

УХЖ

ISSN 0041-6045

**НАЦИОНАЛЬНАЯ
АКАДЕМИЯ НАУК УКРАИНЫ**

Том 71
сентябрь-октябрь
2005

УКРАИНСКИЙ ХИМИЧЕСКИЙ ЖУРНАЛ

№9-10

<http://www.ionc.kar.net>

ПОЛЯРОГРАФІЧНЕ ВИЗНАЧЕННЯ ПЕНІЦИЛІНІВ З ВИКОРИСТАННЯМ ПЕРОКСИКИСЛОТНОГО ОКИСНЕННЯ

Опрацьовано методики непрямого полярографічного визначення ампіциліну та бензилпеніциліну в лікарських формах після їх попереднього перетворення за посередництвом аліфатичних дипероксикислот у відповідні сульфокси. Результати аналізу добре узгоджуються з одержаними за методом йодометрії. Відносна помилка визначення не перевищує $\pm 3.1\%$.

Ампіцилін належить до напівсинтетичних стійких до гідролізу антибіотиків, широко застосовується в медичній практиці. Продукується у вигляді натрієвої солі, а також тригідрата — субстанцій, індивідуальних та комбінованих препаратів з оксациліном для перорального (пігулки, капсули) і парентерального застосування (ліофілізована маса натрієвих солей у герметично закоркованих флаконах) по 0.25 і 0.5 г для лікування пневмоній, бронхопневмоній, ангін, перитоніту, холециститу, сепсису, абсцесу легень, кишкових інфекцій, післяопераційних інфекцій, викликаних чутливими до нього мікроорганізмами, та інфекцій сечових шляхів, спричинених ешерихією, протеєм, ентерококами чи змішаною інфекцією тощо [1].

Для кількісного визначення препаратів пеніцилінового ряду рекомендований метод високо-ефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ) [2, 3], спектрофотометрії [4—7], потенціометричного титрування [8], пероксикислотометрії [9]; для визначення ампіциліну також успішно застосовують метод потенціометрії з використанням йоно-селективних електродів [10], різні варіанти вольтамперометрії та полярографії [11—14], кінетики [15, 16].

Серед аналітичних методів контролю якості пеніцилінів поряд з іншими сучасними фізико-хімічними методами дедалі ширше застосовується полярографічний метод аналізу, який дозволяє відносно легко встановити якісний і кількісний склад препаратів та наявність в них специфічних домішок, дослідити механізм реакцій окиснення та розкладання. Методики полярографічного визначення пеніцилінів переважно ґрунтуються на попередньому перетворенні їх в електрохімічно активні продукти гідролітичного розщеплення, оскільки пеніцилінове ядро електрохімічно неактивне [12]. Успішно застосовується для визначення пеніциліну в біологічних об'єктах метод катодної інверсійної вольтамперометрії [14].

Однак аналіз стійких до гідролізу препаратів вимагає надто багато часу. Так, наприклад, для гідролітичного розщеплення ампіциліну до поля-

рографічно активних продуктів у середовищі 1 М розчину хлористоводневої кислоти необхідно витратити біля 4 год.

На прикладі ампіциліну та бензилпеніциліну ми дослідили можливість визначення пеніцилінів методом осцилополярографії у вигляді електрохімічно активних похідних — відповідних S-оксидів, які одержують при взаємодії пеніцилінів з аліфатичними дипероксикислотами в попередній стадії аналізу.

Для досліджень використовували субстанції бензилпеніциліну — натрієву сіль (натрію(2S, 5R, 6R)-3,3-диметил-7-оксо-6-[(фенілацетил)аміно]-4-тіа-1-азабіцикло[3.2.0]гептан-2-карбоксилату), ампіциліну натрієву сіль (натрію ((2S, 5R, 6R)-6-[(2R)-2-аміно-2-фенілацетил]аміно-3,3-диметил-7-оксо-4-тіа-1-азабіцикло[3.2.0]гептан-2-карбоксилату) фармакопейної чистоти та їх лікарські форми: сухі стерильні порошки у флаконах — бензилпеніцилін-КМП, 1000 000 од. 0.25 г активної речовини, серії 1290801 і ампіцилін-КМП, 1.0 г активної речовини, серії 941001 виробництва ВАТ "Київ-медпрепарат", Україна.

