

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

УДК 547.732: 543.242.3: 543.42.062: 543.257

## ЙОДОМЕТРИЧНЕ ВИЗНАЧЕННЯ ЦЕФАЛЕКСИНУ ТА ЦЕФОТАКСИМУ ЗА РЕАКЦІЄЮ З КАЛІЮ КАРОАТОМ

М.Є.Блажеєвський, Ю.Ю.Лабузова

Національний фармацевтичний університет

Розроблені прості, надійні та чутливі методики оксидиметричного визначення цефалексину у субстанції та цефотаксиму у порошку для приготування розчину для ін'єкцій, які засновані на реакції S-окиснення їх калію гідрогенпероксо-моноссульфатом у кислому середовищі з наступним визначенням надлишку окисника йодометричним методом. При 1,5 кратному молярному надлишку окисника реакція завершується за час, який не перевищує однієї хвилини. Вміст основної речовини у субстанції цефалексину становить 100,9% RSD = 1,1% ( $\delta = 0\%$ ), цефотаксиму у лікарському препараті — 98,7%, RSD = 0,5% ( $\delta = -0,3\%$ ). Найменша кількість цефалексину та цефотаксиму, визначена за 3 $\sigma$  критерієм, становить 0,1 мг.

Цефалексин (Cefalexin), моногідрат-7-(D- $\alpha$ -аміно- $\alpha$ -фенілацетиламіно)-3-метил-3-цефем-4-карбонової кислоти, та цефотаксим (Cefotaxim), натрій 3-ацетоксиметил-7-[ $\alpha$ -(2''-аміно-4''-тіазоліл)- $\alpha$ -(метоксііміно)-ацетиламіно]-3-цефем-4-карбонат, є похідними 7-амінодезацетоксицефалоспорової кислоти (7-АДЦК) і належать до напівсинтетичних цефалоспоринових  $\beta$ -лактамних антибіотиків I та III поколінь відповідно. Відмінність хімічної будови у порівнянні з пеніцилінами обумовлює їх вищу стійкість стосовно стафілокової пеніцилінази, а також ефективність щодо стрептококів, гонококів (цефалексин) і грамнегативних мікроорганізмів (цефотаксим) та вищу кислотостійкість; вони рідше викликають побічну дію алергічного характеру, володіють відносно низькою токсичністю.

Цефалексин випускають у желатинових капсулах по 0,25 та 0,5 г, а також у вигляді гранул для приготування суспензії [5], а цефотаксим — у флаконах по 0,75 або 1,5 г.

Для кількісного визначення цефалексину та цефотаксиму ДФУ та ЄФ рекомендують використовувати метод ВЕРХ [3, 7].

Крім того, в науковій літературі описані методи кількісного визначення цефалексину та цефотаксиму у субстанції та лікарських препаратах методами колориметрії [14] і атомно-абсорбційної

спектроскопії [18], спектрофотометрії [4, 9, 13, 15-17], спектрофлуориметрії [18], потенціометричного титрування [1, 2], а також кінетичним методом [11, 12], у тому числі у потоково-ін'єкційному варіанті [6] та методом хемілюмінесценції [10, 19-21].

Метою даного дослідження було опрацювання нових методик кількісного визначення вмісту основної речовини в субстанції цефалексину та препараті цефотаксиму методом оксидиметрії з використанням як аналітичного реагента калію гідрогенпероксомоноссульфату (калію кароату). Перевагами запропонованого способу виконання аналізу є можливість здійснення аналітичного визначення препаратів за біологічно активною частиною молекул, а саме за аліциклічним сульфуром лактамового кільця, задовільна відтворюваність та правильність результатів, а також можливість визначення значно менших кількостей препаратів, ніж методом неводного титрування чи алкаліметрії. Він не вимагає використання дорогих стандартних зразків, токсичних розчинників та особливого обладнання, як у методі ВЕРХ, простіший та швидший у виконанні порівняно з ним.

