

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
фармацевтичний факультет
кафедра фармацевтичної хімії

КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

на тему: **«ВИБІР МЕТОДИК ФАРМАЦЕВТИЧНОГО АНАЛІЗУ
ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ З ГРУПИ ЦЕФАЛОСПОРИНОВИХ
АНТИБІОТИКІВ»**

Виконав: здобувач вищої освіти групи 226Фм23(1,10д)-01
спеціальності: 226 Фармація, промислова фармація
освітньої програми Фармація
Євгеній САВЧЕНКО

Керівник: доцент закладу вищої освіти кафедри
фармацевтичної хімії, к.фарм.н., доцент Наталія БЕВЗ

Рецензент: доцент закладу вищої освіти кафедри
фармакогнозії та нутриціології, к.фарм.н., доцент
Олена НОВОСЕЛ

Харків – 2025 рік

АНОТАЦІЯ

Досліджено фармакологічні властивості, хімічну структуру та класифікацію цефалоспоринів. Особливу увагу приділено методикам контролю якості. Проведено аналіз методик рідинної хроматографії для завдань фармацевтичного аналізу цефалоспоринових антибіотиків на прикладі цефтриаксону натрію: визначені валідаційні характеристики, розрахована вартість аналізу та визначена екологічність. Кваліфікаційна робота складається зі вступу, трьох розділів, загальних висновків, переліку використаних літературних джерел, викладена на 44 сторінках, проілюстрована 17 рисунками, 7 таблицями і містить 47 джерел літератури.

Ключові слова: цефалоспоринові антибіотики, фармакопейний аналіз, рідинна хроматографія, спектрофотометрія, тонкошарова хроматографія.

ANNOTATION

The pharmacological properties, chemical structure and classification of cephalosporins are investigated. Particular attention is paid to quality control methods. An analysis of liquid chromatography techniques for the pharmaceutical analysis of cephalosporin antibiotics was carried out on the example of ceftriaxone sodium: validation characteristics were determined, the cost of analysis was calculated, and environmental friendliness was determined. The qualification work consists of an introduction, three chapters, general conclusions, a list of references, is set out on 44 pages, illustrated with 17 figures, 7 tables and contains 47 references.

Keywords: cephalosporin antibiotics, pharmacopoeial analysis, liquid chromatography, spectrophotometry, thin-layer chromatography.

ЗМІСТ

ВСТУП	5
РОЗДІЛ 1. СУЧАСНІ АСПЕКТИ ЗАСТОСУВАННЯ АНТИБІОТИКІВ ЦЕФАЛОСПОРИНОВОГО РЯДУ (Огляд літератури).....	8
1.1. Визначення і загальна класифікація антибіотиків	8
1.2. Особливості будови і класифікація β -лактамних антибіотиків.....	11
1.3. Фармакологічна дія цефалоспоринових антибіотиків і їх хімічна будова	12
1.4. Лікарські форми та асортимент лікарських засобів цефалоспоринових антибіотиків на фармацевтичному ринку України.....	18
Висновки до розділу 1	23
РОЗДІЛ 2. ФАРМАКОПЕЙНІ МЕТОДИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ ЦЕФАЛОСПОРИНОВИХ АНТИБІОТИКІВ	24
2.1. Застосування абсорбційної спектрофотометрії в інфрачервоній ділянці в аналізі цефалоспоринових антибіотиків	24
2.2. Рідинна хроматографія та її використання для аналізу цефалоспоринових антибіотиків	25
2.3. Методи визначення готових лікарських засобів з групи цефалоспоринів	27
2.4. Тонкошарова хроматографія.....	29
2.5. Абсорбційна спектрофотометрія в ультрафіолетовій і видимій ділянках	30
Висновки до розділу 2	32
РОЗДІЛ 3. ПІДБІР ОПТИМАЛЬНИХ МЕТОДІВ ВИЗНАЧЕННЯ ЦЕФТРИАКСОНУ НАТРІЮ В ПОРОШКУ ДЛЯ ІН'ЄКЦІЙ.....	34
3.1. Порівняння валідаційних характеристик описаних методик рідинної хроматографії	34
3.2. Розрахунок вартості проведення аналізу за запропонованими методиками	39
3.3. Екологічна оцінка запропонованих методик аналізу цефтриаксону натрію	40
Висновки до розділу 3	43
ВИСНОВКИ.....	44
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	45

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

Гр (+)	- грам позитивні мікроорганізми
Гр (-)	- грам негативні мікроорганізми
7 – АЦК	- 7-аміноцефалоспорована кислота
ESBLs	- бета-лактамази розширеного спектру дії
MRSA	- метицилін-резистентний золотистий стафілокок, (Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus)
PBP2a	- видозмінений пеніцилінзв'язуючий білок (PBP), (Penicillin-Binding Protein 2a), який містять MRSA-стафілококи
PBP2x	- видозмінений пеніцилінзв'язуючий білок (Penicillin-Binding Protein 2x) у стрептококів і пневмококів
Rf	- фактор утримування в ТШХ
Rt	- час утримання (retention time)
ВЕРХ (HPLC)	- високоефективна рідинна хроматографія (high performance liquid chromatography)
ВЕТШХ (HPTLC)	- високоефективна тонкошарова хроматографія (high performance thin layer chromatography)
ДФУ	- Державна Фармакопея України
ЛІГА	лікарсько-індукована гемолітична анемія
ЛП	- лікарський препарат
ТШХ (TLC)	- Тонкошарова хроматографія (Thin layer chromatography)
ФСЗ	- фармакопейний стандартний зразок

ВСТУП

Актуальність теми. Цефалоспоринові антибіотики – широка група β -лактамних антибіотиків, в основі хімічної структури яких лежить 7-аміноцефалоспоринова кислота або 7-ацетоксицефалоспоринова кислота. Уперше виділені в 1948 р. із гриба *Cephalosporium aeromonium*. Речовини групи цефалоспоринових антибіотиків розчинні у воді, на відміну від пеніцилінів відносно стійкі до рН і коливань температури. Хімічно і фармакологічно подібні до пеніцилінів. У структурі містять бета-лактамне кільце, дигідротіазинове кільце і бічні ланцюги. На тепер застосування цієї групи препаратів залежить від покоління антибіотика, шляху введення в організм, спектру чутливості до даного препарату.

Антибіотики цефалоспоринового ряду займають провідне місце серед антибактеріальних препаратів, які широко застосовуються у сучасній медичній практиці для лікування інфекцій різного генезу. Для забезпечення населення ефективними та безпечними засобами цефалоспоринових антибіотиків - контроль якості є одним із ключових етапів фармацевтичної діяльності, що вимагає використання надійних, точних, валідованих методик аналізу. Актуальність теми також обумовлена постійним розвитком вимог до аналітичного забезпечення якості відповідно до міжнародних стандартів, зокрема вимог Європейської фармакопеї та Державної фармакопеї України.

Вибір оптимальної методики фармацевтичного аналізу, що забезпечує відповідність препаратів встановленим нормативним показникам, є особливо важливим в умовах посилення контролю якості лікарських засобів з боку регуляторних органів. Серед сучасних методів контролю значну роль відіграють рідинна хроматографія, спектрофотометрія та тонкошарова хроматографія. Оцінка кожної з методик має проводитись з урахуванням точності, чутливості, відтворюваності, екологічної безпечності, економічної доцільності та можливості застосування в умовах аптек і виробничих лабораторій.

Особливе значення в рамках даного дослідження має вивчення методики рідинної хроматографії для аналізу цефтриаксону натрію – напівсинтетичного засобу третього покоління, що характеризується широким спектром антимікробної дії, високою терапевтичною ефективністю, доброю переносимістю та зручністю у використанні.

Таким чином, дослідження спрямоване на аналіз та порівняння різних методик рідинної хроматографії для проведення контролю якості цефалоспоринових антибіотиків на прикладі цефтриаксону натрію, що є надзвичайно актуальним як з наукової, так і з практичної точки зору.

Мета дослідження. Метою дослідження стало порівняння описаних в літературі методик контролю якості цефтриаксону натрію для ін'єкцій з фармакопейною методикою рідинної хроматографії за основними валідаційними характеристиками, економічністю і екологічністю.