Як реагенти-окисники використовували 1,6-дипероксигексادیонову (дипероксиадипінову) ($\text{HO}_3\text{C}(\text{CH}_2)_4\text{CO}_2\text{H}$, ДПАК) та 1,10-дипероксидекандіонову (дипероксисебацінову) ($\text{HO}_3\text{C}(\text{CH}_2)_8\text{CO}_2\text{H}$, ДПСК) кислоти, які одержували аналогічно, як в роботі [16]. Вміст основної речовини у продуктах за даними йодометричного титрування становив 96—99 %.

Виготовлення стандартних розчинів пеніцилінів здійснювали об'ємно-ваговим методом за точними наважками субстанцій препаратів, які відповідали вимогам нормативно-технічної документації, на бідистильованій воді.

Робочі розчини пеніцилінів готували із вихідних відповідним розбавленням. Усі розчини виготовляли безпосередньо перед дослідженнями. Для створення і підтримки необхідного значення рН використовували універсальні буферні суміші. Контроль рН середовища здійснювали електрометрич-

но за допомогою лабораторного йоніміра И-130 зі скляним електродом ЭСЛ-43-07.

Полярограми знімали на полярографі осцилографічному ПО, модель 03 ЦЛА (триелектродний електролізер) щодо каломельного насиченого хлоридом калію електроду (НКЕ) при 20 °С. Свідки, E_p^k , В: S-оксид бензилпеніциліну ($1 \cdot 10^{-4}$ М), 0.1 М КСl, рН 3.9 (0.02 М $\text{KH}_2\text{PO}_4 + \text{HCl}$) -0.350 , -1.210 ; рН 8.15 (0.02 М $\text{K}_2\text{HPO}_4 + \text{HCl}$) -0.624 , -1.152 ; S-оксид ампіциліну ($1 \cdot 10^{-4}$ М), 0.1 М КСl, рН 2.5 ($\text{HCl} + 0.1 \text{KCl}$) -1.230 ; рН 8.0 (0.02 М $\text{K}_2\text{HPO}_4 + \text{HCl}$) -1.154 .

Нами встановлено, що в широких межах кислотності середовища (рН 4.5—7.5), де вказані пеніциліни зберігають гідролітичну стійкість, впродовж 1 хв (час спостереження) вищі аліфатичні дипероксидикарбонові кислоти кількісно окиснюють пеніциліни у відповідні сульфокси. Вибір як окисника вищих аліфатичних дипероксикислот обумовлений можливістю одержання їх у чистому вигляді, задовільною розчинністю та достатньою гідролітичною тривкістю в умовах експерименту.

На фоні фосфатних буферних розчинів при рН 3.6—9.1 одержані S-оксиди ампіциліну та бензилпеніциліну утворюють характерні полярографічні хвилі з потенціалами E_p^k від -1.23 до -1.17 В і від -1.21 до -1.15 В відповідно (НКЕ) (рис. 1). Розтягнутий характер хвиль та залежність значень потенціалу піків від концентрації деполаризатора вказує на необоротний характер електродного процесу відновлення на ртутному краплинному електроді. Висота хвиль S-оксиду бензилпеніциліну досягала свого максимального значення при рН 3.65, а S-оксиду ампіциліну — при рН 2.5 (в буферному розчині Бріттона-Робінсона) відповідно. Однак при рН 3.65 у випадку S-оксиду бензилпеніциліну на полярограмах, окрім хвилі відновлення власне сульфоксиду ($E_p^k = 1.206$ В, $I_p = 3.6$ мкА), додатково спостерігали характерні хвилі, які належали продуктам гідролізу бензилпеніциліну — бензилпеніцилоїнатній кислоті ($E_p^k = -0.875$ В,

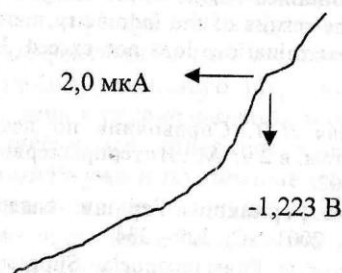


Рис. 1. Вольтамперограма процесу відновлення S-оксиду ампіциліну. $C_{\text{SOA}} = 1 \cdot 10^{-4}$ М, рН 2.5 (0.1 М КСl + НСl).