Як окисник використовували потрійну калієву сіль кислоти Каро,  $2\text{KHSO}_5 \cdot \text{KHSO}_4 \cdot \text{K}_2\text{SO}_4$  — "Оксон<sup>®</sup>" виробництва фірми "DuPont". Активніючою речовиною її є калію гідрогенпероксомоноссульфат,  $\text{KHSO}_5$ . Вибір реагента обумовлений його доступністю, задовільною розчинністю у воді, порівняно високою окисаційною здатністю ( $E^0 = 1,8 \text{ В}$ ), а також достатньою стійкістю під час зберігання та застосування.

### Експериментальна частина

Запропонований метод ґрунтується на реакції S-окиснення цефалексину та цефотаксиму калію гідрогенпероксомоноссульфатом у кислому середовищі. Встановлено, що окисно-відновна взаємодія відбувається кількісно та стехіометрично: на 1 Моль кожного препарату витрачається 1 Моль  $\text{KHSO}_5$ . Продуктом реакції є відповідний S-оксид. Реакції завершувались за 1 хв (час спостереження). Схема процесу окиснення калію гідрогенпероксомоноссульфатом цефалоспоринів наведена на прикладі цефалексину на рисунку.

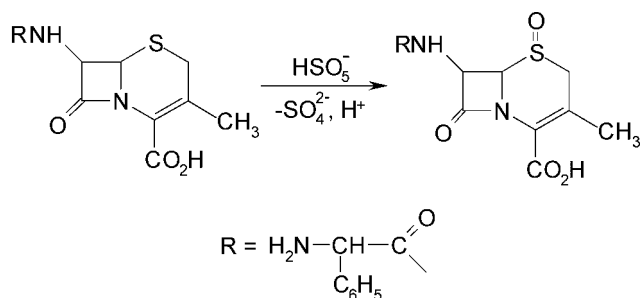
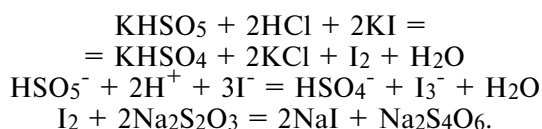


Рис. Схема реакції S-окисації цефалексину калію гідрогенопероксомоносульфатом.

Надлишок непрореагованого калію гідрогенопероксомоносульфату визначали методом йодометричного титрування:



Як титрант використовували виготовлений із фіксаналу стандарт-титру 0,02 Моль/л розчин натрію тіосульфату. 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-карбонової кислоти моногідрат), який відповідав вимогам АНД (виробництва “DMS Anti-infectives Chemferm S.A.”, Іспанія: сер. В425055; вміст основної речовини 100,9% (ВРн);  $w_{\text{H}_2\text{O}} = 6,2\%$ ), та цефотаксим — порошок для приготування розчину для ін’єкцій по 1000 мг у флаконах №5 виробництва ТОВ “Фармацевтична компанія “Здоров’я” (Харків, Україна), серійний номер 41008.

**Методика вивчення кінетики реакції S-окисування.** За допомогою піпетки відбирали 10 мл 0,02 Моль/л розчину калію гідрогенопероксомоносульфату і переносили в мірну колбу на 100 мл, додавали 10,0 мл 0,01 Моль/л розчину препарату (цефалексину або цефотаксиму), вмикали секундомір, доводили об’єм колби дистильованою водою до 100,0 мл і ретельно перемішували. Через певні проміжки часу, які відраховували за секундоміром, за допомогою піпетки відбирали 10 мл одержаної суміші і переносили у конічну колбу для титрування, підкислювали 1 мл 0,1 Моль/л розчином сульфатної кислоти, додавали 1 мл 5% розчину калію йодиду. Вивільнений йод титрували 0,02 Моль/л розчином натрію тіосульфату в присутності крохмалю.