Завдання дослідження. Для досягнення вищезазначеної мети були поставлені наступні завдання:

- провести огляд літератури щодо класифікації, механізму дії та зв'язку між структурою і фармакологічною активністю цефалоспоринових антибіотиків;
- розглянути дані щодо асортименту і основних лікарських форм цефалоспоринових антибіотиків;
- виходячи з фізико-хімічних властивостей цефалоспоринових антибіотиків, визначити можливі фізико-хімічні методи їх ідентифікації та кількісного визначення;
- підібрати оптимальні методики кількісного визначення одного з лікарських засобів даної фармакологічної групи, а саме - цефтриаксону натрію для проведення контролю якості готових лікарських засобах;
- порівняти валідаційні характеристики обраних методик, розрахувати їх економічність та показники екологічності;
- порівняти отримані результати та зробити висновок щодо оптимальних методик аналізу цефтриаксону натрію.

Об'єкт дослідження – звіти науковців щодо проведених досліджень з фармацевтичного аналізу цефтриаксону натрію в готових лікарських засобах, валідаційні характеристики запропонованих методик рідинної хроматографії.

Предмет дослідження. Провести порівняння методик контролю якості цефтриаксону натрію за валідаційними параметрами, зазначених в звітах, вартість аналізу розрахувати виходячи з використаних реактивів, методики та вартості проведення аналізу згідно даних ДЕЦ МОЗ України, екологічність методик визначити за допомогою програмного забезпечення «MoGAPI».

Методи дослідження – зведення даних звітів по методам аналізу цефтриаксону натрію, підхожих для завдань фармацевтичного аналізу, математичні розрахунки та статистична обробка отриманих результатів.

Практичне значення отриманих результатів. Отримані результати можуть бути використані при обґрунтуванні вибору методики визначення цефтриаксону натрію для ін'єкцій при введенні в монографію Державної Фармакопеї України та використанні в рутинному аналізі.

Апробація результатів дослідження і публікації. Результати роботи були представлені у формі усної доповіді на засіданні студентського наукового товариства кафедри фармацевтичної хімії в рамках XXXI Міжнародної науково-практичної конференції молодих вчених та студентів «Актуальні питання створення нових лікарських засобів». (НФаУ, м. Харків, 23-25 квітня 2025 р.).

Структура та обсяг кваліфікаційної роботи. Кваліфікаційна робота складається зі вступу, трьох розділів, загальних висновків, переліку використаних літературних джерел, викладена на 44 сторінках, проілюстрована 17 рисунками, 7 таблицями і містить 47 джерел літератури.

РОЗДІЛ 1
СУЧАСНІ АСПЕКТИ ЗАСТОСУВАННЯ АНТИБІОТИКІВ
ЦЕФАЛОСПОРИНОВОГО РЯДУ
(Огляд літератури)

1.1. Визначення і загальна класифікація антибіотиків

Антибіотики – це природні або синтетичні речовини, які здатні пригнічувати або знищувати бактерії, і використовуються в медицині для лікування бактеріальних інфекцій [1].

Велика кількість винайдених антибіотиків та різний вплив на організм людини стала причиною класифікації цих лікарських препаратів (ЛП) на групи. За характером впливу на бактеріальну клітину виділяють антибіотики які проявляють бактерицидну або бактеріостатичну дію. При застосування бактерицидних антибіотиків – бактерії гинуть, а при бактеріостатичних - затримується їх ріст і розмноження. Бактеріостатичні антибіотики можуть проявляти бактерицидну дію залежно від дози ЛП.

Класифікація за хімічною будовою широко використовується в медичній практиці (табл. 1.1).

Таблиця 1.1

Класифікація антибіотиків

Хімічна група	Підгрупа	Деякі представники
Бета-лактамі	Пеніциліни	Природні: бензилпеніциліну, феноксиметилпеніцилін Антистафілококові: оксацилін, клоксацилін, діклоксацилін (MRSA інфекції) Амінопеніциліни: амоксицилін, ампіцилін Антисиньогнійні: карбоксипеніциліни (карбеніцилін, тикарцилін), уреїдопеніциліни (піперацилін, азлоцилін) Захищені: ампіцилін+сульбактам; амоксицилін+клавуланова кислота; тикарцилін+клавуланова кислота; ампіцилін+оксацилін; амоксицилін+метронідазол; амоксицилін+клоксацилін [2,3]
	Цефалоспорини	I покоління: цефазолін, цефалексин, цефадроксил II покоління: цефуроксим, цефаклор III покоління: цефотаксим, цефтріаксон, цефтазидим, цефоперазон, цефоперазон+сульбактам, цефиксим, цефтибутен IV покоління: цефепім, цефпіром V покоління: цефтобіпрол, цефтаролін, цефтолозан [4,5]
	Карбапенеми	Іміпінем+циластатін, меропенем, доріпінем, ертапенем [6]
	Монобактами	Азтреонам, карумонам, тигемонам [7]

Продовж табл. 1.1.

Макроліди	14 - членні	Еритроміцин, олеандоміцин, рокситроміцин, кларитроміцин, флуоритроміцин
	15 – членні (азаліди)	Азитроміцин
	16 - членні	Мікадеміцин, спіраміцин, джозаміцин, міокаміцин, рокітаміцин
Аміноглікозиди	I покоління	Стрептоміцин, неоміцин, канаміцин
	II покоління	Гентаміцин, тобраміцин, нетилміцин
	III покоління	Амікацин
	IV покоління	Ізепаміцин
Фторхінолони	I покоління	Налідиксова кислота
	II покоління	Норфлоксацин, ломефлоксацин, еноксацин, офлоксацин, ципрофлоксацин
	III покоління	Левофлоксацин, спарфлоксацин, гатифлоксацин, моксифлоксацин
	IV покоління	Тровафлоксацин [8]
Лінкозаміди		Лінкоміцин, кліндаміцин
Тетрацикліни	Природні	Хлортетрациклін, окситетрациклін, тетрациклін
	Напівсинтетичні	Доксициклін, метациклін, міноциклін
Глікопептидні антибіотики		Ванкоміцин, тейкопланін, орітаванцин, телеванцин, далбаванцин [9,10]

1.2. Особливості будови і класифікація β -лактамних антибіотиків

Бета-лактамні антибіотики є одним з найбільш широко використовуваних класів антибіотиків. Їх об'єднує подібна хімічна будова, а саме – наявність β -лактамного кільця (Рис 1). Однакова хімічна структура відповідає за механізм дії спільний для всіх бета-лактамів – порушення синтезу клітинної стінки бактерій. Руйнування β -лактамного кільця за допомогою спеціальних бактеріальних ферментів β -лактамаз, призводить до руйнування молекули антибіотика і є причиною розвитку антибіотикорезистентності.

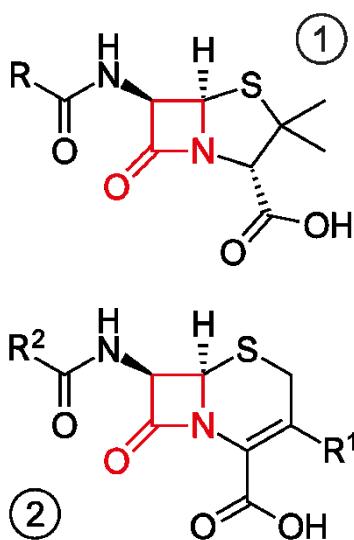


Рис 1.1. Загальна формула пеніцилінів (1) і цефалоспоринів (2), з виділеним червоним, β -лактамним кільцем.

З метою зниження резистентності бактерій до даної групи препаратів були введенні інгібітори бета-лактамаз. Ці хімічні сполуки інактивують β -лактамази бактерій, зберігаючи важливі структури антибіотика, завдяки яким він виявляє свою дію. Серед інгібіторів бета-лактамаз виділяють похідні пеніциланової кислоти (сульбактам, тазобактам), клавуланову кислоту, авібактам, ваборбактам і релебактам [11] (табл. 1.2).

1.3. Фармакологічна дія цефалоспоринових антибіотиків і їх хімічна будова

В основі хімічної структури цефалоспоринів лежить 7-аміноцефалоспорована кислота (7-АЦК), яка є ключовим компонентом всього класу. Цефалоспорини відрізняються від пеніцилінів більшою стійкістю до плазмідних β -лактамаз, проте руйнуються хромосомними лактамазами, які виробляються грам негативними Гр (-) бактеріями. Відкриття 7-АЦК дозволило синтезувати багато синтетичних похідних цієї групи антибіотиків.

До складу 7-АЦК входять:

- беталактамне кільце (В) – функціональна група, яка відповідає за антибактеріальну активність сполуки, шляхом інгібування синтезу бактеріальної клітинної стінки;
- дигідротіазинове кільце (А) – шестичленне кільце яке прикріплене до беталактамного, містить атом сірки і впливає на фізико-хімічні властивості антибіотика

Завдяки модифікаціям бічних ланцюгів (R) створювалися нові покоління цефалоспоринових антибіотиків. Модифікації в положенні 7 лактамного кільця впливають на спектр антибактеріальної активності, а в положенні 3 дигідротіазинового кільця визначають фармакокінетичні властивості та афінність зв'язування з рецепторами [12].

