

ISSN 0235-2990

АНТИБИОТИКИ И ХИМИОТЕРАПИЯ

Том 66



1-2'2021

Научно-практический журнал

Учредители:

ISSN 0235-2990

Министерство здравоохранения
Российской Федерации

Государственный научный
центр по антибиотикам

«Антибиотики и химиотерапия» —
ежемесячный научно-практический
журнал
Основан в 1956 году

АНТИБИОТИКИ И ХИМИОТЕРАПИЯ

Том 66

1-2'2021

ЕЖЕМЕСЯЧНЫЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

АДРЕС РЕДАКЦИИ:

Нагатинская ул., д. 3а, Москва, 117105.
Тел.: 89254723038
E-mail: journalgnca@yandex.ru
Зав. редакцией Л. Б. Смирнова
Корректор: Е. А. Крыкова
Сайт: www.antibioticschemotherapy.ru

ОТДЕЛ РЕКЛАМЫ:

Тел.: 89254723038
E-mail: gncajournal@yandex.ru
Л. И. Гусак

ИЗДАТЕЛЬ:

Издательство «ОКИ»

Подписка через объединённый



каталог «Пресса России»
или через «Агентство «КнигаСервис»:
подписной индекс — E71404

Журнал зарегистрирован
в Комитете РФ по печати
Рег. свид. № 0110694 от 25 мая 1993 г.

Установочный тираж 5000 экз.

Типография:
ООО «Литера»

Дата выхода: 2021

Свободная цена

Главный редактор
профессор, д. м. н. Сидоренко С. В.

Зам. главного редактора
профессор, д. м. н. Яковлев С. В.

Отв. за выпуск — Белоусов Д. Ю.

РЕДАКЦИОННАЯ КОЛЛЕГИЯ

Профессор, д. м. н. Белобородов В. А.
Академик РАН, профессор, д. б. н. Говорун В. М.
Чл.корр РАН, профессор, д. б. н. Ильина Е. Н.
Профессор, д. м. н. Климко Н. Н.
Профессор, д. м. н. Колбин А. С.
Профессор, д. м. н. Кочеровец В. И.
Академик РАН, профессор, д. м. н. Лобзин Ю. В.
Профессор, д. х. н. Олсуфьева Е. Н.
Д. б. н. Переверзева Э. Р.
Д. м. н. Припутневич Т. В.
Профессор, д. м. н. Руднов В. А.
Д. б. н. Садыкова В. С.
Д. х. н. Тевяшова А. Н.
Профессор, д. х. н. Тишков В. Н.
Чл.корр РАН, профессор, д. б. н. Тутельян А. В.
Профессор, д. м. н. Шляпников С. А.
Профессор РАН, д. х. н. Щекотихин А. Е.

Научные редакторы

К. м. н. Кузнецова С. М.
К. б. н. Белявская И. В.

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

Беседнова Н. Н.	Клясова Г. А.
Богуш Т. А.	Ленёва И. А.
Васильев А. Н.	Митрохин С. Д.
Волжанин В. М.	Сычев Д. А.
Дмитриева Н. В.	Тец В. В.
Захарова Ю. А.	Ших Е. В.
Зуева Л. П.	

Founders:

Ministry of Health
of the Russian Federation

State Scientific Center for Antibiotics

«Antibiotiki i Khimioterapiya»
(«Antibiotics and Chemotherapy»)
Monthly Scientific
and Practical Journal

Founded in 1956

Editorial office address:

3a Nagatinskaya st., Moscow, 117105
Russia
Tel.: +7-925-472-30-38
E-mail: journalgnca@yandex.ru
Head of the Editorial Office:
L. B. Smirnova
Proofreader: E. A. Krykova
Website:
www.antibioticschemotherapy.ru

Advertising Department:

Tel.: 89254723038
E-mail: gncajournal@yandex.ru
L. I. Gusak

Publisher:

Izdatelstvo «OKI»



*Subscription through the united
catalogue «Pressa Rossii»
(«Russian Press») or through
«Agentstvo Kniga-Servis»
(«Book Service Agency»):
subscription index — E71404*

The journal is registered
with the Press Committee
of the Russian Federation
Registration certificate No. 0110694
dated May 25, 1993

Circulation: 5000 copies

Tipography:
ООО «Литера»

Release Date: 2021

Free price

ISSN 0235-2990

ANTIBIOTICS AND CHEMOTHERAPY

АНТИБИОТИКИ И ХИМИОТЕРАПИЯ

Volume 66

1–2'2021

MONTHLY JOURNAL

Editor-in-Chief

Professor, D. Sc. in Medicine Sergey V. Sidorenko

Deputy Editor-in-chief

Professor, D. Sc. in Medicine Sergey V. Yakovlev

RESPONSIBLE FOR THE ISSUE

Dmitry Yu. Belousov

MEMBERS OF EDITORIAL BOARD

Professor, D. Sc. in Medicine Vladimir A. Beloborodov
Academician of the RAS, Professor,
D. Sc. in Biology Vadim M. Govorun
Professor, D. Sc. in Biology Elena N. Ilyina
Professor, D. Sc. in Medicine Nikolay N. Klimko
Professor, D. Sc. in Medicine Alexey S. Kolbin
Professor, D. Sc. in Medicine Vladimir I. Kocherovets
Academician of the RAS, Professor,
D. Sc. in Medicine Yuriy Yu. Lobzin
Professor, D. Sc. in Chemistry Evgenia N. Olsufieva
D. Sc. in Biology Eleonora R. Pereverzeva
D. Sc. in Medicine Tatyana V. Priputnevich
Professor, D. Sc. in Medicine Vladimir A. Rudnov
D. Sc. in Biology Vera S. Sadykova
D. Sc. in Chemistry Anna N. Tevyasheva
Professor, D. Sc. in Chemistry Vladimir N. Tishkov
Corresponding member of the RAS, Professor,
D. Sc. in Medicine Alexey V. Tutelyan
Professor, D. Sc. in Medicine Sergey A. Shlyapnikov
Professor, D. Sc. in Chemistry Andrey E. Shchekotikhin

Scientific Editors

Ph. D. in Medicine Svetlana M. Kuznetsova
Ph. D. in Biology Irina V. Belyavskaya

MEMBERS OF EDITORIAL BOARD

Natalia N. Besednova	Galina A. Klyasova
Tatyana A. Bogush	Irina A. Leneva
Andrey N. Vasiliev	Sergey D. Mitrokhin
Valeriy M. Volzhanin	Dmitry A. Sychev
Natalya V. Dmitrieva	Victor V. Tets
Yuliya A. Zakharova	Evgenia V. Shikh
Lyudmila P. Zueva	

*Журнал** цитируется в: *Medline; Ind Chem; Index Medicus; Ind Sci Rev; Curr Biothech Abstr; Current Contents (Life Sciences)*

Cited in: Medline; Ind Chem; Index Medicus; Ind Sci Rev; Curr Biothech Abstr; Current Contents (Life Sciences)

Экспериментальные исследования

- Карпова С.П., Блажеевский Н.Е.
Количественное определение ампициллина
тремя независимыми методами
с помощью калий гидрогенпероксиомосульфата
Гулий О. И., Зайцев Б. Д., Ларионова О. С., Алсowэйдн А. К. М.,
Караваяева О. А., Петерсон А. М., Бородин А. А.
Анализ антибактериальной активности амоксициллина
биологическим датчиком с щелевой акустической волной

