

## КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ ФЕНОКСИМЕТИЛПЕНІЦИЛІНУ КІНЕТИЧНИМ МЕТОДОМ

**Ключові слова:** спектрофотометрія, феноксиметилпеніцилін, калій гідрогенпероксомоносульфат, кінетичний метод

Феноксиметилпеніцилін (ФМП) – кислотостійка форма пеніциліну, котра продукується *Penicillium notatum* чи іншими спорідненими мікроорганізмами, чинить протимікробну дію шляхом пригнічення процесу поділу бактерій, що призводить до їх загибелі. ФМП стійкий у кислому середовищі, а відтак не руйнується у шлунку, добре всмоктується при внутрішньому застосуванні, розчиняючись у лужному середовищі кишечника, створюючи високу та довготривалу концентрацію пеніциліну у крові. Препарат малотоксичний та не має кумулятивних властивостей, належить до антибіотичних препаратів. Призначають за такими самими показниками, що і бензилпеніцилін: пневмонія, бронхіт, ангіна, інфекції м'яких тканин, скарлатина, рожисте запалення, гонорея та інші захворювання, спричинені чутливими до препарату збудниками.

Його виробляють у вигляді таблеток по 0,1 та 0,25 г; драже по 0,1 г; порошку для приготування суспензії у флаконах, які містять 1,2; 0,6 та 0,3 г феноксиметилпеніциліну в суміші з цитратною кислотою, натрій бензоатом, маливовою есенцією, цукром. Порошок білого кольору, солодкий на смак, із запахом малини.

Для кількісного визначення антибіотиків використовують низку різних методів: біологічні, хімічні, фізико-хімічні [6]. Недоліками біологічних методів контролю є витрати великої кількості часу на аналіз, а також залежність точності результатів аналізу від багатьох зовнішніх факторів.

Останнім часом для кінетико-спектрофотометричного визначення антибіотиків набули поширення хімічні й фізико-хімічні методи, серед яких найбільше застосовують хроматографічний [4, 7, 12, 16] і спектрофотометричний методи [5, 10, 15]. У літературі описані інші методики кількісного визначення пеніцилінів методами потенціометричного титрування [3], йодометрії [6]; амперометрії [9], полярографічного аналізу [1], кінетики [2, 18] та ін. [8, 11, 13, 14, 17, 19, 20].

Однак, незважаючи на це, завдання удосконалення існуючих та опрацювання нових методик кількісного визначення пеніцилінів залишається актуальним і надалі. Існуючі фармакопейні методики визначення препаратів цього ряду достатньо складні, займають багато часу на підготовку та вимагають використання складної висококоштовної апаратури. Більшість відомих методик спектрофотометричного визначення пеніцилінів, які зводяться до визначення кінцевих продуктів їх гідролітичного розщеплення, – також довготривалі та вимагають нагрівання.

Розроблена нами методика кількісного визначення феноксиметилпеніциліну має ряд переваг перед уже відомими: дає змогу визначати їх у значно менших кількостях, ніж рекомендованим методом йодометрії; придатна для того самого інтервалу визначуваних концентрацій, що і в методі спектрофотометрії продуктів гідролізу, але при цьому не вимагає довготривалого нагрівання реакційної суміші, простіша за методики хроматографічного методу аналізу та швидша. Запропонований спосіб виконання аналізу полягає у попередньому окисненні феноксиметилпеніциліну надлишком калію гідрогенпероксомоносульфатом до відповідного S-оксиду з подальшим визначенням його у вигляді продукту гідролітичного перетворення у лужному середовищі кінетичним методом тангенсів при 269 нм.