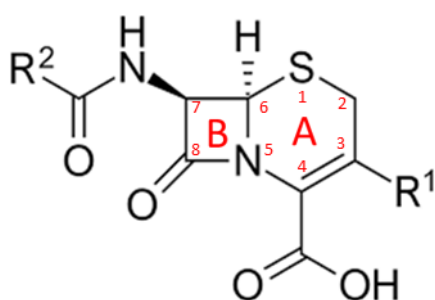


Рис 1.2. Загальна формула цефалоспоринів, де А – дигідротіазинове кільце, В – бета-лактамне

Цефалоспорини є антибіотиками широкого спектру дії, проявляють активність до більшості грампозитивних (Гр (+)) і грамотригативних (Гр (-))

мікроорганізмів (табл 1.2), вони отримали свою класифікацію відповідно до часу їхнього відкриття та антимікробних властивостей.

Антибіотики першого покоління були першими відкритими цефалоспориновими антибіотиками на фармацевтичному ринку. Вони найбільш ефективні проти грампозитивних коків, і використовуються в основному для лікування уражень шкіри та м'яких тканин, викликаних стафілококами і стрептококами. Крім того вони резистентні до стафілококових пеніциліназ, які інактивують більшість природних та синтетичних пеніцилінів. Додатково до першого покоління чутливі деякі грамнегативні мікроорганізми - *Proteus mirabilis*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia*, а також *Shigella*. Парентеральний цефазолін використовують при ендокардиті, а також перед оперативним втручанням на черевній порожнині [13]. Хімічна будова першого покоління доволі проста, вони мають метильну групу в положенні С-3 (цефалексин, цефрадин і цефадроксил) (рис 1.3). Активність антибіотиків з метильною групою в положенні С-3 обмежена, оскільки вони мають низьку спорідненість до пеніцилін зв'язуючого білка, завдяки якому білку бета лактамні антибіотики можуть взаємодіяти з клітинною стінкою бактерій. Усі цефалоспорини першого покоління мають α -аміногрупу в положенні С-7. Ця структура робить їх вразливими до гідролізу β -лактамазами [14].

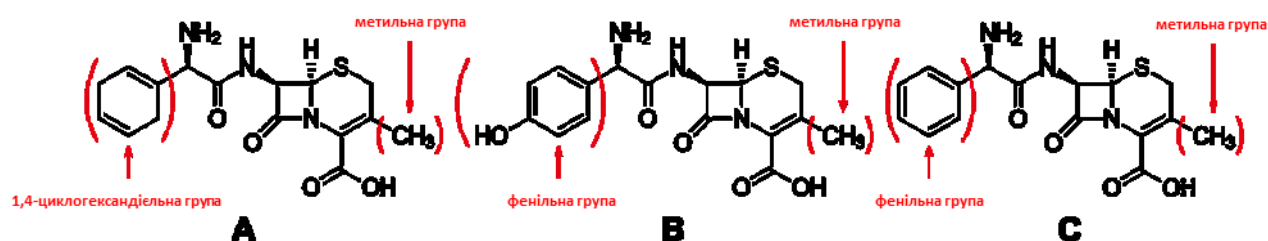


Рис 1.3 Хімічна будова першого покоління цефалоспоринових антибіотиків, де А – цефрадин, В – цефадроксил, С - цефалексин

Важливою структурною зміною в розробці цефалоспоринів другого покоління було введення α -імінометоксигрупи до бічного ланцюга С-7 (рис 1.4). Це допомогло підвищити стійкість антибіотиків до бактеріальних β -

лактамаз через стереохімічне блокування бета-лактамного кільця. Цефуроксим був першим антибіотиком, який містив цей замісник. Іншою важливою групою другого покоління стало амініотіазольне кільце в положенні С-3 (цефотіам), воно значно підвищило здатність антибіотиків до проникнення крізь бактеріальні мембрани [14].

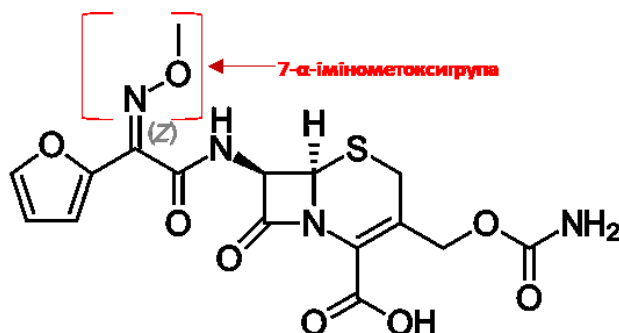


Рис. 1.4. Хімічна будова цефуроксиму, характерного представника II покоління цефалоспоринів

Цефалоспорины другого і третього покоління так само ефективні проти всіх мікроорганізмів, на які впливають антибіотики першого покоління, проте вже виявляють більшу активність проти Гр (-) бактерій, які виявляють стійкість до цефалоспоринів першого покоління. До другого покоління додатково чутливі троє грамнегативних організмів: *Haemophilus influenzae*, деякі *Enterobacter aerogenes* і деяких види *Neisseria*. Активність щодо грампозитивних організмів значно слабша ніж у першого покоління.

Третє покоління антибіотиків відіграє важливе значення в лікуванні інфекційних хвороб, вони мають ще ширший спектр дії ніж цефалоспорины I і II покоління, особливо проти Гр (-) мікроорганізмів: *Citrobacter*, *Serratia* і *Providencia*, а також проти бета-лактамазопродукуючих штамів *Haemophilus* і *Neisseria*. Цефтазидим і цефоперазон активно застосовують проти *Pseudomonas aeruginosa*. Важливою властивістю для більшості представників III покоління (крім цефоперазону і цефіксиму) є здатність проникати крізь гематоенцефалічний бар'єр. Більшість цефалоспоринів третього покоління мають амініотіазольну групу в положенні С-7. Різні групи знаходяться в

положенні 7- α , наприклад 7- α -іміногідрокси (цефдінір) та 7- α -імінометокси групи (цефіксим) [14]. Цефтріаксон є важливим ін'єкційним цефалоспорином серед третього покоління цефлоспоринів, а в його хімічній будові виділяють унікальний тіадіазиновий фрагмент (рис 1.5), який впливає на фармакокінетику антибіотику, забезпечуючи тривалий період напіввиведення і можливість одноразового введення на добу (антибіотик пролонгованої дії).

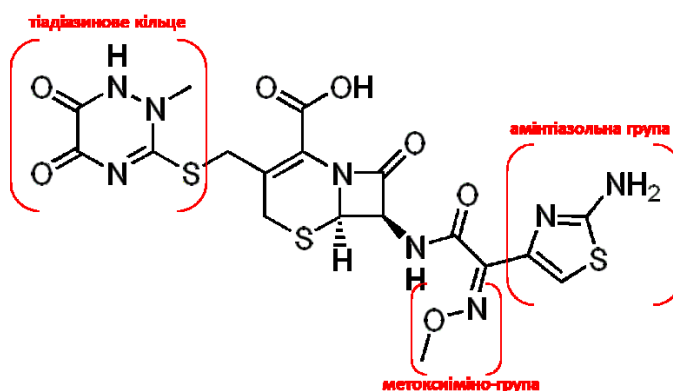


Рис. 1.5. Хімічна будова цефтріаксону, представника III покоління цефалоспоринів

Четверте покоління має ще ширший профіль застосування, і зберігає свою високу активність відносно грампозитивної і грамнегативної флори. Це покоління стійке до гідролізу хромосомними та плазмідними β -лактамазами, а також активне проти більшості штамів стафілококів, стрептококів, псевдомонад, нейсерії, клебсієл, шигел, сальмонел, синьогнійної палички, анаеробів (*Bacteroides*, *Clostridium perfringens*) та ін. Нечутливі до цефалоспоринів IV покоління є лістерії, *Bacteroides fragilis*, *Clostridium difficile*, фузобактерії, туберкульозна паличка [15, 16]. Бічний ланцюг C-7 четвертого покоління подібний до цефалоспоринів третього покоління, які зазвичай містять імінометоксиамінотіазольну групу. Через позитивно заряджений четвертинний азот у бічному ланцюзі C-3 цефалоспорини четвертого покоління можуть легше дифундувати через мембрану грамнегативних бактерій, ніж попередні цефалоспорини (рис 1.6). Вважається,

що позитивний заряд орієнтує молекулу препарату до входу поринового каналу [17].