$I_p = 0.25$ мкА) та пенільоальдегіду ($E_p^k = -0.380$ В, $I_p = 0.4$ мкА; $E_p^a = -0.310$ В, $I_p = 0.15$ мкА) [17]. Це свідчило про те, що вміст полярографованого S-оксиду бензилпеніциліну не відповідав такому натрієвої солі бензилпеніциліну в досліджуваному розчині.

Виходячи із результатів дослідження, нами були обрані наступні умови виконання аналізу: для ампіциліну на фоні універсальної буферної суміші Бріттона-Робінсона з рН 2.5, для бензилпеніциліну — на фосфатному буферному розчині із рН 4—4.5. За таких умов спостерігалась прямо пропорційна залежність величини граничного струму від концентрації деполаризатора в інтервалі від $(1-2) \cdot 10^{-5}$ до 10^{-3} М. Як приклад, на рис. 2 наведений градувальний графік для полярографічного визначення ампіциліну за викладеною вище методикою.

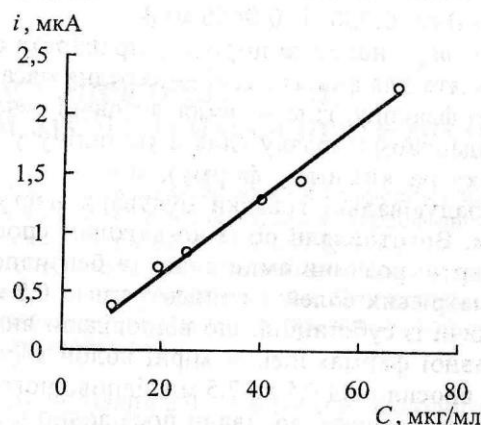


Рис. 2. Градувальний графік для полярографічного визначення S-оксиду ампіциліну. рН 2.5 (0.1 М КСl + НСl).

Одержані результати дозволили опрацювати загальну уніфіковану методику непрямого полярографічного визначення ампіциліну та бензилпеніциліну в лікарських формах у вигляді відповідних сульфоксидів.

Точну наважку лікарської форми, що містила $0.02-0.03$ г досліджуваної речовини, розчиняли в бідистиляті у мірній колбі на 100 мл і доводили об'єм водою до позначки. Розчин використовували одразу після виготовлення. Відбирали 5 мл одержаного розчину в мірну колбу на 25 мл, додавали при перемішуванні 3 мл $5 \cdot 10^{-4}$ М розчину дипероксисебацинової кислоти і залишали на 1 хв. Потім приливали 10 мл універсальної буферної суміші Бріттона-Робінсона з рН 2.5 (у випадку визначення бензилпеніциліну фосфатний буферний розчин з рН 4), об'єм доводили бідистилятом до позначки і ретельно перемішували. Розчин пе-

реносили в електролізер, продували азотом впродовж 10 хв і полярографували.

На одержаній полярограмі вимірювали висоту хвилі, яка відповідає потенціалу відновлення S-оксиду пеніциліну ($E_{\text{п}} = -1.2$ В).

Вміст препаратів у грамах (X) розраховували за допомогою відповідних градувальних графіків за формулою:

$$X = \frac{i_{\text{гр}} - a}{b} \cdot \frac{25 \cdot 100 \cdot \bar{m} \cdot \omega}{m_{\text{н}} \cdot 5 \cdot 10^6},$$

де a і b — коефіцієнти градувальних графіків, що відповідно дорівнюють для ампіциліну 0.076 і 0.0031 мкА·мл/мкг та бензилпеніциліну 0.750 і 0.0456 мкА·мл/мкг; $m_{\text{н}}$ — наважка порошку препарату однієї серії, узята для аналізу, г; $\bar{m}$ — середня маса вмістимого флакону, г; ω — вміст активної речовини у стандартному зразку (для ампіциліну у перерахунку на кислотну форму), м.ч.