**Методика кількісного визначення цефалексину моногідрату в субстанції.** Близько 0,36 г (точна наважка) субстанції препарату з відомим вмістом води розчиняли в 70 мл дистильованої води і доводили об’єм до 100,0 мл. Відбирали 10,0 мл, переносили в мірну колбу, додавали 10,0 мл 0,02 Моль/л розчину калію гідрогенопероксомоносульфату, доводили об’єм дистильованою водою до 100,0 мл,

ретельно перемішували і залишали на 1 хв. Потім відбирали 10,0 мл розчину, поміщали в конічну колбу для титрування, додавали 1 мл 0,1 Моль/л розчину сульфатної кислоти і 1 мл 5% розчину калію йодиду. Вивільнений йод одразу відтитрували 0,02 Моль/л розчином натрію тіосульфату.

Паралельно за аналогічних умов проводили контрольний дослід (за відсутності цефалексину моногідрату з тією ж кількістю 0,02 Моль/л розчину калію гідрогенопероксомоносульфату).

Вміст цефалексину моногідрату у субстанції X, %, розраховували за формулою:

$$X = \frac{(V_0 - V) \cdot K \cdot T \cdot V_k \cdot 100}{m_n \cdot V_a \cdot (100 - w)} \cdot 100\%, \quad (1)$$

де:  $V_0$  — об’єм стандартного 0,02 Моль/л розчину натрію тіосульфату, витрачений на титрування в контрольному досліді, мл;  $V$  — об’єм стандартного 0,02 Моль/л розчину натрію тіосульфату, витрачений на титрування в робочому досліді, мл;  $K$  — коефіцієнт поправки концентрації стандартного розчину натрію тіосульфату до 0,0200 Моль/л;  $T$  — кількість цефалексину моногідрату, що відповідає 1 мл стандартного 0,0200 Моль/л розчину натрію тіосульфату, г/мл;  $V_k$  — об’єм мірної колби, мл;  $V_a$  — узятий для аналізу об’єм розчину лікарської форми, мл;  $m_n$  — маса наважки лікарської форми, г;  $w$  — вміст води в субстанції, %.

1 мл стандартного 0,0200 Моль/л розчину натрію тіосульфату відповідає 0,003654 г цефалексину моногідрату ( $\text{C}_{16}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_4\text{S}$ ), якого в субстанції повинно бути 95-101% в перерахунку на безводну речовину.

**Методика кількісного визначення цефотаксиму натрію — порошку для приготування розчину для ін’єкцій.** Близько 0,48 г (точна наважка) субстанції препарату з відомим вмістом води розчиняли в 70 мл дистильованої води і доводили об’єм до 100,0 мл. Далі виконували аналіз аналогічно проведеному під час визначення цефалексину.

Вміст цефотаксиму натрію у препараті, мг (X) розраховували за формулою:

$$X = \frac{(V_0 - V) \cdot K \cdot T \cdot V_k \cdot \bar{m} \cdot 1000 \cdot 10 \cdot 100}{m_n \cdot V_a \cdot (100 - w)}, \quad (2)$$

де:  $V_0$  — об’єм стандартного 0,02 Моль/л розчину натрію тіосульфату, витрачений на титрування в контрольному досліді, мл;  $V$  — об’єм стандартного 0,02 Моль/л розчину натрію тіосульфату, витрачений на титрування у робочому досліді, мл;  $K$  — коефіцієнт поправки концентрації стандартного розчину натрію тіосульфату до 0,0200 Моль/л;  $T$  — кількість цефотаксиму, що відповідає 1 мл стандартного 0,0200 Моль/л розчину натрію тіосульфату, г/мл;  $V_k$  — об’єм мірної колби, мл;  $V_a$  — узятий для аналізу об’єм розчину лікарської форми, мл;  $m_n$  — маса наважки лікарської форми, г;  $\bar{m}$  — середня маса вмісту флакону, г;  $w$  — вміст

