

Рекомендована д.х.н., професором В.В.Болотовим

УДК 547.732: 543.242.3: 543.42.062: 543.257

## КІНЕТИЧНЕ СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧНЕ ВИЗНАЧЕННЯ ЦЕФАЛЕКСИНУ ЗА ПРОДУКТОМ РЕАКЦІЙ ПЕРОКСОКИСЛОТНОГО ОКИСНЕННЯ ТА ПЕРГІДРОЛІЗУ

М.Є.Блажеєвський, Ю.Ю.Лабузова

Національний фармацевтичний університет

Розроблені методики кінетичного спектрофотометричного визначення цефалексину, які засновані на двох спряжених реакціях — S-окиснення та пергідролізу калію пероксомоносульфатом у лужному середовищі. Швидкість реакції реєстрували за зміною світлопоглинання утвореного продукту при 305 нм. Для побудови калібрувального графіка під час визначення цефалексину використаний метод тангенсів. Графік зберігає лінійний характер у межах концентрацій 1-16 мкг/мл ( $r = 0,999$ ). Для визначення цефалексину у лікарському препараті “Цефалексин” 250 мг/5 мл використаний метод стандарту. У межах розмаху варіювання  $R = 100,00-104,48\%$  цефалексину у субстанції  $RSD = 2,00\%$ ; в лікарському препараті для інтервалу  $R = 98,49-103,77\%$   $RSD = 2,17\%$ .

Цефалексин (Cefalexin) моногідрат-7-(D- $\alpha$ -аміно- $\alpha$ -фенілацетиламіно)-3-метил-3-цефем-4-карбонової кислоти є похідним 7-амінодезацетоксицефалоспоронової кислоти (7-АДЦК) і належить до напівсинтетичних цефалоспоринових  $\beta$ -лактамних антибіотиків I покоління та широко використовується у медичній практиці. Його випускають у желатинових капсулах по 0,25 та 0,5 г, а також у вигляді суспензії [5]. Порівняльні дослідження відомих аналітичних методів визначення цефалексину в лікарських препаратах показали, що найкращі результати одержуються під час застосування методу прямої УФ-спектрофотометрії та високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ). Ненадійним та довготривалим визнаний класичний метод йодометричного титрування [8]. Для кількісного визначення цефалексину ДФУ та ЄФ рекомендують використовувати метод ВЕРХ [3, 7]. Крім того, в науковій літературі описані методики кількісного визначення цефалексину методами колориметрії [14] і атомно-абсорбційної спектроскопії [17], спектрофотометрії [4, 13, 15, 16], спектрофлуориметрії [9], потенціометричного титрування [1, 2], а також кінетичним методом [1, 6, 10, 11, 12, 18, 19].

Наша робота присвячена розробці нової кінетичної спектрофотометричної методики кількіс-

ного визначення цефалексину за продуктом двох спряжених реакцій пероксокислотного окиснення та пергідролізу в лужному середовищі. Хімізм перетворень наведений на рис. 1.

### Експериментальна частина

Для дослідження використовували субстанцію цефалексину — Пурилекс ((6R, 7R)-7-[(R)-2-аміно-2-фенілацетамідо]-3-метил-8-оксо-5-тіа-1-азабіцикло[4.2.0]окт-2-ен-2-карбонова кислота моногідрат), яка відповідає вимогам АНД (виробництва фірми “DMS Anti-infectives Chemferm S.A.”, Іспанія: сер. В425055; вміст основної речовини 100,9%;  $w_{H_2O} = 6,2\%$ ) та гранули для приготування суспензії для внутрішнього застосування “Цефалексин” 250 мг/5 мл виробництва “Хемофарм” АД (Сербія), серія 3130408, складу: 5 мл суспензії містять цефалексину 250 мг (у формі моногідрату) та допоміжні речовини. Як реагент використовували “Оксон” — потрійну калієву сіль кислоти Каро ( $2KHSO_5KHSO_4K_2SO_4$ ) виробництва фірми “DuPont”. Активною діючою речовиною її є калію гідрогенкарбат ( $KHSO_5$ ). Електронні спектри знімали на спектрофотометрі “SPECORD M-40”, UV Vis (“Цейс”, Йена, Німеччина). Кінетику реакцій вивчали спектрофотометрично на СФ-26 (ЛОМО, СССР), використовували кварцову кювету ( $l=1$  см); розчини перед зливанням термостатували в термостаті UTU-2 (Zeamit, Horizont Krakow-Poland).