Градувальні графіки будували наступним чином. Виготовляли об'ємно-ваговим способом стандартні розчини ампіциліну та бензилпеніциліну натрієвих солей з концентрацією 0.2 мг/мл, виходячи із субстанцій, що відповідали вимогам державної фармакопеї. У мірні колби місткістю 25 мл вносили від 0.5 до 7.5 мл відповідного стандартного розчину, додавали послідовно в кожну колбу від 0.5 до 7.5 мл $4 \cdot 10^{-4}$ М розчину дипероксисебацінової кислоти, збовтували і залишали стояти 1—2 хв. Після цього у кожну колбу додавали по 15 мл буферного розчину, доводили об'єм бі-дистиллятом до позначки і ретельно перемішували. Одержані розчини почергово переносили в чарунку осцилополярографа, продували азотом впродовж 10 хв і знімали полярограми, починаючи від -0.35 В.

На основі обробки експериментальних даних методом найменших квадратів були виведені рівняння градувальних графіків: $i_{\text{гр}} = a + bc$, де $i_{\text{гр}}$ — висота піку, мкА; c — концентрація препарату, мкг/мл.

Результати кількісного визначення ампіциліну та бензилпеніциліну у лікарських формах наведені в таблиці.

Репрезентований метод дозволяє одержувати достовірні результати, які узгоджуються з результатами визначення досліджуваних пеніцилінів у лікарських формах за відомими методиками. Се-

Результати полярографічного визначення бензилпеніциліну натрієвої солі (г) та ампіциліну натрієвої солі в препаратах для ін'єкцій ($P=0.95$, $n=7$)

Бензилпеніцилін-КМП 0.25 г			Ампіцилін-КМП 1.0 г		
Взято	Знайдено	Метрологічні характеристики	Взято	Знайдено	Метрологічні характеристики
0.2451*	0.2418	$\bar{X}=0.2437$ (97.5 %)	0.9803*	0.9709	$\bar{X}=0.9753$ (97.4 %)
	0.2424	$S=\pm 8.1 \cdot 10^{-3}$		0.9998	$S=\pm 2.19 \cdot 10^{-2}$
	0.2548	$S_{\bar{X}}=\pm 3.1 \cdot 10^{-3}$		0.9501	$S_{\bar{X}}=\pm 8.3 \cdot 10^{-3}$
	0.2332	$\Delta X=\pm 7.5 \cdot 10^{-3}$		0.9735	$\Delta X=\pm 2.0 \cdot 10^{-3}$
	0.2493	$\epsilon=\pm 3.1 \%$		0.9901	$\epsilon=\pm 2.1 \%$
	0.2346	$\delta=-0.5 \%$		0.9976	$\delta=-0.5 \%$
	0.2501			0.9453	

* Точний вміст препарату встановлено йодометричним методом.

редня помилка не перевищує $\pm 3 \%$ (відн.). Запропоновані методики полярографічного визначення пеніцилінів з використанням пероксикислотного окиснення вигідно відрізняються від відомих за простотою і швидкістю виконання аналізу. Спосіб виконання визначення ампіциліну та бензилпеніциліну є загальним і може бути поширений на інші похідні 6-амінопеніциланової кислоти.

РЕЗЮМЕ. Разработаны методики косвенного полярографического определения ампициллина и бензилпенициллина в лекарственных формах после их предварительного превращения с помощью алифатических дипероксикислот в соответствующие сульфоксиды. Результаты анализа хорошо согласуются с полученными по методу иодометрии. Относительная ошибка определения не превышает 3.1 %.

SUMMARY. Methods for indirect polarographic determination of ampicilline and benzylpenicilline in medicinal forms after their previous transformation by aliphatic diperoxyacids into the corresponding sulfoxides have been worked out. The obtained results of the analysis are well-correlated with the results of the iodometry method. The relative error determination does not exceed 3.1 %.

1. Федюкович Н.И. Справочник по лекарственным препаратам: в 2 ч. -М.: Интерпрессервис; Книжный Дом, 2002.
2. Державна Фармакопея України. -1-ше вид. -Харків: PIPEГ, 2001. -С. 329—334.
3. The European Pharmacopoeia, Supplements. -4-ed. Council of Europe. Strasbourg: EDQM, 2001.
4. British Pharmacopoeia. -London: The Pharmaceutical Press, 1993. -Vol. 2. -P. 793.