### Матеріали та методи дослідження

Для досліджень використовували таблетки по 0,25 г калію феноксиметилпеніциліну (калійна сіль (2S,5R,6R)-3,3-диметил-7-оксо-6-(2-феноксиацетамідо-4-тіа-1-азабікло[3.2.0]гептан-2-карбоксилату, серії 30403, виробництва ВАТ “КИЇВМЕДПРЕПАРАТ”, корпорація «Артеріум», Київ, Україна, а також таблетки по 0,25 г феноксиметилпеніцилінової кислоти [2S-(2альфа, 5 альфа, 6 бета)]-3,3 диметил-7-оксо-6-(феноксиацетил)аміно]-4-тіа-1-

азабіцикло/3.2.0./гептан-2-карбонова кислота, серії 51209, виробництва ОАО “Синтез”, Росія. Як окисник використовували пероксомоносульфатну кислоту у вигляді потрійної калійної солі  $2\text{KHSO}_5 \cdot \text{KHSO}_4 \cdot \text{K}_2\text{SO}_4$  “extra pure” кваліфікації «Оксон» з вмістом активного кисню  $\leq 4,5\%$ . Вибір реагента зумовлено його доступністю, хорошою розчинністю і стійкістю у воді та відносно високою окисаційною здатністю. Схему перетворень, які, вірогідно, ведуть до утворення продукту реакції, наведено на рис. 1.

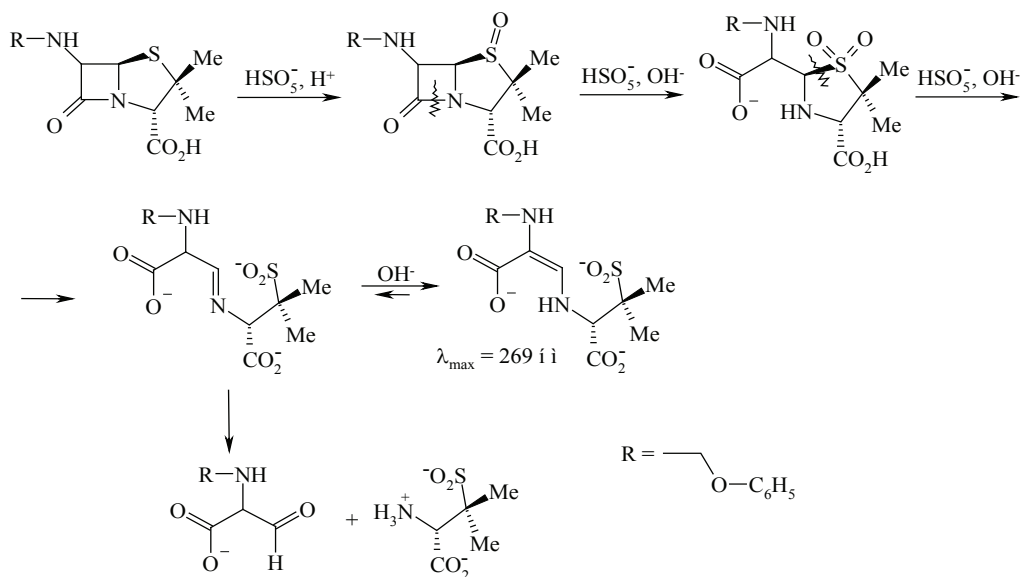


Рис. 1. Схема спржених реакцій пероксикислотного окиснення та пергідролізу феноксиметилпеніциліну

Розчин РСЗ калійної солі феноксиметилпеніциліну  $1,43 \cdot 10^{-3}$  моль/л. Точну наважку 0,3958 г феноксиметилпеніциліну калійної солі переносили у мірну колбу на 500,00 мл, додавали 25 мл буферного розчину з концентрацією 0,015 моль/л, доводили до мітки дистильованою водою при температурі 20 °С.

Виготовлення робочого розчину калію гідрогенпероксомоносульфату,  $2 \cdot 10^{-2}$  моль/л. Наважку солі калію гідрогенпероксомоносульфату (“Оксон”), яка містить 0,615 г основної речовини, розчиняли у 100,0 мл двічі дистильованої води при температурі 20 °С. Концентрацію розчину контролювали методом йодометричного титрування.