П'яте покоління цефалоспоринів, інколи ще називають анти-MRSA, цефтаролін і цефтобіпрол активні проти метицилінрезистентного золотистого стафілокока та пеніцилінрезистентних стрептококів. Їх активність відносно інших бактерій аналогічна до попереднього покоління. Метицилінрезистентні стафілококи або стафілококи з множинною лікарською резистентністю стійкі

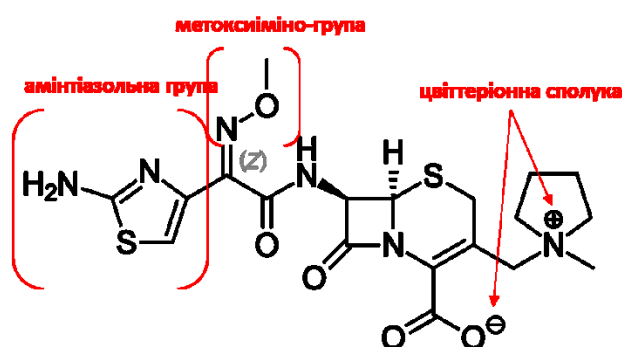


Рис 1.6. Хімічна будова цефепіму з основними замісниками

до більшості беталактамних антибіотиків – пеніцилінів, цефалоспоринів, карбапенемів. Вони найчастіше стають причиною внутрішньолікарняних (нозокоміальних) інфекцій, через відкриті рани і ослаблений імунітет стаціонарних хворих.

Цефтазолан застосовується виключно в комбінації з тазобактамом і використовується проти мультирезистентної *P. aeruginosa*, на відміну від анти-MRSA цефалоспоринів, які не чинять впливу на неї. Нечутливими до препарату є стафілококи і ентерококи. Цефтазолан/тазобактам застосовують для лікування госпітальних пневмоній, важких інфекціях черевної порожнини та важких інфекціях сечовивідних шляхів [18].

Цефтобіпрол є піролідинон-3-іліденметил цефемом. Бічний ланцюг C-3 був спеціально розроблений, щоб мати сильну афінність зв'язування з RBP2a та RBP2x. Відомо, що RBP2a забезпечує стійкість стафілококів до інших β-лактамних препаратів, а RBPx робить те саме для пневмококів. Цефтобіпрол також має бічний ланцюг, який складається з амінотіазольної групи та

іміногідрокси-групи в положенні С-7, який, як відомо, забезпечує хорошу стійкість до β -лактамази *S. aureus*. Разом ці активні групи роблять цефтобіпрол ефективним щодо MRSA [19] (табл.1.3).

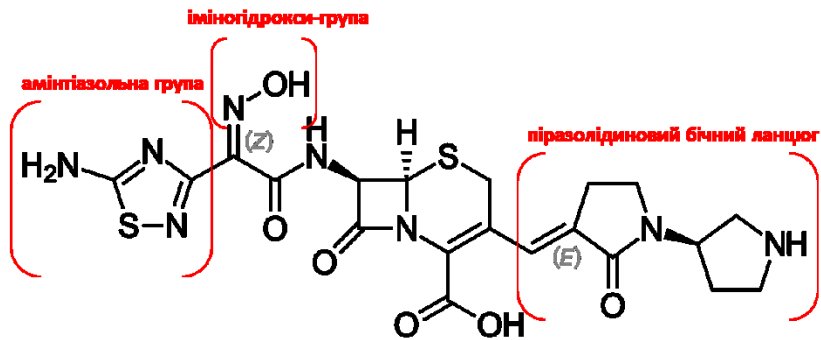


Рис 1.7. Хімічна будова цефтобіпролу з основними замісниками

Таблиця 1.3

Спектр активності різних поколінь цефалоспоринових антибіотиків [20]

Покоління цефалоспоринів	Активні проти:			Резистентні до:	
	Гр (+)	Гр(-)	MRSA	β -лактамази	ESBLs
1	++++	+	ні	+	ні
2	+++	++	ні	++	ні
3	++	+++	ні	++	ні
4	++++	++++	ні	+++	ні
5	++++	++++	так	+++	ні

Протипоказанням до застосування цефалоспоринів може бути гіперчутливість до беталактамних антибіотиків. Якщо пацієнти страждають від алергії на пеніцилін, вони матимуть перехресну реакцію на цефалоспоринони. Проте перехресна гіперчутливість найчастіше проявляється до цефалоспоринів I і II покоління, оскільки вони мають подібну хімічну будову до пеніцилінів, натомість III і пізніші покоління, або ті антибіотики, які мають замісники в R₁ (цефазолін) демонструють незначний ризик до розвитку перехресної алергії.

Цефалоспорины зазвичай добре переносяться і мають низьку токсичність. Найчастішими проявами побічної дії є нудота, діарея, відсутність апетиту та біль в животі. Реакція гіперчутливості до цефалоспоринів зустрічається рідко і частіше зустрічається у цефалоспоринів першого та другого покоління. Крім перехресної алергії до можливих побічних реакцій зараховують псевдомембранозний коліт (розлади кишківника спричинені знищенням його нормальної мікрофлори антибіотиками, внаслідок чого розмножуються патологічні бактерії, зокрема *Clostridioides difficile*), зміни крові, гемолітична анемія, дисульфірамоподібна реакція, гепато- та нефротоксичність [21].

Цефотетан і цефтріаксон найбільш ймовірно можуть викликати лікарсько-індуковану імунну гемолітичну анемію (ЛІГА). Її механізм полягає в зв'язуванні лікарського препарату з білками мембрани еритроцитів, формуючи новий антиген. Організм розпізнає ці еритроцити як чужорідні та виробляє антитіла до них, викликаючи гемоліз.

Деякі цефалоспорины, такі як цефтріаксон, цефотаксим, цефтазидим і цефепім, можуть ефективно проникати через гематоенцефалічний бар'єр, що робить їх цінними ліками для лікування менінгіту. Цефалоспорины також можуть проникати через плаценту та накопичуватися у високих концентраціях у синовіальній рідині. Цефтолозан/тазобактам, цефтобіпрол, цефтазидим/авібактам і цефтаролін мають відмінну здатність до проникнення в легені. Цефалоспорины переважно виводяться нирками, винятками є цефпірамід і цефоперазон, які виводяться з жовчю [22].

1.4. Лікарські форми та асортимент лікарських засобів цефалоспоринових антибіотиків на фармацевтичному ринку України

На фармацевтичному ринку існують пероральні та парентеральні форми цефалоспоринових антибіотиків (таблиця 1.2).

Таблиця 1.2

Класифікація цефалоспоринових антибіотиків

Шлях введення	Покоління антибіотика				
	I	II	III	IV	V
Перорально	Цефалексин Цефадроксил Цефрадин	Цефуроксим Цефаклор	Цефподоксим Цефтибутен Цефіксим		Цефтобіпрол
Парантерально	Цефазолін Цефалотин Цефалоридин Цефрадин	Цефуроксим Цефмандол Цефметазол Цефокситин	Цефтріаксон Цефотаксим Цефтазидим Цефперазон	Цефепім Цефпіром	Цефтобіпрол Цефтаролін Цефтазолан

Серед доступного асортименту на фармацевтичному ринку України представлені наступні цефалоспоринові антибіотики: ін'єкційний цефазолін та пероральний цефалексин першого покоління, цефуроксим другого, пероральні цефподоксим і цефіксим, парантеральні цефтріаксон, цефотаксим, цефтазидим і цефоперазон третього, цефепім четвертого покоління (рис. 1.8).

П'яте покоління відсутнє на фармацевтичному ринку України на теперішній час.