5. Singh K. // Indian J. Technol. -1993. -31, № 8. -P. 613—614.
6. El-Shafie F.S., Gad-Kariem E.A., Al-Rashood K.A. et al. // Anal. Lett. -1996. -29, № 3. -P. 381—393.
7. Красникова А.В., Иозел А.А. // Хим.-фарм. журн. -2003. -37, № 9. -С. 49—51.
8. British Pharmacopeia. London: The Pharmaceutical Press, 1993. -Vol. 1. -P. 79—80.
9. Наукові основи розробки лікарських препаратів: мат-ли наук. сесії Відділення хімії НАН України. -Харків: Основа, 1998.
10. Rizk M.S., Issa Y.M., Shoukry A.F., Abdel-Aal M.M. // Anal. Lett. -1994. -27, № 6. -P. 1055—1065.
11. Uslu Beng, Biryol Yuci // J. Pharm. Belg. -1998. -53, № 3. -P. 262—270.
12. Маскиджьян С.П., Кравченко Л.П. Полярграфия лекарственных препаратов. -К.: Виш. шк., 1976.
13. Майрановский С.Г., Страдынь Я.П., Безуглый В.Д. Полярграфия в органической химии. -Л.: Химия, 1975.
14. Щукина Т.И., Патюшин В.Е., Штейнгардт Ю.Н., Букреева Е.Б. // Журн. аналит. химии. -1993. -48, № 2. -С. 366—369.
15. Al-Khamees H.A., El-Shafie F.S., Hagga M.E.M. et al. // Sci. pharm. -1995. -63, № 3. -P. 191—206.
16. Блажеевський М.Є. // Фармац. журн. -2003. -№ 5. -С. 66—78.
17. Krejčí E. // Chem. Listy. -1955. -49, № 10. -S. 1508—1516.

Національний фармацевтичний університет, Харків

Надійшла 06.04.2005

УДК 543.064:543.544:543.51

М.В. Милюкин

ТВЕРДОФАЗНАЯ ЭКСТРАКЦИЯ В ОПРЕДЕЛЕНИИ ОГРАНИЧЕННО-ЛЕТУЧИХ ОРГАНИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ В ВОДЕ МЕТОДОМ ХРОМАТО-МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ

Разработана методология исследования ограничено-летучих органических соединений природных и питьевых вод бассейна Днепра, которая включает получение основных концентратов методом твердофазной экстракции на пористых полимерных сорбентах из кислой среды и концентратов их фракций жидкостной экстракцией гексаном, циклогексаном и бензолом, идентификацию и определение этих соединений в полученных концентратах методом газовой хроматографии — масс-спектрометрии в различных режимах. При использовании данной методологии идентифицировано более 60 классов ограничено-летучих органических соединений, обладающих нейтральными, слабокислыми и слабоосновными свойствами.

К немногим странам мира, где используют поверхностные воды в качестве источника питьевого водоснабжения, относятся страны СНГ. Действующие в Украине технологии подготовки питьевой воды предусматривают использование значительного количества хлора, что приводит к образованию токсичных хлорорганических и других соединений, которые характеризуются канцерогенным, мутагенным, тератогенным, гепатотоксическим, антихолинэстеразным и другими действиями. Воздействия на живые организмы может значительно усугубляться возможными синергическими эффектами за счет совместного химического и радионуклидного загрязнений. На сегодняшний день в стране сложилась ситуация, когда практически все поверхностные, а в отдельных регионах уже и подземные воды по уровню загрязненности не отвечают требованиям не только международных, но и внутренних стандартов, предъявляемых к источникам питьевого водоснабжения.

Самые совершенные в стране технологии водоподготовки включают стадии последовательного хлорирования и озонирования, приводящие к образованию хлорорганических и других соединений в результате окислительной обработки. Основную часть органических примесей природных вод составляют гуминовые и фульвокислоты (ГФК). Применение хлора при подготовке питьевой воды является небезопасным, поскольку из-за высокого содержания в поверхностной воде природных низкомолекулярных фенольных соединений — антоцианов, фенолкарбоновых кислот и других, а особенно высокомолекулярных полифенольных соединений сложной стохастической структуры — ГФК, креновых и апокреновых кислот, а также антропогенных загрязняющих веществ, например нефтепродуктов, содержащих бифенилы, алкилбензолы, алкилфенольные и другие соединения, — приводит к образованию многих летучих и ограничено-летучих хлорированных соединений, в том числе полихло-

© М.В. Милюкин, 2005