Електронні спектри реєстрували на спектрофотометрі СФ-26 (ЛОМО); кінетику вивчали за світлопоглинанням утвореного продукту реакції при 269 нм. Для вимірювання оптичної густини розчинів використовували кварцову кювету з товщиною вбираючого шару  $l = 1$  см; розчини перед зливанням термостатували у термостаті UTU-2 («Zeamit», «Horizont», Krakow, Poland), час фіксували хронометром з моменту змішування розчинів. Для створення та підтримки необхідної кислотності середовища використовували 0,1 моль/л розчин натрію гідроксиду, який не містив карбонатів. Швидкість оцінювали за тангенсом кута нахилу лінійної ділянки кінетичної кривої  $A - \text{час}$  ( $\text{tg}\alpha$  у  $\text{хв}^{-1}$ ).

### Результати дослідження та їх обговорення

У результаті дослідження з’ясовано, що порядок змішування розчинів суттєво впливає на кінетику та вихід продукту реакції. Найвища швидкість накопичення продукту спостерігається лише після попереднього змішування розчину зразка досліджуваного феноксиметилпеніциліну з калію гідрогенпероксомоносульфатом, а відтак – розчином луку. Максимальна активність калію гідрогенпероксомоносульфату у реакції спостерігалася при концентрації  $2 \cdot 10^{-2}$  моль/л.

На рис. 2 наведено електронні спектри продуктів взаємодії досліджуваного феноксиметилпеніциліну з реагентами залежно від часу.

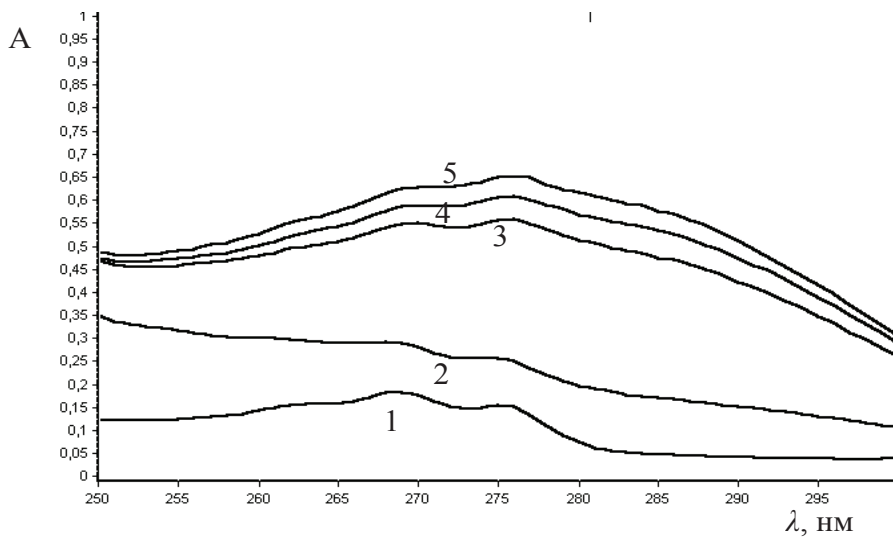


Рис. 2. Електронні спектри світлопоглинання продукту реакції лужного гідролізу (1) та пергідролізу феноксиметилпеніциліну (2-5) залежно від часу, хв: 1 – 0-15, 2 – 5, 3 – 10, 4 – 15, 5 – 20.  $c(\text{NaOH}) = 6,1 \cdot 10^{-3}$  моль/л;  $c(\text{KHSO}_5) = 2,0 \cdot 10^{-3}$  моль/л;  $c(\text{ФМП}) = 30$  мкг/мл