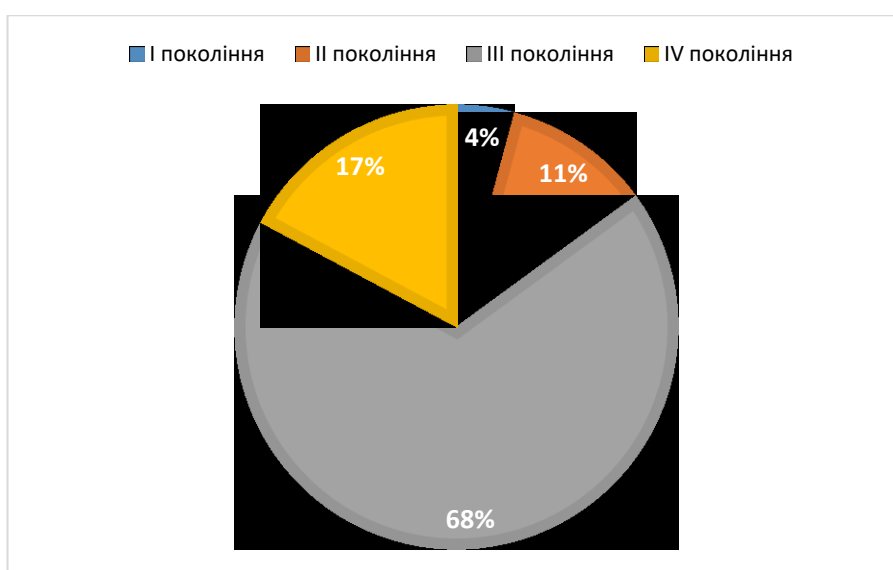


Рис. 1.8. Відсоток цефалоспоринових антибіотиків різних поколінь на фармацевтичному ринку України в 2025 році

Слід відзначити, що перше покоління цефалоспоринових антибіотиків представлене в більшості ін'єкційними формами цефазоліну у вигляді порошку для розчину для ін'єкцій та меншою кількістю перорального цефалексину у вигляді гранул або капсул (рис. 1.9).



Рис. 1.9 Відсотковий склад пероральних та ін'єкційних форм цефалоспоринових антибіотиків I покоління на фармацевтичному ринку України

Друге покоління антибіотиків представлене пероральними (таблетки покриті плівковою оболонкою) та ін'єкційними формами цефуроксиму (порошок для розчину для ін'єкцій) (рис. 1.10)

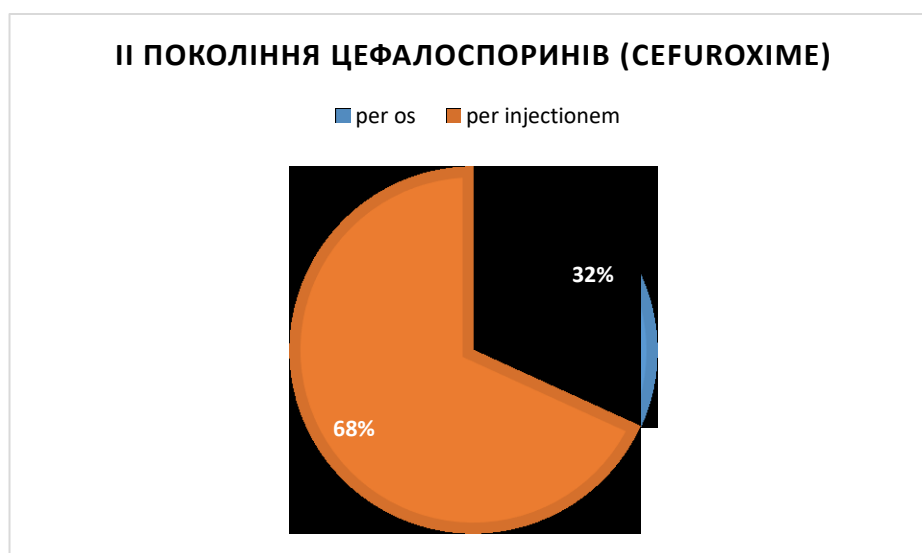


Рис. 1.10 Відсотковий склад пероральних та ін'єкційних форм цефалоспоринових антибіотиків II покоління на фармацевтичному ринку України

До третього покоління належать пероральні цефіксим (порошок для оральної суспензії, капсули і таблетки), цефподоксим (таблетки, порошок д/ор. сусп.) і парентеральні цефтазидим, цефтріаксон, цефотаксим і цефоперазон у вигляді порошку для р-ну д/ін. (рис. 1.11).

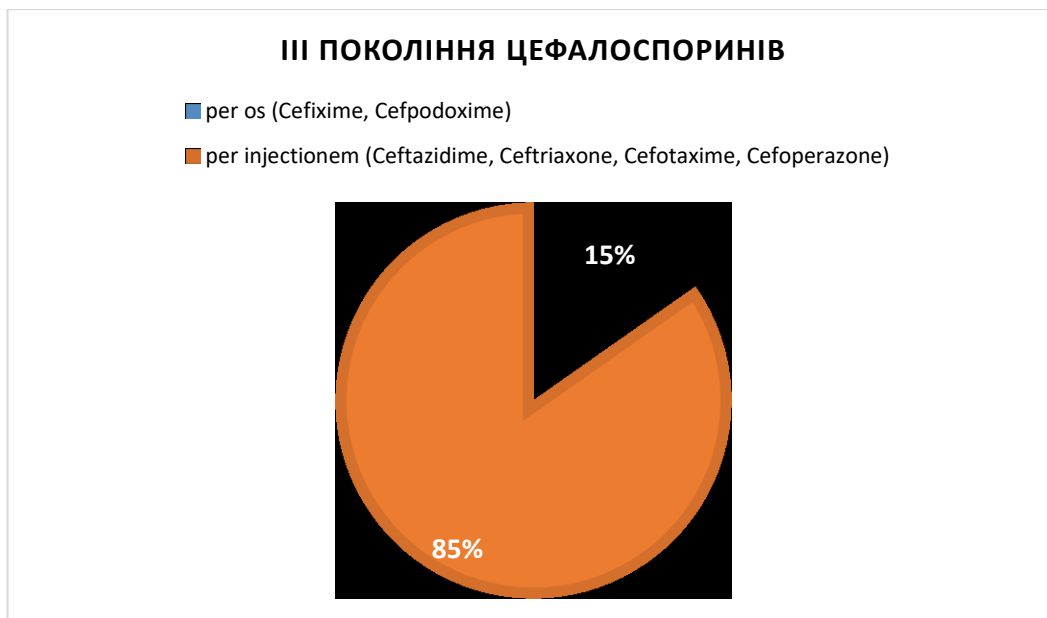


Рис. 1.11. Відсотковий склад пероральних та ін'єкційних форм цефалоспоринових антибіотиків III покоління на фармацевтичному ринку України

До четвертого покоління належить ін'єкційний цефепім у вигляді порошку для виготовлення розчину для ін'єкцій (рис. 1.12).



Рис. 1.12. Відсотковий склад ін'єкційних форм цефалоспоринових антибіотиків IV покоління на фармацевтичному ринку України

Висновки до розділу 1

1. Антибіотики є важливим класом хіміотерапевтичних препаратів, що використовуються для лікування бактеріальних інфекцій. Вони поділяються на кілька груп залежно від їхнього механізму дії, хімічної структури та спектра активності.

2. β -Лактамні антибіотики займають особливе місце в сучасній антибактеріальній терапії завдяки широкому спектру дії та високій ефективності. Основним структурним елементом цих препаратів є β -лактамне кільце, яке є ключовим для механізму їхньої дії, зумовленого інгібуванням синтезу пептидоглікану бактеріальної клітинної стінки.

3. Цефалоспоринові антибіотики є найважливішою підгрупою β -лактамів, що характеризуються високою стабільністю до β -лактамаз та широким спектром дії. Вони поділяються на п'ять поколінь, кожне з яких має свої особливості щодо активності проти Гр (+) і Гр (-) бактерій.

4. Фармакологічні властивості цефалоспоринів залежать від їхньої хімічної будови, включаючи варіації в бічних ланцюгах, які впливають на стійкість до β -лактамаз, біодоступність і тривалість дії.

5. Лікарські форми цефалоспоринів представлені переважно у вигляді порошків для ін'єкцій, капсул, таблеток, а також порошків для оральної суспензії. Асортимент цих препаратів на фармацевтичному ринку України складається з 4 поколінь і є досить широким, включаючи як оригінальні препарати, так і генерики, що забезпечує доступність терапії для різних груп пацієнтів.

РОЗДІЛ 2

ФАРМАКОПЕЙНІ МЕТОДИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ ЦЕФАЛОСПОРИНОВИХ АНТИБІОТИКІВ

Державна Фармакопея України (ДФУ) пропонує ідентифікувати фармацевтичні субстанції бета-лактамних антибіотиків цефалоспоринового ряду абсорбційною спектрофотометрією в інфрачервоній ділянці, а для кількісного визначення використовувати рідинну хроматографію.