Виготовлення розчину калію гідрогенкарбату,  $2 \cdot 10^2$  моль/л. Сіль  $2KHSO_5KHSO_4K_2SO_4$  (0,614 г) розчиняли у двічі дистильованій воді в мірній колбі місткістю 100 мл. Кінетику реакції гідрогенкарбату з цефалексином вивчали методом йодометричного титрування.

### Результати та їх обговорення

За даними кінетики встановлено, що в кислому середовищі на 1 Моль цефалексину витрачається 1 Моль  $KHSO_5$  за час, який не перевищує 1 хв. Продуктом реакції є відповідний S-оксид (рис. 1, перша стадія). У лужному середовищі цефалексину S-оксид піддається гідролітичному розщепленню. На рис. 2 наведені електронні спектри цефалексину та продукту реакцій S-окиснення і пергідролізу.

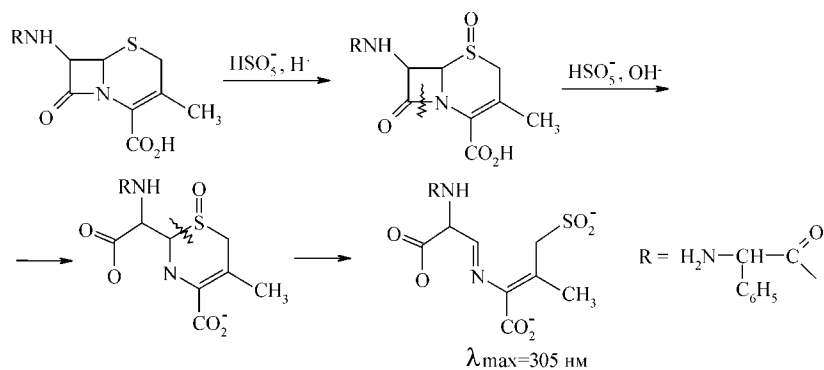


Рис. 1. Схема хімічних перетворень цефалексину під дією калію гідрогенкарбонату та лугу.

ролізу з максимумом світлопоглинання при  $\lambda_{\text{макс}} = 305$  нм. На рис. 3. наведені кінетичні криві залежності світлопоглинання при 305 нм лужних розчинів цефалексину S-оксиду від часу. Як видно, вони зберігали лінійний характер упродовж перших 10-15 хв. Найвища швидкість нагромадження продукту спостерігалася лише після попереднього змішування досліджуваного цефалоспорину з калію гідрогенкарбонатом, а відтак — з розчином лугу за концентраційних умов: калію гідрогенкарбонату —  $8 \cdot 10^{-4}$  Моль/л, лугу —  $2,1 \cdot 10^{-2}$  Моль/л при 298-299 К. Швидкість утворення продукту оцінювали за тангенсом кута нахилу ( $\text{tg}\alpha$ ,  $\text{хв}^{-1}$ ) лінійної ділянки кінетичної кривої залежності світлопоглинання, А від часу, t (хв). Лінійна концентраційна залежність  $\text{tg}\alpha$  спостерігалась у межах 1-50 мкг/мл цефалексину у розчині. Рівняння градуовального графіка мало вигляд:  $\text{tg}\alpha = 0,3621 \cdot C - 0,02$ ,  $r = 0,999$ .

На підставі одержаних результатів опрацьовані методики кількісного визначення цефалексину в субстанції та його лікарській формі спектрофотометричним кінетичним методом тангенсів. Результати кількісного визначення цефалексину у субстанції методом градуовального графіка та у гранулах для приготування суспензії методом стандарту наведені в табл. 1 та 2 відповідно.

**Методика кількісного визначення цефалексину у субстанції.** Близько 0,35 г (точна наважка) препарату переносять у мірну колбу місткістю 100 мл,

розчиняють у 50 мл двічі дистильованої води, доводять об'єм розчину до позначки та перемішують; 10,00 мл одержаного розчину переносять у мірну колбу на 100 мл і додавають двічі дистильованою водою до позначки при 20°C і ретельно перемішують. У мірну колбу на 100 мл за допомогою піпетки поміщають 2,00 мл одержаного розчину, додають 4,00 мл 0,02 М калію гідрогенкарбонату, 3,4 мл 0,61 М розчину натрію гідроксиду і доводять об'єм до позначки двічі дистильованою водою і перемішують. Після приливання розчину лугу вмикають секундомір. Одержаний розчин фотометрують у кварцовій кюветі з товщиною 1 см при 305 нм впродовж 15 хв через кожні 2 хв, використовуючи як компенсаційний розчин воду. Будують кінетичну криву залежності світлопоглинання розчину А від часу, хв. Обробку результатів здійснюють методом тангенсів (диференціальний варіант): визначають тангенс кута нахилу лінійної ділянки кінетичної кривої.