Клинические исследования и практика

- Гордеев И. Г., Казей В. И., Капашин А. В., Лучинкина Е. Е.,
Глобенко А. А., Владыкин А. Л., Джайн Е. А., Черенкова А. И.,
Кокорин И. А., Левчук Н. Н., Смолина Т. В.,
Соболев П. Д., Горбачева С. Ю.
Фармакокинетика имидазолэтанамида пентандиовой
кислоты у здоровых добровольцев

- Павлович Н. В., Цимбалитова М. В., Аронова Н. В.,
Анисимова А. С., Водопьянов С. О., Водопьянов А. С.,
Гудуева Е. Н., Сагакянц М. М., Ковалев Е. В., Носков А. К.
Внебольничные пневмонии бактериальной этиологии
и спектр чувствительности возбудителей
к антибиотикам у коронапозитивных
и коронанегативных больных г. Ростова-на-Дону
Сабитов А. У., Сорокин П. В., Дашутина С. Ю.
Эффективность и безопасность применения препарата
Риамилловир в лечении пациентов с COVID-19
Богущ Т. А., Рукавишников Е. А., Башарина А. А.,
Богущ Е. А., Кирсанов В. Ю., Коломийцев С. Д.,
Равчеева А. Б., Вихлянцева Н. О., Косоруков В. С.
Продолжительность жизни радикально оперированных
больных немелкоклеточным раком лёгкого:
по результатам 8-летнего наблюдения
в онкологическом научном центре им. Н. Н. Блохина
Загребнева А. И., Барях Е. А., Желнова Е. И., Потешкина Н. Г.,
Белоглазова И. П., Мутвина З. Ю., Самсонова И. В.,
Ковалевская Е. А., Паршин В. В., Пшеничникова В. В.,
Фомина Д. С., Круглова Т. С., Лысенко М. А., Драницына М. А.
Барцитиниб в лечении пациентов с COVID-19:
обзор международных данных и анализ результатов опыта
клинического применения в российской популяции

Обзоры

- Агеев В. А., Сулян О. С.,
Лазарева И. В., Сухинин А. А.
Распространение генов *mcr*-типа, кодирующих
устойчивость к полимиксинам, в России и мире
Орлов Ю. П., Афанасьев В. В., Хиленко И. А.
Перспектива сукцинатов в условиях гипоксии
при COVID-19

Юбилей

- Профессору Николаю Сергеевичу Егорову – 100 лет!

Experimental studies

- 4 Svetlana P. Karpova, Nikolay Ye. Blazheyevskiy
Comparison of Three Independent Methods
of Ampicillin Detection Using
Hydrogen Peroxymonosulfate
12 Olga I. Guliy, Boris D. Zaitsev, Olga S. Larionova,
Ali Kadhim Mohammed Alsowaidi, Olga A. Karavaeva,
Alexandra M. Peterson, Irina A. Borodina
Analysis of Amoxicillin's Antibacterial Activity
Using Biological Sensor with Slit Acoustic Wave

Guidelines for Practitioners

- 19 Ivan G. Gordeev, Vasily I. Kazey, Aleksey V. Kapashin,
Elena E. Luchinkina, Alexander A. Globenko,
Alexander L. Vladykin, Ekaterina A. Jain,
Anzhelika I. Cherenkova, Ilya A. Kokorin, Nina N. Levchuk,
Tatyana V. Smolina, Pavel D. Sobolev, Svetlana Yu. Gorbacheva
Pharmacokinetics of Pentanedioic Acid Imidazolyl
Ethanamide in Healthy Volunteers
26 Natalia V. Pavlovich, Marina V. Tsimbalistova,
Nadezhda V. Aronova, Anastasia S. Anisimova,
Sergey O. Vodopyanov, Alexey S. Vodopyanov, Elena N. Gudueva,
Margarita M. Sagakyants, Evgeny V. Kovalev, Alexey K. Noskov
Community-Acquired Pneumonia of Bacterial Etiology
and the Spectrum of Pathogen Sensitivity to Antibiotics
in Corona-Positive and Corona-Negative Patients in Rostov-on-Don
33 Alebay U. Sabitov, Pavel V. Sorokin, Svetlana U. Dashutina
The Efficacy and Safety of Riamilovir in the Treatment
of Patients with COVID-19
38 Tatyana A. Bogush, Ekaterina A. Rukavishnikova,
Anna A. Basharina, Elena A. Bogush, Vladislav Yu. Kirsanov,
Sergey D. Kolomiytsev, Anna B. Ravcheeva,
Nadezhda O. Vikhlyantseva, Vyacheslav S. Kosorukov
Survival Outcomes in Patients after Radical Surgery
for Non-Small Lung Cancer: an 8-year Study
at N. N. Blokhin Cancer Research Center
47 Alena I. Zagrebneva, Elena A. Baryakh, Evgenia I. Zhelnova,
Natalia G. Poteshkina, Irina P. Beloglazova,
Zinaida Yu. Mutovina, Inna V. Samsonova,
Elena A. Kovalevskaya, Vasily V. Parshin,
Vera V. Pshenichnikova, Daria S. Fomina, Tatyana S. Kruglova,
Maryana A. Lysenko, Margarita A. Dranitsyna
Baricitinib in the Treatment of Patients with COVID-19:
A Review of International Data and Analysis
of Clinical Results in the Russian Population

Reviews

- 57 Vladimir A. Ageevets, Ophelia S. Sulyan,
Irina V. Lazareva, Alexander A. Sukhinin
Dissemination of *MCR*-Type Genes Encoding Polymyxin
Resistance in Russia and Across the Globe
65 Yury P. Orlov, Vasily V. Afanasyev, Irina A. Khilenko
The Prospects of Succinates' Use under Hypoxic Conditions
in COVID-19

Anniversaries

- 75 Professor Nikolai S. Egorov is 100 years old!

* Журнал входит в перечень ведущих научных журналов и изданий, выпускаемых в Российской Федерации, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени доктора наук и кандидата наук.

Количественное определение ампициллина тремя независимыми методами с помощью калий гидрогенпероксомоносульфата

*С. П. КАРПОВА, Н. Е. БЛАЖЕЕВСКИЙ

Национальный фармацевтический университет, Харьков, Украина

Comparison of Three Independent Methods of Ampicillin Detection Using Hydrogen Peroxymonosulfate

*SVETLANA P. KARPOVA, NIKOLAY YE. BLAZHEYEVSKIY

National University of Pharmacy, Kharkov, Ukraine

Резюме

Разработаны три унифицированные методики и показана возможность количественного определения методами кинетико-спектрофотометрии, вольтамперометрии и окислительно-восстановительного титрования ампициллина в субстанции и лекарственном препарате с использованием калий гидрогенпероксомоносульфата (KHSO₅) в качестве аналитического реагента.

Ключевые слова: калий гидрогенпероксомоносульфат; ампициллин; спектрофотометрия; вольтамперометрия; йодометрия

Для цитирования: Карпова С. П., Блажеевский Н. Е. Количественное определение ампициллина тремя независимыми методами с помощью калий гидрогенпероксомоносульфата. *Антибиотики и химиотерапия*. 2021; 66: 1–2: 4–11. doi: 10.24411/0235-2990-2021-66-1-2-4-11.