2.1. Застосування абсорбційної спектрофотометрії в інфрачервоній ділянці в аналізі цефалоспоринових антибіотиків

Абсорбційна спектрофотометрія в інфрачервоній ділянці (ІЧ-спектрофотометрія) – фізико-хімічний метод аналізу, який використовується для ідентифікації речовин. Цим методом можна досліджувати газоподібні, рідкі та тверді речовини. Метод заснований на поглинанні ІЧ випромінювання молекулами, яке змушує їх коливатися в певних частотах. Ці коливання залежать від типу хімічного зв'язку та функціональних груп молекул. ІЧ спектр охоплює область від $\sim 0,78$ до 1000 мкм довжини хвиль, поділяючись на 3 діапазони – ближній (від 0.8 мкм до 2.5 мкм), середній (від 2.5 мкм до 25 мкм) та дальній (25 мкм до 1000 мкм). Приладами для даного методу є ІЧ-спектрометри, які працюють в різних діапазонах інфрачервоного випромінювання [23, 24].

Принцип ІЧ випромінювання ґрунтується на пропусканні пучка світла крізь досліджуваний зразок та вимірювання поглинутого вихідного пучка за різних довжин хвиль. Вимірюють спектр випробуваної субстанції і записують його у діапазоні між 4000 см^{-1} до 400 см^{-1} . Ідентифікують шляхом порівняння спектру досліджуваної субстанції з одержаним спектром стандартного фармакопейного зразка (ФСЗ) або з фармакопейним еталонним спектром [25].

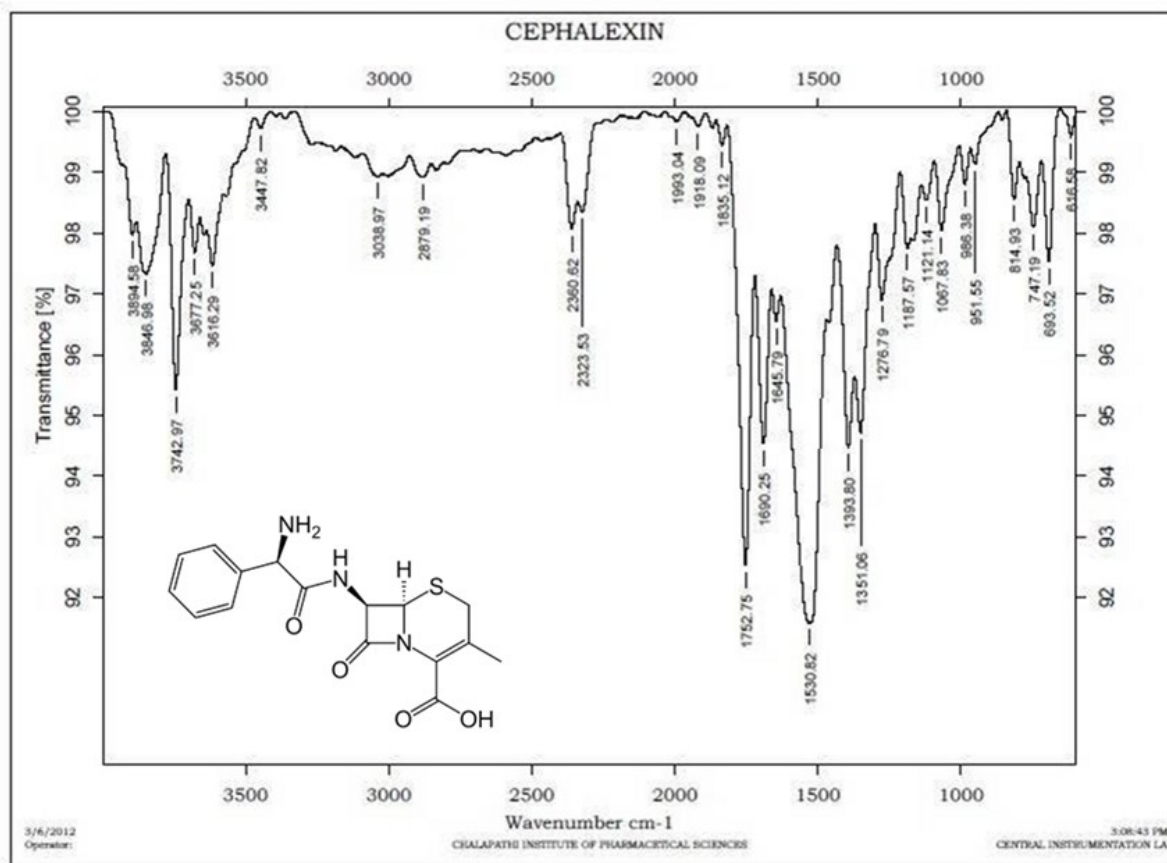


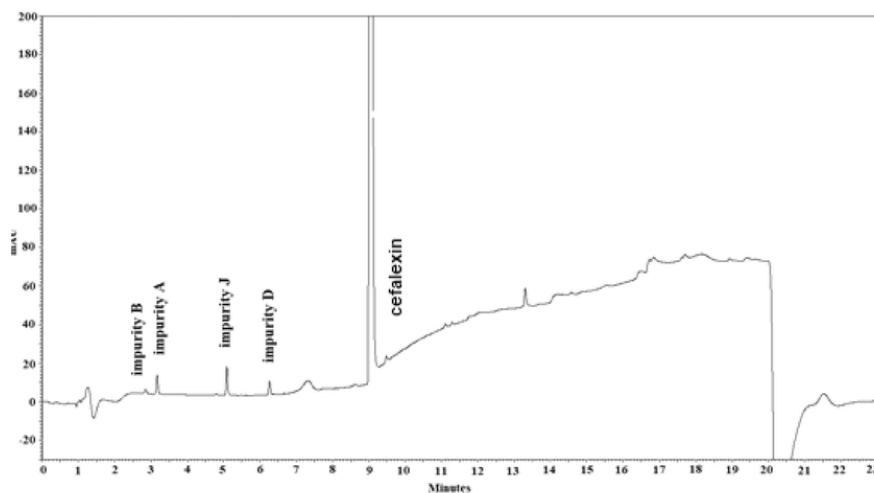
Рис 2.1. ІЧ-спектр субстанції цефалексину [26]

2.2. Рідинна хроматографія та її використання для аналізу цефалоспоринових антибіотиків

Рідинна хроматографія (зокрема високоефективна рідинна хроматографія ВЕРХ) є одним з найточніших і найпоширеніших методів ідентифікації, випробувань на чистоту та кількісного визначення в фармацевтичному аналізі. Принцип дії хроматографії, зокрема рідинної хроматографії, ґрунтується на розподілі компонентів суміші між рухомою і нерухомою фазами. У рідинній хроматографії рухомою фазою виступає рідина, яка є елюентом для аналізованих сполук. Елюент переносить аналіти через матеріал колонки, який заповнений сорбентом і є нерухомою фазою. Речовини розділяються на колонці за часом утримання (R_t) залежно від їх коефіцієнту розподілу та хімічних властивостей, покидаючи колонку фіксуються детектором за різних довжин хвиль, а дані виводяться у вигляді хроматограми на комп'ютер [27, 28].

У ДФУ випробуваний розчин антибіотику при хроматографічному дослідженні порівнюють з розчинами порівняння А і Б. Ці розчини служать еталонними зразками для порівняння досліджуваних речовин. Розчин порівняння А містить стандартний зразок активного компонента у відомій концентрації. Розчин порівняння Б – суміш домішок або продуктів розкладу у концентраціях, які відповідають гранично допустимим значенням і використовується для контролю домішок у досліджуваному зразку.