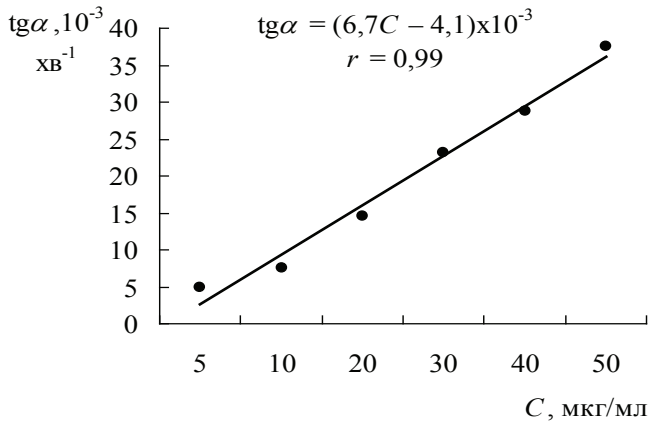


Рис. 3. Градувальний графік кількісного визначення феноксиметилпеніциліну кінетичним методом за індикаторною реакцією пергідролізу з калію гідрогенпероксомоносульфатом:  $c(\text{NaOH}) = 6,1 \cdot 10^{-3}$  моль/л,  $c(\text{KHSO}_5) = 2,0 \cdot 10^{-3}$  моль/л

На рис. 3 наведено градувальний графік кількісного визначення феноксиметилпеніциліну, одержаний за оптимальних умов. Він свідчить, що в межах від 1 до 45 мкг/мл умовна швидкість реакції зберігає лінійний характер залежно від концентрації ФМП. Цей факт дає змогу здійснювати визначення феноксиметилпеніциліну в зазначеному інтервалі концентрацій його у розчині. Результати кількісного визначення ФМП новорозробленим способом наведені в таблиці, з якої видно, що визначення ФМП можливе із задовільною точністю  $\text{RSD} \leq 1,9\%$ .

**Т а б л и ц я**

Результати кількісного визначення феноксиметилпеніциліну за реакцією з калію пероксомоносульфатом ( $n=5$ ,  $P=0,95$ )

Узято феноксиметилпеніциліну, г	Знайдено		Метрологічні характеристики
	г	%	
“ФЕНОКСИМЕТИЛПЕНЦИЛІН-КМП”, 0,250 г активної речовини, серії 30403, виробництва ВАТ “КИЇВМЕДПРЕПАРАТ”, Київ, Україна			

0,2389*	0,2405	96,2	$\bar{x} = 0,2421 (96,8 \%)$ $S = \pm 0,00349$ $S_x = \pm 0,00156$ $\Delta \bar{x} = \pm 0,00434$ $S_r = \pm 1,44 \%$ $\varepsilon = \pm 1,79 \%$ $\delta = -1,34 \%$
	0,2395	95,8	
	0,2455	98,2	
	0,2463	98,5	
	0,2389	95,6	
“ФЕНОКСИМЕТИЛПЕНИЦИЛЛИН”, 0,250 г активної речовини, серії 51209, виробництва ОАО “Синтез”, Росія			
0,2447*	0,2396	95,8	$\bar{x} = 0,2481 (99,2 \%)$ $S = \pm 0,00479$ $S_x = \pm 0,00214$ $\Delta \bar{x} = \pm 0,00596$ $S_r = \pm 1,93 \%$ $\varepsilon = \pm 2,40 \%$ $\delta = +1,39 \%$
	0,2509	100,4	
	0,2495	99,8	
	0,2498	99,9	
	0,2507	100,3	

*Примітка:* \* – вміст ФМП у препаратах, який був знайдений незалежним методом йодометричного титрування [6].

