

Кількісне визначення цефалексину за заявленим способом

Узято гранул цефалексину, мг/5 мл	Знайдено		Метрологічні характеристики
	мг/5 мл	%	
250 ⁺⁵⁰ ₋₂₅ мг / 5 мл	235,4	98,49	$\bar{X} = 241,2 \mid (100,92\%)$
(239мг / 5мл) *	248,0	103,77	$S = +5,2$
	238,4	99,75	$S_{\bar{X}} = \pm 2,3$
	239,0	100,00	$\Delta \bar{X} = \pm 6,5$
	245,3	102,64	$RSD = 2,17\%$
			$\varepsilon = \pm 2,69\%$
			$\delta = -0,92\%$

Примітка: *Вміст цефалексину в гранулах у перерахунку на цефалексину моногідрат зазначений у сертифікаті якості.

Результати кількісного визначення цефалексину у готовій лікарській формі наведені у таблиці 1, із яких видно, що визначення цефалексину у гранулах для приготування суспензії за заявленим способом можливе із задовільною точністю ($RSD=2,17\%$).

Аналіз даних таблиці 1 свідчить про те, що заявлений спосіб за метрологічними характеристиками відповідає вимогам Державної фармакопеї України щодо валідаційних показників.

Приклад 2. Кількісне визначення цефазоліну у порошку для приготування розчину для ін'єкцій здійснювали наступним чином. Близько 0,6 г препарату (точна наважка) розчиняли в 50 мл дистильованої води, фільтрували у мірну колбу місткістю 100 мл, доводили об'єм розчину до позначки і ретельно перемішували. 4,00 мл отриманого розчину переносили у мірну колбу на 100 мл, при постійному перемішуванні послідовно додавали 2,00мл 0,02 моль/л розчину калій гідрогенкарбонату, 2,00 мл 0,61 моль/л розчину натрій гідроксиду та доводили об'єм до позначки доводили дистильованою водою. Після розчину луку починали відлік часу. Отриманий розчин фотометрували у кварцовій кюветі з товщиною 1 см при 305 нм, використовуючи дистильовану воду як компенсаційний розчин, через 20 хвилин після початку вимірювання та будували кінетичну криву залежності оптичної густини розчину від концентрації досліджуваного розчину.

Кількісне визначення цефазоліну здійснювали у відповідності з градувальним графіком (мал. 2)

залежності оптичної густини (A_{20}) від концентрації цефазоліну (C , мкг/мл).

Аналіз даних (мал.2) свідчить, що в межах від 1,6 до 26,0 мкг/мл, оптична густина A_{20} зберігає лінійний характер залежно від концентрації цефазоліну. Цей дозволяє здійснювати кількісне визначення цефазоліну в порошку для приготування розчину для ін'єкцій стандартним кінетичним методом фіксованого часу.

Вміст цефазоліну у порошку для приготування ін'єкцій розраховували за формулою:

$$X_{\text{мг/фл}} = \frac{m_{\text{см}} \cdot 0,897 \cdot A_n \cdot \bar{m}}{m_n \cdot A_{\text{см}}}, \text{ де}$$

$m_{\text{см}}$ - маса наважки стандарту, г;

A_n - оптична густина визначуваного розчину препарату;

\bar{m} - маса середня флакону, г;

m_n - маса наважки визначуваного розчину препарату, г;

$A_{\text{см}}$ - оптична густина стандартного розчину;

0,897 = 0,99-0,95-0,954;

0,99 - кількісний вміст цефазоліну натрію у субстанції, мас. частки;

0,95 - коефіцієнт перерахунку на безводну речовину;

0,954 - коефіцієнт перерахунку на цефазолін кислоту ($M_{(\text{ЦФК-та})} / M_{(\text{ЦФНа})}$) .

Таблиця 2

Кількісне визначення цефазоліну за заявленим способом

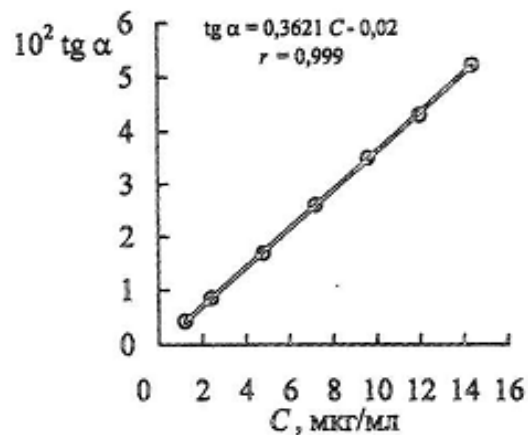
Узято цефазоліну, г	Знайдено		Метрологічні характеристики
	г	%	
Цефазолін препарат			
0,50035	989,4	98,94	$\bar{X} = 2412 \mid (100,92\%)$
(99,0 %*)	989,4	98,94	S = +5,2
	944,4	94,44	$S_{\bar{x}} = \pm 2,3$
	966,9	96,69	$\Delta \bar{X} = \pm 6,5$
	989,4	98,94	RSD = 2,17%
			$\varepsilon = \pm 2,69\%$
			$\delta = -0,92\%$

Примітка: * Вміст цефазоліну у порошку для приготування ін'єкцій вказаний у сертифікаті якості.

Аналіз даних таблиці 2 свідчить про те, що заявлений спосіб за метрологічними характеристиками відповідає вимогам Державної фармакопеї України щодо валідаційних показників.

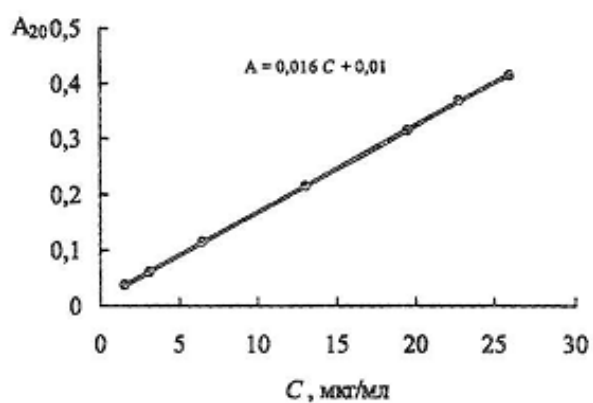
Таким чином, заявлено новий спосіб кількісного визначення цефалоспоринів характеризу-

ється високою чутливістю, відтворюваністю, а також суттєво скорочує час аналізу. Спосіб може бути застосований у роботі контрольно-аналітичних та хіміко-токсикологічних лабораторій.



Градувальний графік кількісного визначення цефалексину

Рис. 1



Градуювальний графік кількісного визначення цефазоліну

Рис. 2