Хроматографічний аналіз використовується для ідентифікації в ДФУ, оскільки дозволяє підтвердити ідентичність досліджуваних зразків з еталонами. Отриманий пік досліджуваної речовини на хроматограмі мусить відповідати пікові еталонному розчину А за часом утримання (однаковий час утримання досліджуваного і еталонного зразків) або спектральними характеристиками (видимість у вибраних довжинах хвилі). Для кількісного аналізу вимірюється площа піка активної речовини і порівнюється з площею піку отриманого з еталонного розчину А і обчислюється концентрація. Порівнюючи інтенсивність піків досліджуваної речовини з інтенсивністю піків розчину Б можна оцінити вміст домішок у досліджуваному антибіотику.



a

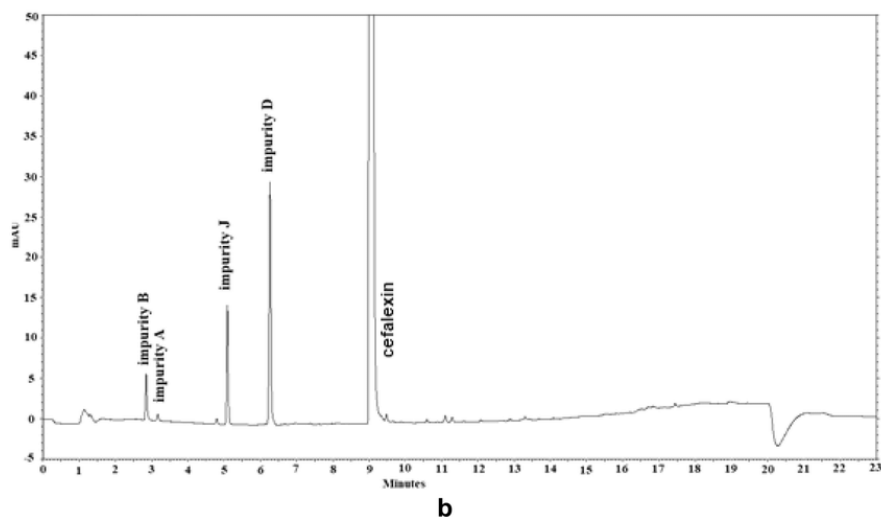


Рис 2.2. Типова хроматограма цефалексину з відомими домішками при 220 нм (а) і 258 нм (б) зроблена за допомогою Agilent 1290 Infinity UHPLC з PDA детектором [29]

2.3. Методи визначення готових лікарських засобів з групи цефалоспоринів

Таблиця 2.1

Методи визначення готових лікарських форм за ДФУ 2.3

Діюча речовина	Пок.	Форма готового лікарського засобу	Метод ідентифікації	Кількісне визначення
Цефадроксил	І	Оральна суспензія	ТШХ	Рідинна хроматографія
		Капсули	ТШХ	Рідинна хроматографія
Цефазолін	І	Розчин для ін'єкцій	- ТШХ - Реакція на Na^+	Рідинна хроматографія
Цефалексин	І	Оральна суспензія	ТШХ	Рідинна хроматографія

Продовж. табл. 2.1

		Капсули	ТШХ	Рідинна хроматографія
		Таблетки	ТШХ	Рідинна хроматографія
Цефаклор	I	Оральна суспензія	Абсорбційна спектрофотометрія в УФ ділянці	Рідинна хроматографія
		Капсули	Абсорбційна спектрофотометрія в УФ ділянці	Рідинна хроматографія
Цефокситин	II	Розчин для ін'єкцій	- ТШХ - Реакція на Na^+	Рідинна хроматографія
Цефуроксим	II	Таблетки	Абсорбційна спектрофотометрія в ІФ області	Рідинна хроматографія
Цефіксим	III	Оральна суспензія	Рідинна хроматографія	Рідинна хроматографія
		Таблетки	Рідинна хроматографія	Рідинна хроматографія
Цефтриаксон	III	Розчин для ін'єкцій	- Абсорбційна спектрофотометрія в ІЧ області - Реакція на Na^+	Рідинна хроматографія
Цефотаксим	III	Розчин для ін'єкцій	- Абсорбційна спектрофотометрія в ІЧ області - Реакція на Na^+	Рідинна хроматографія

2.4. Тонкошарова хроматографія

Тонкошарова хроматографія (ТШХ) – це метод розділення речовин, заснований на різній швидкості їх переміщення через нерухому фазу під дією рухомої фази. Нерухомою фазою в ТШХ виступає тонкий шар сорбенту (силікагель або оксид алюмінію), яким покрита алюмінієва, скляна або пластикова пластинка. Рухомою фазою або елюентом є суміш розчинників, які переносять досліджувані речовини через шар сорбенту. Зразок наноситься точкою або смугою біля основи пластинки. Ключовим фактором в ТШХ є фактор утримування (R_f):

$$R_f = \frac{\text{відстань від старту до центру плями}}{\text{відстань від старту до фронту розчинника}}$$

Ідентифікація цефалоспоринів за допомогою ТШХ відбувається шляхом порівняння флуоресценції двох плям – випробуваної субстанції і розчину порівняння (стандартний зразок), а також вимірювання і порівняння їх значення R_f . Виявляють плями антибіотиків при УФ-світлі за довжини хвилі 254 нм [30].

Так само як і при РХ в ТШХ використовуються розчин порівняння А і Б. Зразок А містить еталонну речовину, з відомим значенням R_f і використовується для ідентифікації основної речовини. Розчин Б може містити відомі домішки, які потенційно можуть знаходитися у випробуваному зразку і служить для контролю чистоти препарату. В інтерпретації результатів пляма зразка має збігатися за R_f та інтенсивністю з розчином порівняння А, а якщо зразок містить домішки, вони порівнюються з плямами розчину порівняння Б [31].

Вдосконаленою версією ТШХ є високоефективна тонкошарова хроматографія (ВЕТШХ) з англ. HPTLC (High-Performance Thin-Layer Chromatography). ВЕТШХ забезпечує вищу точність, чутливість та швидкість аналізу, завдяки поєднанню звичайного TLC з автоматизованими технологіями. Особливостями HPTLC є використання високоякісних пластинок, автоматичне нанесення зразків, розвиток пластинок і візуалізація,

можливість одночасного аналізу великої кількості речовин і комп'ютерний контроль [32].

2.5. Абсорбційна спектрофотометрія в ультрафіолетовій і видимій ділянках

Абсорбційна спектрофотометрія в УФ- і видимій ділянках (УФ-ВІД спектрофотометрія) – це аналітичний метод, заснований на вимірюванні поглинання світла молекулами речовини в діапазоні ультрафіолетового спектра (200-400 нм). Цей метод використовують для ідентифікації, кількісного визначення та вивчення будови і властивостей речовин. Спектроскопією в УФ області досліджують речовини, які мають здатність поглинати УФ випромінювання (складаються з хромофорних груп – частини молекули які містять спряжені π -зв'язки або атоми, здатні до електронного збудження при дії УФ-світла): органічні сполуки, неорганічні сполуки, біологічно активні сполуки (нуклеїнові кислоти, білки, лікарські препарати), полімери, природні речовини [33].

Прилад, який служить для даного методу спектрофотометр, який оснащений джерелом світла (для УФ випромінювання – дейтерієва лампа, для видимого – вольфрамова або світлодіоди або комбіновані для роботи в декількох областях), монохроматором для виділення потрібної довжини хвилі, який складається з дифракційної ґратки або призми, кюветного відсіку з кюветами для зразків, детектора для фіксування інтенсивності світла після проходження через зразок і комп'ютера для обробки даних:

При підготовці зразка використовуються прозорі розчинники, які не поглинають світла в досліджуваній області (ацетонітрил, вода, метанол, етанол тощо). А при вимірюванні – кварцеві кювети з довжиною оптичного шляху 1 см. Обробляючи результати, розраховують концентрацію речовини за формулою закону Ламберта-Бера:

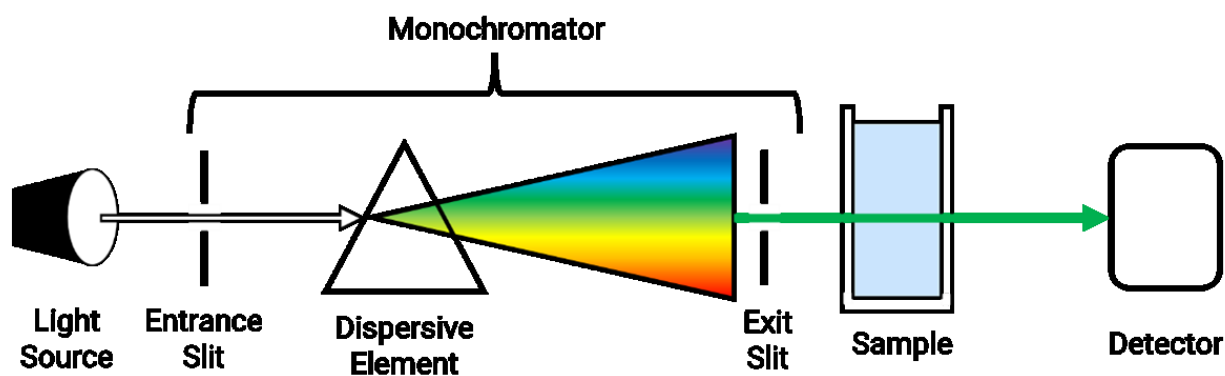


Рис 2.3. Основні компоненти, з яких складається однопроменевий спектрофотометр для роботи в УФ і видимому спектрі [34]

$$A = \varepsilon \cdot c \cdot l$$

де: A — виміряна оптична густина (абсорбція);

ε — молярний коефіцієнт поглинання (л/(моль·см)), який залежить від речовини і довжини хвилі;

c — концентрація речовини (моль/л);

l — довжина оптичного шляху (довжина кювети, зазвичай 1 см), або за допомогою калібрувальної кривої.