Вміст  $\text{C}_{16}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_4\text{S}$  розраховують за формулою:

$$w, \% = \frac{(\text{tg}\alpha - a) \cdot 100 \cdot 10^{-6} \cdot 100 \cdot 100 \cdot 100}{b \cdot V_a m_n (100 - w_{\text{H}_2\text{O}})},$$

де:  $\text{tg}\alpha$  — тангенс кута нахилу лінійної ділянки кінетичної кривої у досліді з розчином досліджуваної субстанції цефалексину,  $\text{хв}^{-1}$ ;  $m_n$  — маса наважки досліджуваного порошку цефалексину, г;  $V_a$  — об'єм досліджуваного розчину, взятий для

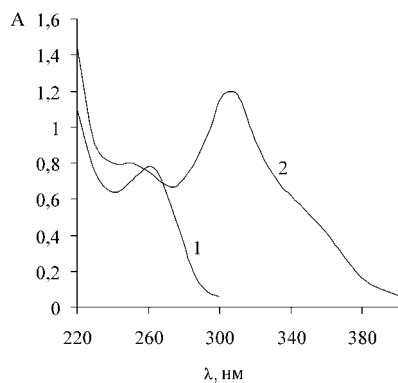


Рис. 2. Електронні спектри світлопоглинання цефалексину (1) та продукту спряжених реакцій S-окиснення та пергідролізу з калію гідрогенкарбонатом (2).  $c(\text{ЦФ}) = 1 \cdot 10^{-4}$  Моль/л;  $c(\text{KHSO}_5) = 2 \cdot 10^{-4}$  Моль/л;  $c(\text{NaOH}) = 0,01$  Моль/л.

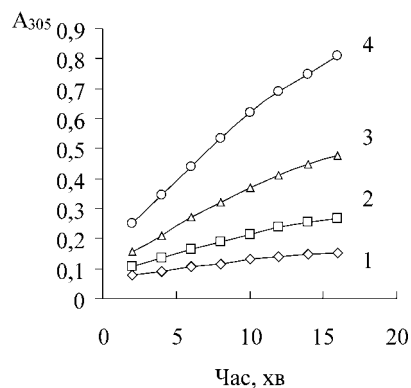


Рис. 3. Кінетичні криві утворення продукту пергідролізу цефалексину S-оксиду.  $c(\text{ЦФ})$ : 1 —  $0,5 \cdot 10^{-5}$  Моль/л; 2 —  $2,0 \cdot 10^{-5}$  Моль/л; 3 —  $4,0 \cdot 10^{-5}$  Моль/л; 4 —  $7,0 \cdot 10^{-5}$  Моль/л;  $c(\text{KHSO}_5) = 8 \cdot 10^{-4}$  Моль/л;  $c(\text{NaOH}) = 2,1 \cdot 10^{-2}$  Моль/л.

Таблиця 1

Результати кількісного визначення цефалексину у субстанції за реакціями пероксикислотного окиснення та пергідролізу (P=0,95; n=5)

Взято цефалексину (пурилексу), г	Знайдено цефалексину		C <sub>16</sub> H <sub>17</sub> N <sub>3</sub> O <sub>4</sub> S
	г	%	
(100,9 <sup>+2,0</sup> <sub>-3,0</sub> %) <sup>*</sup>	0,3461	100,76	$\bar{X} = 0,3505 (100,2\%)*$ $S = \pm 7,01 \cdot 10^{-3}$ $S_x = \pm 3,14 \cdot 10^{-3}$ $\Delta X = \pm 8,72 \cdot 10^{-3}$ $RSD = 2,00\%$ $\epsilon = \pm 2,48\%$ $\delta = -0,4\%$
	0,3435	100,00	
	0,3469	100,99	
	0,3572	103,99	
	0,3589	104,48	

аналізу, мл;  $a$  і  $b$  — сталі величини: вільний член та кутовий коефіцієнт рівняння градувальної залежності (лінії регресії)  $\text{tg } \alpha = a + b \cdot C$  відповідно (де  $C$  — концентрація цефалексину, мкг/мл;  $w_{\text{H}_2\text{O}}$  — вміст води, %).