Таблиця 1

Результати кількісного визначення вмісту основної речовини у субстанції цефалексину ( $P=0,95$ )

Узято, г	Знайдено		Метрологічні характеристики
	г	%	
Цефалексин субстанція (Пурилекс)			
0,0365 (100,9%*)	0,0366	100,3	$\bar{x} = 0,0368$ (100,9%) $S = 4,1 \cdot 10^{-4}$ $S_{\bar{x}} = 1,45 \cdot 10^{-4}$ $\Delta x = 3,4 \cdot 10^{-4}$ $RSD = 1,11\%$ $\varepsilon = 0,93\%$ $\delta = \pm 0\%$
	0,0366	100,3	
	0,0374	102,35	
	0,0375	102,5	
	0,0366	100,3	
	0,0370	101,4	
	0,0365	100,0	
	0,0365	100,0	

\* Вміст основної речовини встановлено за фармакопейною методикою [8].

вологи у субстанції, %; 1000 — перерахунок у мг; 10 — коефіцієнт розбавлення.

1 мл стандартного 0,0200 Моль/л розчину натрію тіосульфату відповідає 0,004774 г цефотаксиму ( $C_{14}H_{23}ClN_2O$ ), якого в препараті повинно бути 90-110% в перерахунку на безводну речовину.

#### Результати та їх обговорення

Результати кількісного визначення цефалексину у субстанції та цефотаксиму у препараті наведені в табл. 1 та 2. Вони свідчать, що опрацьовані методики дозволяють кількісно визначати цефалексин у субстанції та цефотаксим у порошку для приготування розчину для ін'єкцій:  $RSD \leq 1,1\%$ , правильність становить 0...-0,3%.

Таблиця 2

Результати кількісного визначення цефотаксиму в порошку для приготування розчину для ін'єкцій ( $P=0,95$ )

Узято, мг	Знайдено		Метрологічні характеристики
	мг	%	
Цефотаксим порошок для ін'єкцій			
990,0*	984,35	98,44	$\bar{x} = 987,4$ (98,7%) $S = 4,7$ $S_{\bar{x}} = 1,9$ $\Delta x = 5,0$ $RSD = 0,5\%$ $\varepsilon = 0,5\%$ $\delta = -0,3\%$
	993,50	99,35	
	984,35	98,44	
	984,35	98,44	
	984,35	98,44	
	993,50	99,35	

\* Вміст основної речовини встановлено за фармакопейною методикою [8].

Найменша кількість цефалексину та цефотаксиму, визначена за  $3S$  критерієм, становить 0,1 мг.

#### ВИСНОВКИ

Запропонований калію гідрогенпероксомоносульфат як аналітичний реагент на цефалексин та цефотаксим.

Опрацьовані методики оксидиметричного визначення цефалексину та цефотаксиму, які ґрунтуються на кількісному окисненні препаратів калію гідрогенпероксомоносульфатом у кислому середовищі з подальшим визначенням непрореагованого надлишку окисника методом йодометричного титрування. Методики дозволяють здійснювати кількісне визначення цефалексину у субстанції та цефотаксиму у лікарській формі ( $RSD \leq 1,1\%$ ,  $\delta = 0...-0,3\%$ ).