Abstract

Three unified procedures have been developed. The possibility of quantitative determination using the methods of kinetic spectrophotometry, voltammetry, and redox titration of ampicillin (Amp) as a pure substance and in a drug using potassium hydrogen peroxymonosulfate (KHSO₅) as an analytical reagent has been shown.

Keywords: hydrogen peroxymonosulfate; ampicillin; spectrophotometry; voltammetry; redox titration

For citation: Karpova S. P., Blazheyevskiy N. E. Comparison of three independent methods of ampicillin detection using hydrogen peroxymonosulfate. *Antibiot i khimioter*. 2021; 66: 1–2: 4–11. doi: 10.24411/0235-2990-2021-66-1-2-4-11.

Введение

Ампициллин — полусинтетический антибиотик, используемый для лечения различных инфекционных заболеваний дыхательных путей (пневмония, бронхопневмония, ангина), мочевыводящих путей, печени и желудочно-кишечного тракта. Впервые был введен в использование в 1961 г. британской компанией Beecham.

По механизму действия аналогичен пенициллину — необратимый ингибитор транспептидазы, участвующей в синтезе пептидогликана клеточной стенки.

Препарат не разрушается в кислой среде желудка, хорошо всасывается при приеме внутрь. Активен в отношении грамположительных микроорганизмов, на которые действует бензилпе-

нициллин. Кроме того, он действует на ряд грамотрицательных микроорганизмов (сальмонеллы, шигеллы, протей, кишечная палочка, клебсиелла пневмонии (палочка Фридендера), палочка Пфейффера (палочка инфлюэнцы) и поэтому рассматривается как антибиотик широкого спектра действия и применяется при заболеваниях, вызванных смешанной инфекцией [1].

Для определения активности препаратов пенициллина так же, как и других антибиотиков, применяют биологические, химические и физико-химические методы [2].

Базовым методом количественного определения суммы пеницилинов является классический метод йодометрии продуктов гидролиза [3]. Его недостатком является длительность — не менее 40 мин, а также необходимость использования

стандартных образцов и стандартизации условий определения, зависимость от температуры.

Согласно данным литературы, для количественного определения антибиотиков применяются различные хроматографические методы [4–10], хемилюминесцентные [11], спектрофотометрические [12–17], кинетические [18–20], флуориметрические [21, 22], вольтамперметрические [23, 24], методы с использованием ионоселективных электродов [25], капиллярный электрофорез [26].

Нами разработаны новые унифицированные методики количественного определения антибиотика ампициллина (Амп) тремя независимыми методами — иодометрии, кинетико-спектрофотометрии и вольтамперметрии с использованием калий гидрогенпероксомоносульфата (KHSO_5) в качестве аналитического реагента.

Материал и методы

Экспериментальная часть. Для исследований использовали препарат ампициллина тригидрат (2S,5R,6R)-6-[(R)-2-амино-2-фенилацетил]амино-3,3-диметил-7-оксо-4-гиа-1-азабицикло [3.2.0]гептан-2-карбоновую кислоту в таблетках по 0,250 г в пересчёте на ампициллин, серии 214372, производства «Артериум» ПАО «Киевмедпрепарат», Украина (UA/2950/01/01). Как окислитель использовали гидрогенпероксомоносульфат калия в виде тройной калиевой соли $2\text{KHSO}_5 \times \text{KHSO}_4 \times \text{K}_2\text{SO}_4$ квалификации «extra pure» «Оксон» с содержанием активного кислорода 4,5%. Выбор реагента обусловлен его доступностью, достаточно хорошей растворимостью и стойкостью в водных растворах, а также относительно высокой окислительной способностью [27].

Рабочий раствор пероксомоносульфатной кислоты, 2×10^{-2} моль/л. Навеску 0,6148 г соли растворяют в 100,0 мл дважды дистиллированной воды при 20°C. Концентрацию раствора контролировали методом йодометрического титрования.

Как рабочий стандартный образец (PCO) ампициллина тригидрата (AT) использовали субстанцию Амп производства Augobindo Pharma Ltd, Индия (№ серии АНТ(В) 08110500, содержание основного вещества 98,8%, w (H_2O)=14,5%) фармакопейной чистоты.

Раствор PCO ампициллина тригидрата 500 мкг/мл. Навеску 0,05 г РЗО Амп растворяют в 100,00 мл дистиллированной воды при 20°C.

Раствор тиосульфата натрия, 2×10^{-2} моль/л. Ампулу стандарт-титра тиосульфата натрия с точной концентрацией 0,1 моль/л разбавляют дистиллированной водой в пять раз (1/5).

Раствор йодида калия, 5%. Навеску 5,0 г йодида калия растворяют в 50 мл дистиллированной воды и объём раствора доводят до метки 100 мл в мерной колбе при 20°C.

Рабочие стандартные растворы Амп. Готовят семь растворов в мерных колбах на 100 мл следующих концентраций: 80, 85, 90, 95, 100, 110, 120% , взвесив соответствующие навески 0,2289 г; 0,2433 г; 0,2576 г; 0,2718 г; 0,2862 г; 0,3147 г; 0,3433 г субстанции Амп.

Аппаратура

Спектрофотометрия. Спектры растворов АТ и его продуктов окисления регистрируют, а также измеряют светопоглощение растворов в кварцевой кювете на 1 см на спектрофотометре Evolution 60S UV-Visible Spectrophotometer Thermo-Scientific (USA) против раствора без исследуемого Амп или дважды дистиллированной воды (компенсационный раствор).

Вольтамперметрия. Вольтамперограммы записывают на осциллографическом полярографе CLA-3 (Ростов-на-Дону, Россия) с использованием ячейки при 20°C. Электрод сравнения —

насыщенный каломельный электрод, вспомогательный электрод из платины. Потенциалы пиков измеряют с помощью цифрового вольтметра V7-21 с точностью $\pm 0,1$ мВ. Скорость развертки поляризуемого напряжения $v=0,5$ V/s. Потенциал варьируют в интервале от 0,2 до 1,4 V. Растворённый кислород удаляют перед измерениями, выдувая его очищенным аргоном более 20 мин. Значение величины рН оценивают с помощью стеклянного электрода «ЭСЛ 43-07», используя потенциометр лабораторный ИОНОМЕР «И-160» (ЗИП Гомель, Беларусь).

Титрование. Определяют титр исследуемого Амп с помощью микробюретки объёмом на 10 мл с точностью $\pm 0,01$ мл, которую заполняют титрантом до нулевой отметки.

Процедура

Кинетико-спектрофотометрический метод. Около 0,075 г (точная навеска) порошка растёртых таблеток Амп переносят в мерную колбу ёмкостью 100 мл, растворяют в смеси 50 мл дистиллированной воды и 8 мл диметилформамида при слабом нагревании, доводят объём раствора до метки и перемешивают. 5,00 мл полученного раствора переносят в мерную колбу на 50 мл, добавляют 3,0 мл 0,02 моль/л раствора KHSO_5 и 3 мл NaOH с концентрацией $4,88 \times 10^{-3}$ моль/л. Полученный раствор фотометрируют в кварцевой кювете с толщиной 1 см при 290 нм, используя дистиллированную воду как компенсационный раствор, на протяжении 10 мин.