**Виготовлення розчину робочого стандартного зразка препарату (РСЗ).** Наважку 48,53 мг цефалексину моногідрату (пурилексу) розчиняли в двічі дистильованій воді в мірній колбі місткістю 100 мл при +20°C.

**Побудова градувального графіка.** У мірні колби на 100 мл за допомогою мікробюретки послідовно відміряють 0,25; 0,50; 1,00; 1,50; 2,00; 2,50; 3,00 мл розчину РСЗ цефалексину моногідрату додають у кожну при перемішуванні по 4,00 мл 0,02 М калію гідрогенкарбонату, 3,4 мл 0,61 М розчину натрію гідроксиду і доводять об'єм до позначки. Далі діють, як під час аналізу субстанції.

**Методика кількісного визначення цефалексину в гранулах.** Близько 0,5 г (точна наважка) препарату переносили в хімічний стакан на 100 мл, розчиняли в 50 мл дистильованої води, фільтрували у мірну колбу місткістю 100 мл, об'єм розчину доводили до позначки та ретельно перемішували. У мірну колбу на 100 мл за допомогою піпетки поміщали 2,00 мл одержаного розчину і далі виконували аналіз та обробку результатів як вказано вище. Аналогічного ходу аналізу дотримувалися із розчином РСЗ.

Таблиця 2

Результати кількісного визначення цефалексину в гранулах кінетичним методом з пероксомоносульфатною кислотою (P=0,95; n=5)

Лікарська форма	Знайдено		Метрологічні характеристики
	мг/5 мл	%	
Гранули цефалексину 250 <sup>+50</sup> <sub>-25</sub> мг/5 мл (239 мг/5 мл) <sup>*</sup>	235,4	98,49	$\bar{X} = 241,2 (100,92\%)*$ $S = \pm 5,2$ $S_x = \pm 2,3$ $\Delta X = \pm 6,5$ $RSD = 2,17\%$ $\epsilon = \pm 2,69\%$ $\delta = -0,92\%$
	248,0	103,77	
	238,4	99,75	
	239,0	100,00	
	245,3	102,64	

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

**Виготовлення розчину робочого стандартного зразка препарату (РСЗ).** Наважку 63,70 мг цефалексину моногідрату розчиняли в двічі дистильованій воді в мірній колбі місткістю 100 мл при +20°C. Вміст цефалексину знаходили методом стандарту [3].

Вміст цефалексину у перерахунку на цефалексину моногідрат C<sub>16</sub>H<sub>19</sub>N<sub>3</sub>O<sub>5</sub>S у гранулах X, мг на 5 мл, розраховували за формулою:  $X = C \cdot 20$ , де:  $C$  — вміст цефалексину, знайдений за методом стандарту

$$C = \frac{C_{cm}}{\text{tga}_{cm}} \cdot \text{tga}_{\text{сп}}, \text{ мкг/мл};$$

20 — коефіцієнт перерахунку у мг на 5 мл розчину готової до вживання лікарської форми.

Нижня межа визначуваних концентрацій цефалексину згідно з розрахунками — 1,0 мкг/мл.

#### ВИСНОВКИ

Розроблені методики кількісного визначення цефалексину у субстанції та гранулах для приготування суспензії для внутрішнього застосування спектрофотометрично-кінетичним методом тангенсів. Градувальний графік зберігав лінійний характер у межах концентрацій 1-16 мкг/мл. Нижня межа визначуваних концентрацій (C<sub>н</sub>) — 1 мкг/мл. Під час визначення цефалексину у субстанції за градувальним графіком RSD = 2,00% (правильність,  $\delta = -0,4\%$ ), у гранулах за методом стандарту — 2,17% ( $\delta = -0,92\%$ ).

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Алексеев В.Г., Федорова-Левковская И.А. // Вестник ТвГУ. — 2006. — Вып. 3. Сер. хим., №8. — С. 108-111.
2. Демская Е.В., Алексеев В.Г. // Вестник ТвГУ. — 2005. — Вып. 2. Сер. хим., №8. — С. 177-179.
3. Державна фармакопея України / Державне підприємство "Науково-експертний фармакопейний центр". — 1-е вид. — Х.: РИПЕГ, 2001. — С. 477.
4. Зайцева К.В., Алексеев В.Г. // Вестник ТвГУ. — 2006. — Вып. 3. Сер. хим., № 8. — С. 112-115.
5. Компендиум 2008 — лекарственные препараты. — В 2-х т. — Т. 2 / Под ред. В.Н.Коваленко, А.П.Вікторово. — К.: МОРИОН, 2008. — 2270 с.
6. Al-Motani I.F. // Anal. Lett. — 2004. — Vol. 37, №10. — P. 2099-2110.
7. European Pharmacopoeia. — 4-th ed. — Strasbourg: Council of Europe, 2003. — Suppl. 3. — P. 2975-2977.