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Алексеев В.Г., Федорова-Левковская И.А. // Вестник ТвГУ. — 2006. — Вып. 3, №8. Сер. Химия. — С. 108-111.
2. Демская Е.В., Алексеев В.Г. // Вестник ТвГУ. — 2005. — Вып. 2, №8. Сер. Химия. — С. 177-179.
3. Державна фармакопея України / Державне підприємство "Науково-експертний фармакопейний центр". — 1-е вид. — Х.: PIPEP, 2001. — С. 477.
4. Зайцева К.В., Алексеев В.Г. // Вестник ТвГУ. — 2006. — Вып. 3, №8. Сер. Химия. — С. 112-115.
5. Компендиум 2008 — лекарственные препараты. — В 2-х т. — Т. 2. / Под ред. В.Н.Коваленко, А.П.Викторова. — К.: МОРИОН, 2008. — 2270 с.
6. Al-Momani 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. Hefnawy M., El-Shabrawy Y.J. // Pharm. Biomed. Analysis. — 1999. — Vol. 21, №4. — P. 703-707.
9. Kumar G.K., Chowdary K.P.R., Rao D.G. // The Antiseptic. — 2001. — Vol. 98, №4. — P. 149-50.
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., Attia 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. Rao G.D., Kumar K.G., Chowdary K.P.R. // *Ind. J. Pharm. Sci.* — 2001. — Vol. 63, №2. — P. 161-163.
16. Saleh G.A., Askal H.F., Darwish I.A., El-Shorbagi A.-N.A. // *Anal. Sci.* — 2003. — Vol. 19, №2. — P. 281-287.
17. Saleh G.A., Askal H.F., Radwan M.F., Omar M.A. // *Talanta.* — 2001. — Vol. 54, №6. — P. 1205-1215.
18. Salem H., Askal H.J. // *Pharm. Biomed. Anal.* — 2002. — Vol. 29, №1-2. — P. 347-354.
19. Sun Y.Y., Tang Y.H., Yao H., Zheng X.H. // *Talanta.* — 2004. — Vol. 64, №1. — P. 156-159.
20. Thongpoon C., Liawruangrath B., Liawruangrath S. et al. // *Anal. Chim. Acta.* — 2005. — Vol. 553, №1-2. — P. 123-133.
21. Yao H., Tang Y., Li Y., Sun Y. // *Anal. Lett.* — 2003. — Vol. 36, №14. — P. 2975-2983.

УДК 547.732: 543.242.3: 543.42.062: 543.257

ЙОДОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЦЕФАЛЕКСИНА И ЦЕФОТАКСИМА ПО РЕАКЦИИ С КАЛИЯ КАРОАТОМ  
Н.Е.Блажеевский, Ю.Ю.Лабужева

Разработаны простые методики оксидиметрического определения цефалексина в субстанции и цефотаксима в порошке для приготовления инъекционного раствора, которые основаны на количественном окислении их калия гидрогенпероксомоносульфатом в кислой среде с последующим определением избытка окислителя методом йодометрического титрования. При 1,5-кратном молярном избытке окислителя реакция протекает за время, которое не превышает одной минуты. Содержание основного вещества в субстанции цефалексина составляет 100,9% RSD = 1,1% ( $\delta = 0\%$ ), цефотаксима в лекарственном препарате — 98,7%, RSD = 0,5% ( $\delta = -0,3\%$ ). Правильность рассчитывали, исходя из данных метода, рекомендованного фармакопеей Великобритании. Наименьшее количество цефалексина и цефотаксима, найденное по 3S критерию, составляет 0,1 мг.

UDC 547.732: 543.242.3: 543.42.062: 543.257

CEFALEXINE AND CEFOTAXIME IODOMETRIC DETERMINATION BY THE POTASSIUM KAROATE REACTION  
M.Ye.Blazheyevsky, Yu.Yu.Labuzova

Simple, reliable and sensitive methods of oxidimetric determination of cephalexine in pure powder and cefotaxime in powder for preparing solutions for injections, which are based on S-oxidation reactions by potassium peroxomonosulphate in the weak acid medium with the subsequent iodometric quantitative determination of the excess of the oxidant have been developed. The reaction lasts less than 1 min with 1.5 times molar excess of the oxidant. The content of the active substance in cephalexine is 100.9%, RSD = 1.1% ( $\delta = 0\%$ ), cefotaxime in the medicine is 98.7, RSD = 0.5% ( $\delta = -0.3\%$ ). The correctness is calculated according to the data of the method recommended by the British Pharmacopoeia. The limits of quantitation (LOQ) for cephalexine and cefotaxime were 0.1 mg (determined by 3S).