Вольтамперметрический метод. Около 0,50 г (точная навеска) порошка растёртых таблеток Амп растворяют в смеси 50 мл бидистиллированной воды и 8 мл диметилформамида при слабом нагревании, доводят объём раствора до метки в 100 мл колбе и перемешивают. К 5,5 мл полученного раствора добавляют 2,0 мл 0,02 моль/л раствора KHSO_5 и 5 мл NaOH с концентрацией $4,88 \times 10^{-3}$ моль/л, тщательно перемешивают. Отбирают 5,0 мл полученного раствора и переносят в 50 мл колбу, добавляют 5,0 мл 0,1 моль/л KH_2PO_4 с рН 4,7, доводят до метки бидистиллированной водой, перемешивают. Потенциал измеряют в интервале от 0,2 до 1,4 V.

Метод окислительно-восстановительного титрования. 0,45 г (точная навеска) порошка растёртых таблеток Амп растворяют в мерной колбе на 100 мл при слабом нагревании на водяной бане в смеси 8 мл диметилформамида и 75 мл воды и доводят объём до метки дистиллированной водой при 20°C. С помощью пипетки отбирают 10 мл полученного раствора Амп и переносят в мерную колбу на 100 мл, добавляют при перемешивании 10,0 мл 0,02 моль/л раствора KHSO_5 и доводят объём до метки дистиллированной водой при 20°C. С помощью пипетки отбирают 10 мл реакционной смеси и переносят в колбу на 100 мл, подкисляют 1мл 0,1 моль/л раствора H_2SO_4 и при интенсивном перемешивании добавляют 2 мл 5% раствора йодида калия. Вытесненный йод сразу оттитровывают стандартным 0,02 моль/л раствором тиосульфата натрия. Параллельно при этих же условиях проводят контрольный опыт (без исследуемого раствора Амп).

Валидационный метод. Методику проводят согласно международной конференции Harmonization. Для контроля воспроизводимости и точности во всех трёх методах выполняют по пять контрольных анализов за один день при одинаковых экспериментальных условиях. Линейность определяют для широкого интервала концентраций (0–50 мкг/мл). Для построения градуировочного графика во всех трёх методах используют данные 7 экспериментальных пунктов.

Результаты и обсуждение

Кинетико-спектрофотометрический метод.

В результате исследования установлено, что порядок смешивания растворов существенно влияет на кинетику и выход продукта реакции: наибольшая скорость образования продукта была после предварительного смешивания исследуемого раствора Амп с KHSO_5 (стадия обра-

зования сульфоксида Амп). С раствором щёлочи (реакция пергидролиза-щелочного гидролиза в присутствии избытка калий гидрогенпероксиносulfата).

На рис. 1 приведены электронные спектры светопоглощения продукта реакции щелочного гидролиза и пергидролиза Амп в ходе реакции. Очевидно, что максимальное поглощение новообразованного продукта наблюдается при 290 нм. Поэтому при данной длине волны исследуют кинетику аналитической реакции.

Оптимальные концентрации щёлочи $4,88 \times 10^{-3}$ моль/л и KHSO_5 0,02 моль/л, при которых скорость реакции образования продукта пергидролиза наибольшая.

Без KHSO_5 в вышеуказанных условиях на протяжении 30 мин продукт реакции не образуется. Необходимый избыток KHSO_5 может быть объяснен влиянием в процессе дальнейшего гидролитического расщепления S-оксида Амп в щелочной среде (нуклеофильный катализ гидролиза β -лактамного и тиазолидинового циклов). KHSO_5 благодаря альфа-эффекту во много раз более сильный нуклеофил, чем гидроксид-ион (рис. 2).

Построение градуировочного графика. В мерные колбы на 50 мл с помощью микробюретки последовательно отмеряют 0,50; 2,50; 3,00; 4,00; 5,00; 7,50; 10,00 мл стандартного раствора АТ, до-

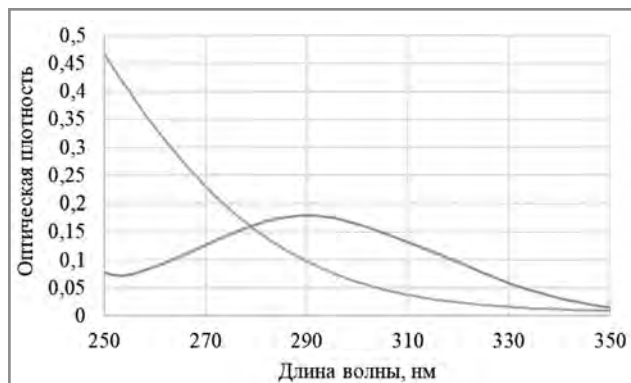


Рис. 1. Электронные спектры светопоглощения продукта реакции Амп ($\text{Amp} + \text{KHSO}_5$, время 15 мин), $C(\text{Amp}) = 10 \text{ мкг мл}^{-1}$.

Fig. 1. Electronic light absorption spectra of the product of Amp reaction ($\text{Amp} + \text{KHSO}_5$, time 15 min), $C(\text{Amp}) = 10 \text{ } \mu\text{g ml}^{-1}$.

бавляют в каждую по 5 мл $2 \cdot 10^{-2}$ моль/л раствора KHSO_5 и тщательно образам взбалтывают. В каждую колбу последовательно приливают 5,0 мл $4,88 \times 10^{-3}$ моль/л раствора натрий гидроксида, доводят объём до метки дистиллированной водой и тщательно образам перемешивают. После добавления к раствору щёлочи начинают отсчёт времени, включают секундомер. Полученные растворы фотометрируют в кварцевой кювете с тол-