*Побудова градувального графіка.* У мірні колби на 50 мл послідовно відміряють 0,50; 2,50; 3,00; 4,00; 5,00; 7,50; 10,00 мл стандартного розчину ФМП, додають у кожен по 5 мл  $2 \cdot 10^{-2}$  моль/л розчину калію гідрогенпероксомоносульфату і ретельно збовтують. У кожен колбу послідовно приливають по 5,0 мл 0,06 моль/л розчину натрію гідроксиду, доводять об’єм до позначки дистильованою водою і ретельно перемішують. Після додавання розчину луку починають відлік часу. Одержані розчини фотометрують у кварцовій кюветі завтовшки 1 см при 269 нм проти дистильованої води (компенсаційний розчин) впродовж 10 хв через кожен хвилину при температурі 20 °С. Будують кінетичні криві оптичної густини залежно від часу (хв). За даними нахилу лінійних ділянок кінетичних кривих будують градувальну залежність тангенсу кута нахилу кінетичної кривої  $\text{tg}\alpha$  від концентрації ФМП (С, мкг/мл).

*Методика кількісного визначення феноксиметилпеніциліну.* Близько 0,4 г (точна наважка) вносять у мірну колбу на 500 мл, додають 25 мл буферного розчину з концентрацією 0,015 моль/л, доводять до позначки дистильованою водою. Відбирають 3,00 мл розчину РСЗ та переносять у мірну колбу на 50 мл і далі виконують аналіз аналогічно, як при побудові градувального графіка. Отриманий розчин фотометрують у кварцовій кюветі завтовшки 1 см при 269 нм, використовуючи дистильовану воду як компенсаційний розчин, щохвилини впродовж 10 хв та будують кінетичну криву залежності світлопоглинання розчину (А) від часу. З графіка знаходять тангенс кута нахилу лінійної ділянки кінетичної кривої.

Вміст  $C_{16}H_{18}N_2O_5S$ , у г, у таблетці ( $X_{\text{ФМП}}$ ) розраховують за формулою:

$$X_{\text{ФМП}} = \frac{a_{\text{ст}} \cdot \text{tg}\alpha \cdot 0,8996 \cdot \bar{a}}{a \cdot \text{tg}\alpha_{\text{ст}}}$$

де:  $a_{\text{ст}}$  – маса наважки РСЗ феноксиметилпеніциліну, г;

$\text{tg}\alpha_{\text{ст}}$  – тангенс кута нахилу кінетичної кривої у досліді з РСЗ феноксиметилпеніциліну,  $\text{хв}^{-1}$ ;

$a$  – маса наважки досліджуваного порошку феноксиметилпеніциліну калійної солі, г;

$\bar{a}$  – середня маса таблетки, г;

$\text{tg}\alpha$  – тангенс кута нахилу кінетичної кривої у досліді з досліджуваним розчином феноксиметилпеніциліну,  $\text{хв}^{-1}$ ;

0,8996 – коефіцієнт перерахунку феноксиметилпеніциліну калійної солі у кислоту.

#### В и с н о в к и

1. Вивчено кінетику спряжених реакцій S-окиснення та пергідролізу феноксиметилпеніциліну за наявності калію гідрогенпероксомоносульфату у лужному середовищі.

2. Як реагент для кінетико-спектрофотометричного визначення феноксиметилпенициліну запропоновано потрібну калійну сіль кислоти Каро («Оксон»).

3. Опрацьовано нову методику кількісного визначення ФМП у таблетках по 0,25 г кінетико-спектрофотометричним методом.  $RSD \leq 1,9 \%$ .