8. Gallo M.L., Campins F.P., Sevillano C.A. // *J. Pharm. and Biomed. Anal.* — 2002. — Vol. 29, №3. — С. 405-423.
9. Hefnawy M., El-Shabrawy Y., Belal F. // *J. Pharm. Biomed. Analysis.* — 1999. — Vol. 21, №4. — P. 703-707.
10. Li Y., Lu J. // *Luminescence.* — 2006. — Vol. 21, №4. — P. 251-255.
11. Ni Y.N., Xiao W.Q. // *Chinese Chem. Lett.* — 2008. — Vol. 19, №8. — P. 981-984.
12. Omara M.A., Abdelmageeda O.H., Attiaa T.Z. // *Talanta.* — 2009. — Vol. 77, №4. — P. 1394-1404.
13. Patel S.A., Patel N.M., Patel M.M. // *Ind. J. Pharm. Sci.* — 2006. — Vol. 68, №2. — P. 278-280.
14. Priyanka P., Suresh P. // *Asian J. Pharm.* — 2008. — Vol. 2, №2. — P. 120-122.
15. Saleh G.A., Askal H.F., Darwish I.A., El-Shorbagi A.-N. // *Anal. Sci.* — 2003. — Vol. 19, №2. — P. 281-287.
16. Saleh G.A., Askal H.F., Radwan M.F., Omar M.A. // *Talanta.* — 2001. — Vol. 54, №6. — P. 1205-1215.
17. Salem Hesham, Askal Hassan // *J. Pharm. and Biomed. Anal.* — 2002. — Vol. 29, №1-2. — P. 347-354.
18. Sun Y.Y., Tang Y.H., Yao H., Zheng X.H. // *Talanta.* — 2004. — Vol. 64, №1. — P. 156-159.
19. Thongpoon C., Liawruangrath B., Liawruangrath S. et al. // *Anal. Chim. Acta.* — 2005. — Vol. 553, №1-2. — P. 123-133.

---

УДК 547.732: 543.242.3: 543.42.062: 543.257

КИНЕТИЧЕСКОЕ СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЦЕФАЛЕКСИНА ПО ПРОДУКТУ РЕАКЦИЙ ПЕРОКСОКИСЛОТНОГО ОКИСЛЕНИЯ И ПЕРГИДРОЛИЗА

Н.Е. Блажеевский, Ю.Ю. Лабузова

Разработаны методики кинетического спектрофотометрического определения цефалексина, основанные на двух сопряженных реакциях — S-окисления калий пероксомоносульфатом и щелочного гидролиза. Скорость реакции измеряли по изменению светопоглощения образующегося продукта при 305 нм. Для построения калибровочного графика при определении цефалексина в субстанции использован метод тангенсов. График сохранял линейный характер в пределах концентраций 1-16 мкг/мл. Для определения цефалексина в лекарственном препарате "Цефалексин" 250 мг/5 мл использован метод стандарта. В интервале 100,00-104,48% цефалексина в субстанции RSD = 2,00%; в лекарственном препарате для интервала от 98,49 до 103,77% RSD = 2,17%.

---

UDC 547.732: 543.242.3: 543.42.062: 543.257

KINETIC SPECTROPHOTOMETRIC DETERMINATION OF CEFALOXIN BY THE PRODUCT OF PEROXOACID OXIDATION AND PERHYDROLYSIS REACTIONS

N.Ye. Blazheevskiy, Yu.Yu. Labuzova

The kinetic spectrophotometric methods based on two conjugated reactions of S-oxidation with potassium peroxomonosulphate and alkali hydrolysis have been developed for determination of cefalexin monohydrate. The reaction rate was measured by the change of the product light absorbance at 305 nm. The tangent method is applied to construct the calibration curve when determining the concentration of cefalexin in the substance. The graph has been found to be linear over the concentration range of 1-16 µg/ml. The standard method has been used for the determining cefalexin concentration in "Cefalexin" 250 medicine, mg/5 ml. When the range of cefalexin in the substance is 100.00-104.48%, RSD = 2.00%, and the pharmaceutical preparation the range of 98.49-103.77% has RSD = 2.17%.