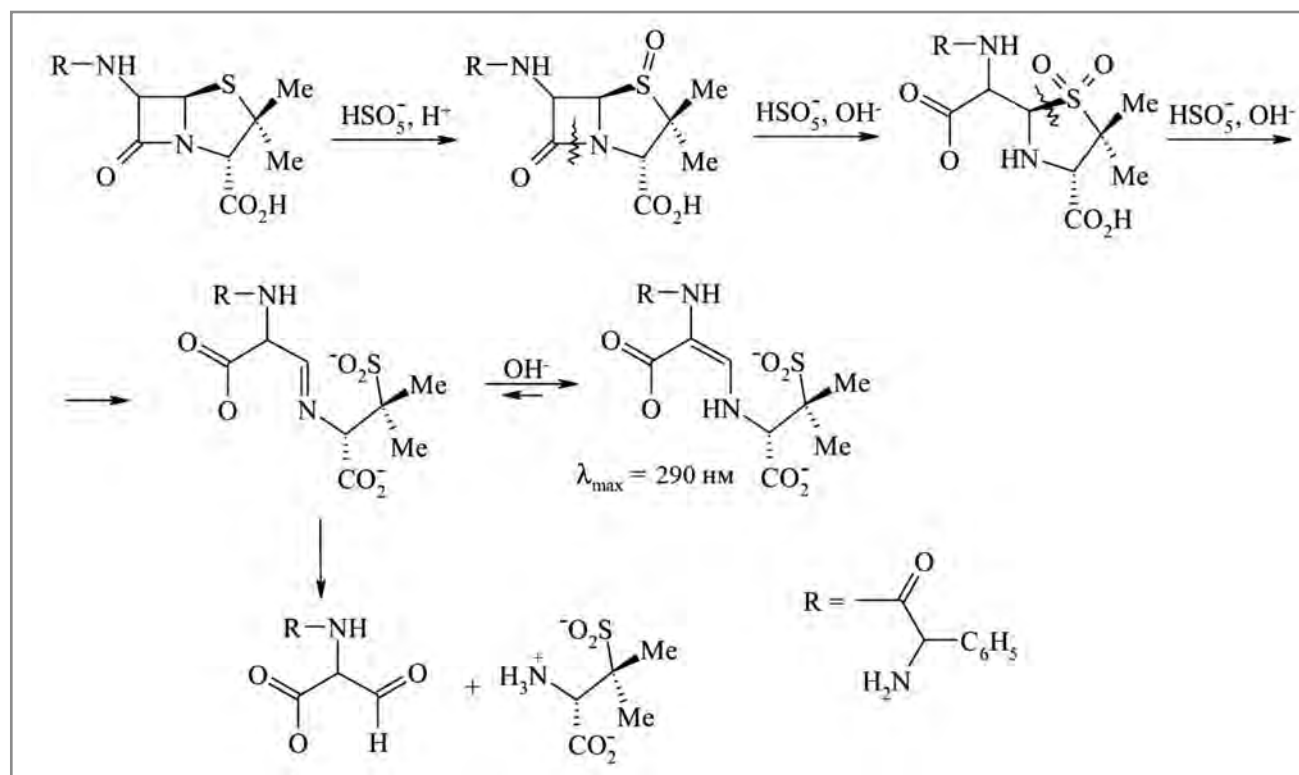


Рис. 2. Схема сопряжённых реакций пероксикислого окисления и пергидролиза Амп с образованием замещённой производной N-акрил- β -пенициламина сульфата (IV).

Fig. 2. Scheme of coupled reactions of peroxic acid oxidation and perhydrolysis of Amp with the formation of a substituted derivative of N-acrylic- β -penicillamine sulfate (IV).

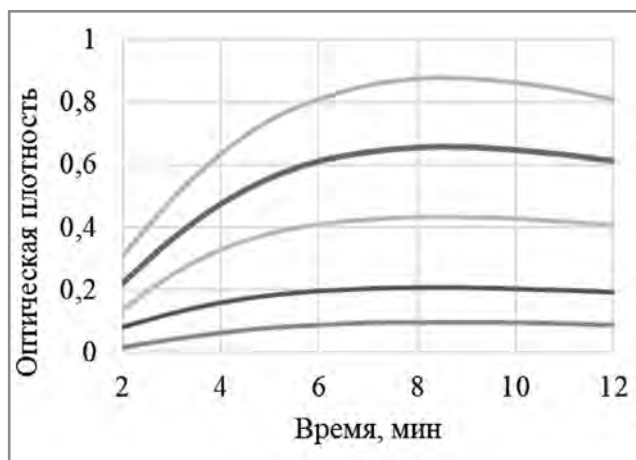


Рис. 3. Кинетические кривые окисления ампициллина KHSO_5 .

Примечание. C (Амп), мкг/мл: 1—5; 2—10; 3—20; 4—30; 5—40. C (KHSO_5) = 0,02 моль/л; C (NaOH) = 0,012 моль/л.

Fig. 3. Kinetic curves of ampicillin oxidation (KNSO_5 , min).

Note. C (Amp), mcg/ml: 1—5; 2—10; 3—20; 4—30; 5—40. C (KHSO_5) = 0.02 mol/l; C (NaOH) = 0.012 mol/l.

щиной 1 см при 290 нм против дистиллированной воды (компенсационный раствор) на протяжении 10 мин через каждую минуту при 20°C и строят кинетические кривые зависимости оптической плотности от времени. По данным наклона линейных участков кинетических кривых строят градуировочную зависимость $\text{tg } \alpha$ от концентрации ампициллина (C , мкг/мл).

На рис. 3 приведены кинетические кривые окисления Амп гидропероксомоносульфатом калия.

На рис. 4 приведён градуировочный график определения Амп, согласно которому в пределах от 5 до 40 мкг/мл концентрационная зависимость величины $\text{tg } \alpha$, которая

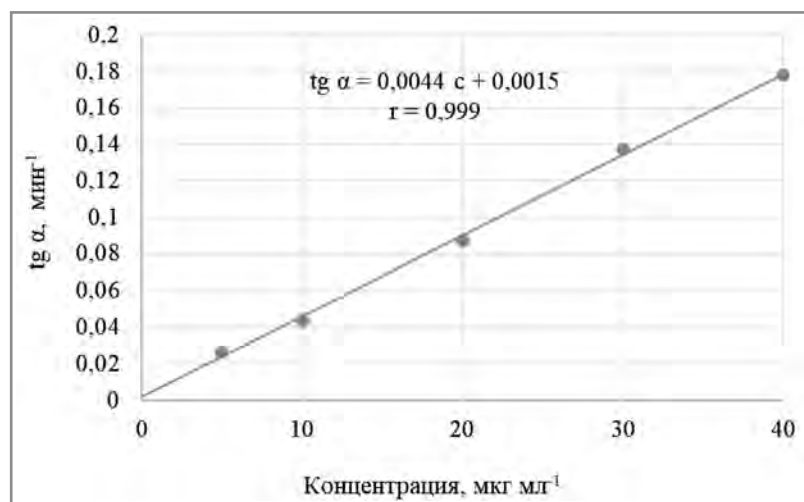


Рис. 4. Калибровочная кривая количественного определения Амп.

Примечание. C (KHSO_5) = 2×10^{-2} моль/л; C (NaOH) = $5,0 \times 10^{-3}$ моль/л.

Fig. 4. Calibration curve for the quantitative determination of Amp.

Note. C (KNSO_5) = 2×10^{-2} mol/l; C (NaOH) = 5.0×10^{-3} mol/l.

Таблица 1. Результаты количественного определения ампициллина кинетико-спектрофотометрическим методом в препарате Амп по реакции с гидропероксомоносульфатом калия ($p=0,95$, $n=7$)

Table 1. Results of quantitative determination of ampicillin using kinetic spectrophotometric method in Amp preparation by reaction with potassium hydrogenperoxomonosulfate ($p=0.95$, $n=7$)

Взято ампициллина, г	Обнаружено		Метрологические характеристики
	г	%	
0,2511*	0,2503	99,68	$\bar{\chi} = 0,2509$ (99,92%) $S = \pm 0,00369$ $S_{\bar{\chi}} = \pm 0,00139$ $\Delta \bar{\chi} = \pm 0,00342$ $RSD = \pm 1,47\%$ $\varepsilon = \pm 1,36\%$ $\delta = -0,08\%$
	0,2465	98,17	
	0,2526	100,60	
	0,2477	98,65	
	0,2491	99,20	
	0,2523	100,48	
	0,2575	102,55	

Примечание. * — содержание Амп, указанное в сертификате качества.

Note. * — the Amp content specified in the quality certificate.

пропорциональна скорости реакции, имеет линейный характер. Это даёт возможность определять количественное содержание Амп в данном интервале концентраций методом стандарта.