1. Блажеєвський М.Є. // Укр. хім. журн. – 2005. – Т. 71, № 10. – С. 90–93.
2. Блажеєвський М.Є. // Фармац. журн. – 2003. – № 5. – С. 66–78.
3. Демская Е.В., Алексеев В.Г. // Вестник ТвГУ. – 2005. – № 2. Сер. хім. Вып. 8. – С. 177–179.
4. Державна фармакопея України / Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр» – 3-є вид. – Х.: PIPEГ, 2008. – С. 285–289.
5. Зайцева К.В., Алексеев В.Г. // Вестник ТвГУ. – 2007. – № 2. Сер. хім. Вып. 3. – С. 112–115.
6. Туркевич М., Владзімірська О., Лесик Р. Фармацевтична хімія (стероїдні гормони, їх синтетичні замінники і гетероциклічні сполуки як лікарські засоби). – 2003. Підручник. Вінниця: Нова книга, 2003. – 464 с.
7. Bruno F., Curini R., Corcia A. et al. // J. Agric. Food. Chem. – 2001. – Vol. 49, №7. – P. 3463–3470.
8. Chico J., Rubies A., Centrich F. et al. // J. Chromatogr. – 2008. – Vol. 1213, № 2. – P. 189–199.
9. European Pharmacopeia. – 4th ed. – Strasbourg: Council of Europe, 2001. – P. 32.
10. Fernández-González A., Badía R., Díaz-García M.E. // J. Pharm. Biomed. Anal. – 2002. – Vol. 29, № 4. – P. 669–679.
11. Ferreira J., Straathof A., Li X. et al. // Ind. and Eng. Chem. Res. – 2006. – Vol. 45, № 20. – P. 6740–6744.
12. Gremaud E., Mohamed R., Hammel Y. // J. Chromatogr. – 2008. – Vol. 1177, № 1. – P. 58–76.
13. Horimoto S., Mayumi T., Aoe K. et al // J. Pharm. Biomed. Anal. – 2002. – Vol. 30, № 4. – P. 1093–1102.
14. Huang Cheng Zhi, Feng Ping, Li Yuan Fang // Anal. and Bioanal. Chem. – 2005. – Vol. 382, № 1. – P. 85–90.
15. Kaufmann A.I., Butcher P., Maden K. et al // J. Chromatogr. A. – 2004. – Vol. 1042, № 1. – P. 107–111.
16. Mendez-Alvarez E., Soto-Otero R., Sierra-Paredes G. et al // Biomed. Chromat. – 2009. – Vol. 5, № 2. – P. 78–82.
17. Nozal L., Arce L., Rhos A. // Anal. Chim. Acta. – 2004. – Vol. 523, № 1. – P. 21–28.
18. Rodante F., Vecchio S., Tomassetti M. // J. Pharm. Biomed. Anal. – 2002. – Vol. 29, № 8. – P. 613–614.
19. Wibawa J., Fowkes D., Shaw P. et al // J. Chromatogr. – 2002. – Vol. 774, № 2. – P. 141–148.
20. Yoon K., Lee S., Kim W. et al // J. Chromatogr. – 2004. – Vol. 813, № 1–2. – P. 121–127.

Надійшла до редакції 15.06.2011.

*С.П.Карпова, Н.Е.Блажеєвський*

## КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ФЕНОКСИМЕТИЛПЕНИЦИЛЛИНА КИНЕТИЧЕСКИМ МЕТОДОМ

**Ключевые слова:** спектрофотометрия, феноксиметилпенициллин, пероксомоносульфатная кислота, кинетический метод

Изучена кинетика сопряженных реакций S-окисирования и пергидролиза феноксиметилпенициллина с пероксомоносульфатом калия в щелочной среде по светопоглощению образующегося продукта при 269 нм. Оптимизированы условия и разработана методика количественного определения феноксиметилпенициллина в порошке и лекарственных формах спектрофотометрически-кинетическим методом с использованием в качестве реагента раствора тройной калиевой соли кислоты Каро («Оксон»).  $RSD \leq 1,9 \%$ .

*S.P.Karpova, M.Ye.Blazheevskiy*

## QUANTITATIVE ANALYSIS OF PHENOXYMETHYLPENICILLINE BY KINETIC METHOD

**Key words:** spectrophotometry, phenoxymethylpenicilline, potassium peroxomonosulfate

### SUMMARY

The kinetic of coupled reactions of S-oxidation and perhydrolysis of phenoxymethylpenicilline with potassium peroxomonosulfate in alkaline medium is studied by light absorbance increase of a forming product at 269 nm. The procedure of the quantitative analysis of phenoxymethylpenicilline in powder and drug by spectrophotometric-kinetic method is elaborated with using triple potassium Caro salt solution («Oxon») as a reagent.  $RSD \leq 1,9 \%$ .