Содержание $\text{C}_{16}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_4\text{S}$ (в г) в одной таблетке, ($X_{\text{амп}}$) рассчитывают по формуле:

$$X_{\text{амп}} = \frac{a_{cm} \times \text{tg } \alpha \times 0,9880 \times \bar{a}}{a \times \text{tg } \alpha_{cm}}$$

где: a_{cm} — масса навески РСО ампициллина, г; $\text{tg } \alpha_{cm}$ — тангенс угла наклона кинетической кривой в опыте с РСО ампициллина, мин^{-1} ; a — масса навески исследуемого ампициллина, г; \bar{a} — средняя масса вместимого таблетки, г; $\text{tg } \alpha$ — тангенс угла наклона кинетической кривой в опыте с исследуемым ампициллином, мин^{-1} ; 0,9880 — массовая доля основного вещества Амп в РСО в пересчёте на безводное вещество.

Результаты анализа препарата АТ кинетико-спектрофотометрическим методом приведены в табл. 1. Относительное стандартное отклонение не превышало 1,5 % ($\delta = -0,08\%$).

Вольтамперометрический метод. Электрохимическое поведение пенициллинов было предметом исследований ряда отечественных и зарубежных авторов. Они установили, что пенициллины полярографически неактивны. Результаты дальнейших исследований показали возможность определения пенициллинов непрямыми аналитическими методиками, которые основаны на способности продуктов гидролиза пенициллина непосредственно восстанавливаться на РКЭ. Другие предложенные методики базировались на восстановлении полярографически активных нитропродуктов. Осциллографический метод удобен для исследования степени чистоты препарата по характерным пикам продуктов гидролиза на полярограммах. Однако гидролитическое расщепление стойкого Амп требует особенных условий и затраты времени.

Нами предложено количественное определение ампициллина осуществлять в виде соответствующего полярографически активного сульфоксида, добытого в предыдущей стадии анализа с помощью калий гидропероксомоносульфата.

На рис. 5 приведён химизм процесса дериватизации Амп в электрохимически активный сульфоксид ампициллина с помощью калий гидропероксомоносульфата.

Экспериментально было установлено, что образование S-оксида ампициллина в разбавленных слабо кислых растворах происходит практически мгновенно и количественно. Типичная вольтамперограмма приведена на рис. 6.

На фоне 0,1 моль/л KN_2PO_4 (pH 4,7) наблюдалась волна $E_p = -1,17$ В (НКЭ), которая в интервале концентрации деполяризатора $(1,0-8,5) \times 10^{-5}$ моль/л имела диффузионный характер.

Химизм процесса восстановления сульфоксида ампициллина на ртутном микроэлектроде приведён на рис. 7.

Концентрационная зависимость высот пиков деполяризатора в интервале концентраций $(1,0-8,5) \times 10^{-5}$ моль/л: $I_p = 9240 C + 0,058$ ($r = 0,998$) приведена на рис. 8 и в табл. 2.

$$C = \frac{I - 0,058}{9240},$$

где: 0,058 и 9240 — соответствующие коэффициенты линии регрессии градуировочного графика: I кС, в моль/л.

Результаты анализа препарата Амп вольтамперометрическим мето-

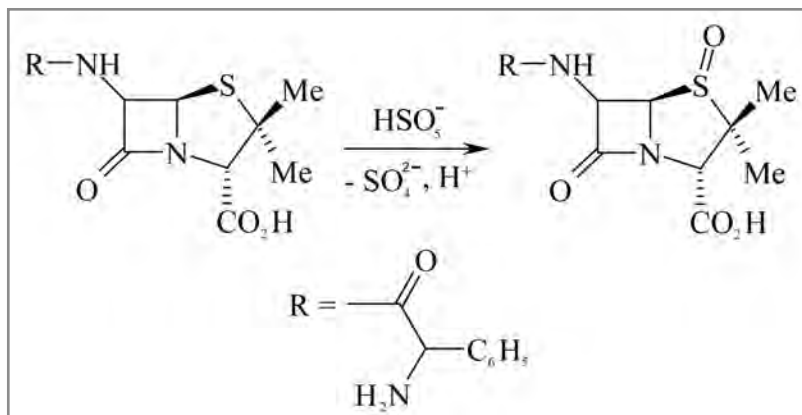


Рис. 5. Химизм процесса дериватизации ампициллина в соответствующий S-оксид.

Fig. 5. Chemistry of the process of ampicillin derivatization into the corresponding S-oxide.

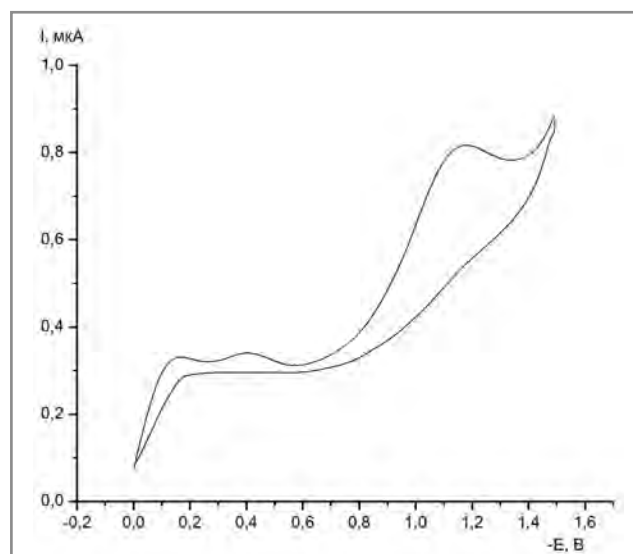


Рис. 6. Вольтамперограмма сульфоксида ампициллина на фоне 0,1 моль/л KN_2PO_4 .

C (Амп) = $4,8 \times 10^{-5}$ моль/л; pH 4,7. $E_p = -1,172$ В (НКЭ).

Fig. 6. Voltammogram of ampicillin sulfoxide against a background of 0.1 mol/l KN_2PO_4 .

Note. C (Amp) = 4.8×10^{-5} mol/L; pH 4.7. $E_p = -1.172$ V (NKE).

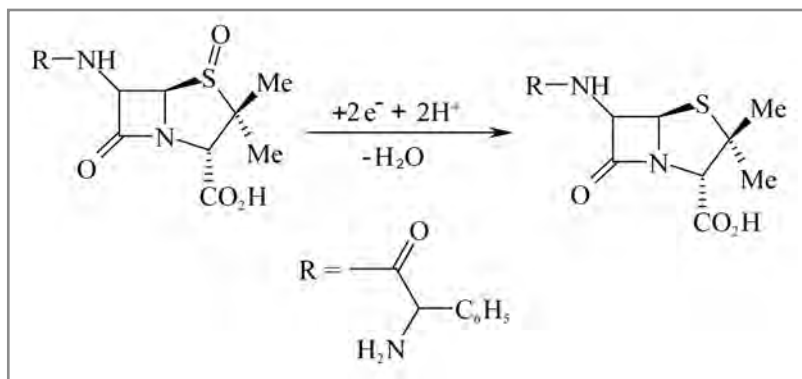


Рис. 7. Процесс восстановления сульфоксида ампициллина на РКЭ.

Fig. 7. Ampicillin sulfoxide reduction process on RCE.

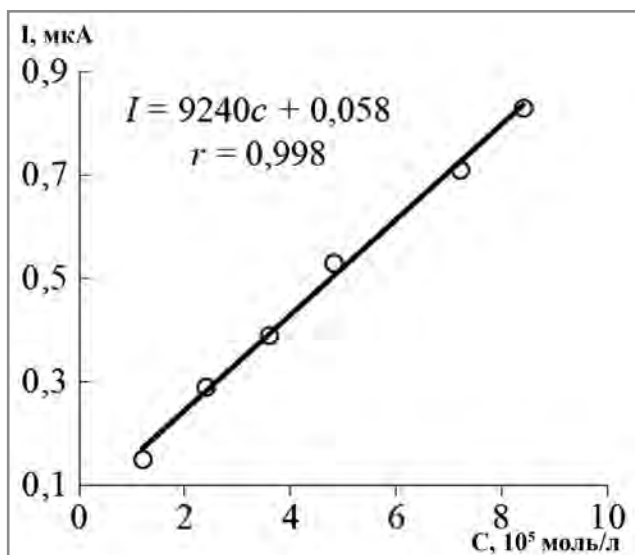


Рис. 8. Градуировочный график вольтамперометрического определения Амп в виде N-оксида ампициллина.

Примечание. 0,1 М KH_2PO_4 (рН 4,7).

Fig. 8. Calibration graph of the voltammetric determination of Amp in the form of ampicillin N-oxide.

Note. 0.1 M KH_2PO_4 (pH 4.7).

дом приведены в табл. 3. Относительное стандартное отклонение не превышало 1,7% ($\delta = +0,4\%$).

Метод окислительно-восстановительного титрования. Методом обратного йодометрического титрования остатка KHSO_5 установлено, что в искомой

Таблица 2. Значения зависимостей высот пиков на полярограммах растворов сульфоксидов ампициллина от молярной концентрации
Table 2. The values of the dependence of the peak heights on the polarograms of ampicillin sulfoxide solutions on the molar concentration

C (Амп), моль/л	I, мкА
$1,2 \times 10^{-5}$	0,15
$2,4 \times 10^{-5}$	0,29
$3,6 \times 10^{-5}$	0,39
$4,8 \times 10^{-5}$	0,52; 0,525 0,53 0,54; 0,52
$7,2 \times 10^{-5}$	0,71
$8,4 \times 10^{-5}$	0,79

реакции на 1 моль Амп расходуется 1 моль KHSO_5 , причём взаимодействие между ними происходит за 1 мин. Аналитическая реакция, которая положена в основу определения, представлена на рис. 9.

Содержание $\text{C}_{16}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_4\text{S}$, X, в %, рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{0,02 \times K \times 349,40 \times (V_0 - V) \times 100 \times 100\%}{2 \times 1000 \times m_n \times 100 - w_{\text{H}_2\text{O}}}$$

где: V_0 — объём раствора тиосульфата натрия в контрольном опыте, мл; V — объём раствора тиосульфата натрия в рабочем опыте, мл; 349,40 — молярная масса ампициллина (безводного), г/моль; K — коэффициент поправки концентрации раствора тиосульфата натрия к 0,0200 моль/л; m_n — масса навески Амп, г.

Результаты анализа препарата Амп методом титрования приведены в табл. 4. Относительное

Таблица 3. Результаты количественного определения ампициллина вольтамперометрическим методом в препарате Амп по реакции с гидрогенпероксомоносульфатом калия ($p=0,95$, $n=5$)

Table 3. Results of quantitative determination of ampicillin by voltammetric method in Amp preparation by reaction with potassium hydrogenperoxomonosulfate ($p=0.95$, $n=5$)

Содержание ампициллина в модельном растворе, моль/л	Найденное содержание ампициллина, моль/л	Метрологические характеристики
$5,05 \times 10^{-5}$	$5,00 \times 10^{-5}$	$\bar{\chi} = 5,07 \times 10^{-5}$
	$5,10 \times 10^{-5}$	$S = \pm 8,37 \times 10^{-7}$
	$5,00 \times 10^{-5}$	$S\bar{\chi} = \pm 3,7$
	$5,05 \times 10^{-5}$	$\Delta\bar{\chi} = \pm 1,04 \times 10^{-6}$
	$5,20 \times 10^{-5}$	$RSD = \pm 1,65\%$
		$\varepsilon = \pm 2,05\%$
		$\delta = +0,4\%$

Примечание. * — содержание Амп, указанное в сертификате качества.

Note. * — the Amp content specified in the quality certificate.

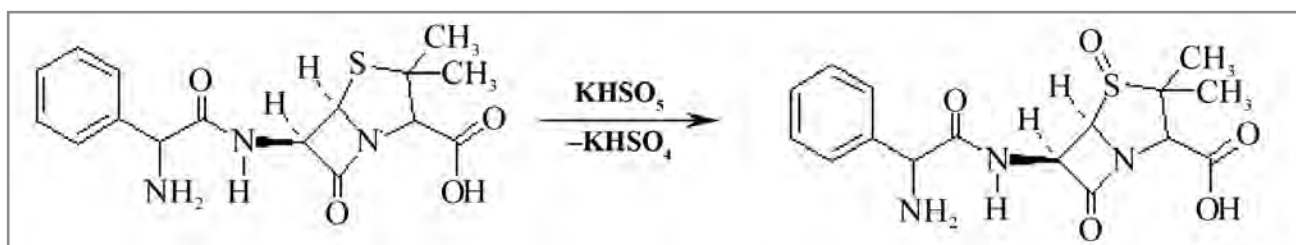


Рис. 9. Схема S-окисления ампициллина гидрогенпероксомоносульфатом калия.

Fig. 9. Scheme of S-oxidation of ampicillin with potassium hydrogenperoxomonosulfate.

Таблица 4. Результаты количественного определения ампициллина методом титрования в препарате Амп по реакции с гидрогенпероксомоносульфатом калия ($p=0,95$, $n=7$)

Table 4. Results of quantitative determination of ampicillin by titration in Amp preparation by reaction with potassium hydrogenperoxomonosulfate ($p=0.95$, $n=7$)

Взято ампициллина, г	Обнаружено		Метрологические характеристики
	г	%	
0,2511*	0,2553	101,67	$\bar{\chi} = 0,2565$ (102,15%)
	0,2564	102,11	$S = \pm 0,00136$
	0,2574	102,51	$S\bar{\chi} = \pm 0,00051$
	0,2584	102,91	$\Delta\bar{\chi} = \pm 0,00126$
	0,2566	102,19	$RSD = \pm 0,53\%$
	0,2571	102,39	$\varepsilon = \pm 0,49\%$
	0,2543	101,27	$\delta = -2,1\%$

Примечание. * — содержание АТ, указанное в сертификате качества.

Note. * — the AT content specified in the quality certificate.

стандартное отклонение не превышало 0,5% ($\delta = -2,1\%$).

С использованием кинетико-спектрофотометрического метода (тангенсов), вольтамперометрии и окислительно-восстановительного титрования разработаны три независимые методики и показана возможность количественного определения ампициллина (Амп) в субстанции и лекарственном

препарате с использованием в качестве аналитического реагента калий гидрогенпероксомоносульфата ($KHSO_5$).

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interests. The authors declare no conflict of interest.

Литература/References

- British Pharmacopoeia. V. 1–6. London: The Stationery Office. 2014; 5860.
- European Pharmacopoeia. 5th Ed. Strasbourg: European Department for the Quality of Medicines. 2005; 2781.
- Фармацевтическая химия. А. П. Арзамасцев (ред.). М.: ЭОТАР МЕД, 2004; 176. [Farmatsevticheskaya khimiya. A. P. Arzamastsev (ed.). Moscow: EOTAR. MED, 2004; 176. (in Russian)]
- Liu K., Sun D., Zhao Y. Assay detection for azlocillin sodium and sulbactam sodium for injection by HPLC. Chin J Pharm Anal. 2008; 28: 1568–70.
- Соколова Л.И., Черняев А.П. Определение антибиотиков цефалоспоринового ряда в биологических объектах методом обращено-фазовой ВЭЖХ. Хим-фарм журн. 2002; 36: Suppl 5: 39–45. [Sokolova L.I., Chernyaev A.P. Opredelenie antibiotikov tsefalosporinovogo ryada v biologicheskikh ob'ektakh metodom obrashcheno-fazovoy VEZhKh. Khim-Farm Zhurn. 2002; 36: Suppl 5: 39–45. (in Russian)]
- Puing P., Borull E., Calull M. Sample stacking for the analysis of eight penicillin antibiotics by micellar electrokinetic capillary chromatography. Electrophor. 2005; 26: 954–961.
- Batravi N., Wahdan S., Al-Rimawi F. A validated stability-indicating HPLC method for simultaneous determination of amoxicillin and enrofloxacin combination in an injectable suspension. Scient Pharm. 2017; 85: Suppl 6: 1–8.
- Государственная фармакопея Украины. Государственное предприятие «Украинский научный фармакопейный центр качества лекарственных препаратов». 1-е изд. Дополнения 4. Харьков.: РИРЕГ 2011; 367. [Gosudarstvennaya farmakopeya Ukrainy. Gosudarstvennoe predpriyatie «Ukrainskij nauchnyj farmakopeynyj tsentr kachestva lekarstvennykh preparatov». 1-e izd. Dopolneniya 4. Khar'kov.: RIREG 2011; 367. (in Russian)]
- Wang P., Wang B., Cheng X. A method for determination of penicillin G residue in waste penicillin chrysoygenum using high performance liquid chromatography. Appl Mech Mat. 2015; 768: 15–24.
- Batravi N., Wahdan S., Al-Rimawi F. A validated stability-indicating HPLC method for simultaneous determination of amoxicillin and enrofloxacin combination in an injectable suspension. Scien Pharm. 2017; 85 (6): 1–8.
- Zhang X., Baeyens W. Chemiluminescence determination of tetracyclines based on their reaction with hydrogen peroxide catalyzed by the copper ion. Analyst. 1995; 120 (2): 463–466.
- Khare B., Khare K. Spectrophotometric determination of antibiotic drug penicillin in pharmaceutical samples using 2,6 dichlorophenol indo-phenol, N-bromocaprolactam and N-chlorosuccinimide. Int J Rec Res Phys Chem Sci. 2017; 4: 1–7.
- Sangeetha S., Kumar M., Kumudhavalli M. Development and validation of UV spectrophotometric area under curve method for quantitative estimation of piperacillin and tazobactam. Int J Chem Tech Res. 2017; 10 (2): 988–994.
- Chaudhary N., Mishra P. Bioactivity of some divalent M(II) complexes of penicillin based Schiff base ligand: Synthesis, spectroscopic characterization, and thermal study. J Saud Chem Soc. 2018; 22 (5): 601–613.
- Клюев Н.А. Применение масс-спектрометрии и хромато-масс-спектрометрии в анализе лекарственных препаратов. Журн аналит химии. 2002; 57 (6): 566–584. [Klyuev N.A. Primenenie mass-spektrometrii i khromato-mass-spektrometrii v analize lekarstvennykh preparatov. Zhurn Analit Khimii. 2002; 57 (6): 566–584. (in Russian)]
- United States Pharmacopoeial Convention. 38th Ed. 2015; 3795.
- Sallach J., Snow D., Hodges L. Development and comparison of four methods for the extraction of antibiotics from a vegetative matrix. Envir Toxicol Chem. 2016; 35 (4): 889–897.
- Navarro M., Li M., Muller-Bunz H., Bernhard S. Donor-flexible nitrogen ligands for efficient iridium-catalyzed water oxidation catalysis. Eur J Chem. 2016; 22 (20): 6740–6745.
- Karпова S. P. Quantitative determination of amoxicillin trihydrate in medical forms using kinetic method. J Chem Pharm Res. 2014; 6 (4): 1120–1125.
- Штыков С.Н., Смирнова Т.Д., Быликин Ю.Г. Флуориметрическое определение тетрациклинов с помощью хелата европия с 1.10-фенантролином в мицеллярных растворах анионных ПАВ. Журн аналит химии. 2005; 60 (1): 30–34. [Shtykov S.N., Smirnova T.D., Bylikin Yu.G. Fluorimetricheeskoe opredelenie tetratsiklinov s pomoshch'yu khelata evropiya s 1.10-fenantrolinom v mitsellyarnykh rastvorakh anionnykh PAV. Zhurn Analit Khimii. 2005; 60 (1): 30–34. (in Russian)]
- Shapiro A. Investigation of β -lactam antibacterial drugs, β -lactamases, and penicillin-binding proteins with fluorescence polarization and anisotropy: a review. Meth Appl Fluor. 2016; 4 (2): 1–8.
- Ahmad A., Rahman N., Islam F. Spectrophotometric determination of ampicillin, amoxycillin, and carbenicillin using folin-ciocalteu phenol reagent. J Anal Chem. 2004; 59 (2): 119–123.
- Dubenska L., Blazhejevskij M., Plotyca S. Voltammetric methods for the determination of pharmaceuticals. Meth Obj Chem Anal. 2017; 12 (3): 61–75.
- Belal F., Al-Majed A., Ibrahim K. Voltammetric determination of josamycin (a macrolide antibiotic) in dosage forms and spiked human urine. J Pharm Biomed Anal. 2002; 30 (3): 705–713.
- Кулапина Е.Г., Барагузина В.В., Кулапина О.И. Ионоселективные электроды для определения антибиотиков пенициллинового ряда в биологических жидкостях и лекарственных формах. Журн аналит химии. 2004; 59 (9): 971–975. [Kulapina E.G., Baraguzina V.V., Kulapina O.I. Ionoselektivnye elektrody dlya opredeleniya antibiotikov penitsillinovogo ryada v biologicheskikh zhidkostyakh i lekarstvennykh formakh. Zhurn Analit Khimii. 2004; 59 (9): 971–975. (in Russian)]

26. *Al-Attas A., El-Enany N., Belal F.* A green capillary zone electrophoresis method for the simultaneous determination of piperacillin, tazobactam and cefepime in pharmaceutical formulations and human plasma. *Biomed Chrom.* 2015; 29 (12): 1811–1818.
27. *Bennet D., Yao H., Richardson D.* Mechanism of sulfide oxidations by peroxymonocarbonate. *Inorg Chem.* 2001; 40 (13): 2996–3001.

Информация об авторах

Карпова С. П. — к. фармацевт. н., доцент кафедры физической и коллоидной химии, Национальный фармацевтический университет, Харьков, Украина

Блажеевский Н. Е. — д. х. н., профессор кафедры физической и коллоидной химии, Национальный фармацевтический университет, Харьков, Украина. ORCID: 0000-0002-8032-347X

About the authors

Svetlana P. Karpova — Ph. D. in Pharmacy, National University of Pharmacy, Ukraine

Nikolay Ye. Blazheyevskiy — D. Sc. in Chemistry, National University of Pharmacy, Ukraine. ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8032-347X>