Під час ідентифікації лікарських препаратів порівнюють максимум поглинання ($\lambda_{\max}$) випробуваного розчину і розчину порівняння. У зазначеній області має спостерігатися збіг положень максимумів, мінімумів, плечей і точок перегину. Максимуми спектру — це піки спектру, які відповідають максимальній абсорбції (значенням A), за мінімумами вважаються точки між піками, де абсорбція є найменшою, плечі — це плавні підйоми або спади перед досягненням максимуму чи після нього, точками перегину можуть бути місця на спектрі, де змінюється характер кривизни, від плавного зростання до спаду. Ці точки є ключовими при розпізнаванні речовини [31].

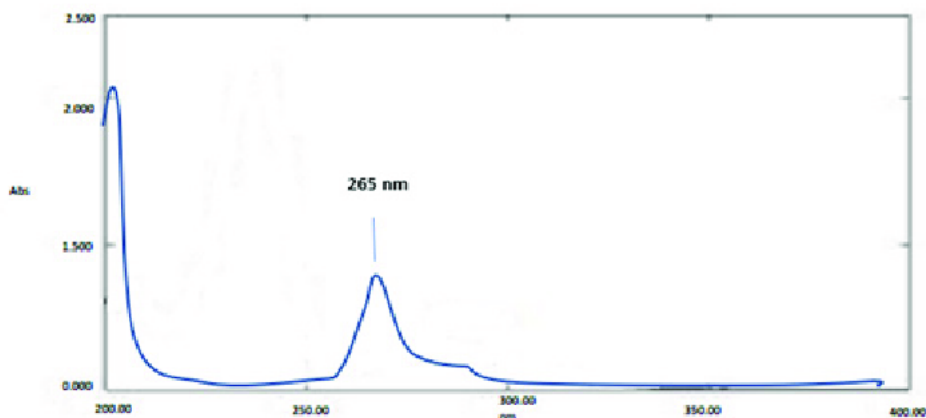


Рис 2.4. Стандартний УФ-спектр поглинання цефаклору [35]

Висновки до розділу 2

1. Абсорбційна спектрофотометрія в інфрачервоній ділянці дозволяє підтвердити тотожність цефалоспоринів шляхом аналізу характеристичних коливань функціональних груп у структурі молекули.
2. Високоєфективна рідинна хроматографія є одним із найчутливіших і найточніших методів, який широко застосовується для визначення кількісного вмісту цефалоспоринових антибіотиків у субстанціях та готових лікарських формах.
3. Тонкошарова хроматографія використовується для експрес-аналізу, ідентифікації домішок та контролю складу лікарських форм. Метод є доступним, швидким та ефективним для попереднього аналізу.
4. Абсорбційна спектрофотометрія в ультрафіолетовій та видимій ділянках є ключовим методом для кількісного визначення цефалоспоринів у лікарських формах, що ґрунтується на здатності цих сполук поглинати світло у відповідних діапазонах.
5. Отримані результати аналізу фармакопейних методів підтверджують їх відповідність міжнародним стандартам, а їх поєднання дозволяє отримати високоточні та відтворювані результати, забезпечуючи належний контроль якості цефалоспоринових антибіотиків. Застосування

сучасних аналітичних методів у контролі якості цефалоспоринових антибіотиків сприяє підвищенню ефективності їх терапії та безпеки для пацієнтів.

РОЗДІЛ 3

ПІДБІР ОПТИМАЛЬНИХ МЕТОДІВ ВИЗНАЧЕННЯ ЦЕФТРИАКСОНУ НАТРІЮ В ПОРОШКУ ДЛЯ ІН'ЄКЦІЙ

Об'єктом дослідження обраний цефтриаксон натрію – парентеральний цефалоспориновий антибіотик III покоління з пролонгованою дією, володіє широким спектром фармакологічної дії та на ринку України представлений 29 лікарськими засобами різних виробників (Україна, Велика Британія, Об'єднані Арабські Емірати, Іран, Індія тощо) здебільшого у вигляді порошку для приготування розчинів для ін'єкцій [36].

3.1. Порівняння валідаційних характеристик описаних методик рідинної хроматографії

Вивчали валідаційні характеристики методик рідинної хроматографії, наведених нижче.

Фармакопейна методика кількісного визначення цефтриаксону для ін'єкцій [37]

Рідинна хроматографія (2.2.29).

Визначають масу вмісту 10 контейнерів (2.9.5) і змішують вміст цих 10 контейнерів.

Випробовуваний розчин. Точну наважку змішаного вмісту 10 контейнерів розчиняють у рухомій фазі до одержання розчину з концентрацією 0.3 мг/мл цефтриаксону.

Розчин порівняння (a). Готують розчин *ФСЗ цефтриаксону натрію* або *ceftriaxone sodium BPCRS* у рухомій фазі з концентрацією 0.3 мг/мл цефтриаксону.

Розчин порівняння (b). Готують розчин, що містить *ФСЗ цефтриаксону натрію* або *ceftriaxone sodium BPCRS* і *ФСЗ цефтриаксону домішки А* або *ceftriaxone sodium E-isomer BPCRS*, у рухомій фазі з концентрацією

цефтриаксону натрію і домішки А або цефтриаксону натрію Е-ізомеру по 0.05 мг/мл кожного.

Розчин порівняння (с). 1 мл випробовуваного розчину доводять рухомою фазою до об'єму 100.0 мл.

Колонка:

— *розмір:* 0.25 м х 4.6 мм;

— *нерухома фаза:* силікагель для хроматографії, октадецилсилільний, ендкепований Р (5 мкм).

Рухома фаза: 2.0 г тетрадециламонію броміду Р і 2.0 г тетрагептиламонію броміду Р розчиняють у суміші 440 мл води Р, 55 мл 0.067М фосфатного буферного розчину рН 7.0 Р, 5.0 мл цитратного буферного розчину рН 5.0 і 500 мл ацетонітрилу Р.

Цитратний буферний розчин готують таким чином: 20.17 г лимонної кислоти Р розчиняють у 800 мл води Р, доводять до рН 5.0 натрію гідроксиду розчином концентрованим РІ доводять об'єм розчину водою Р до 1000.0 мл.

Швидкість рухомої фази: 1.5 мл/хв.

Детектування: спектрофотометрично за довжини хвилі 254 нм.

Інжекції. 20 мкл; випробовуваний розчин і розчини порівняння (а), (б).

Придатність хроматографічної системи', розчин порівняння (б):

— *ступінь розділення:* не менше 3.0 між піками цефтриаксону та домішки А або цефтриаксону натрію Е-ізомеру.

Розраховують вміст $C_{18}H_{18}N_8O_7S_3$ в контейнері, у перерахунку на середню масу вмісту контейнера, виходячи із заявленого вмісту $C_{18}H_{18}N_8O_7S_3$ у ФСЗ цефтриаксону натрію або ceftriaxone sodium BPCRS.

Методика 1 [38]

HPLC WATERS-2695 з подвійним детектором UV-VIS детектор абсорбції WATERS-2487. Колонка Phenomenex C-18 (250 мм × 4,6 мм з розміром частинок 5,0 мкм) використовували при температурі навколишнього середовища.

Рухома фаза, що складається з ацетонітрилу до води (70:30, об./об.). рН рухомої фази 6,5 доводили 0,01% триетиламіну. Швидкість потоку підтримували на рівні 1 мл/хв, і колонку встановлювали при температурі навколишнього середовища. Елюенти контролювали за допомогою детектора PDA при 270,0 нм. Задовільне розділення та пікова симетрія для препарату були отримані за вищевказаних хроматографічних умов. Було оптимізовано метод ВЕРХ для цефтріаксону натрію для різних параметрів: рухомої фази та рН як двох змінних на трьох різних рівнях за допомогою центрального композитного дизайну.

Стандартний базовий розчин 1000 мкг/мл готували розчиненням 25 мг цефтріаксону натрію в 25 мл метанолу. Основний розчин додатково розбавляли до рівня 100 мкг/мл. Розчин 10 мкг/мл готували шляхом розведення 1 мл основного розчину до 10 мл метанолом.

Методика 2 [39]

Хроматографічна система, яка використовується для розробки та валідації методу, включає насос LC-P100, програмований УФ-детектор LC-UV100 із змінною довжиною хвилі та системний контролер SCL20A на CYBERLAB HPLC. Використовували інжектор Rheodyne 7725i, обладнаний петлею об'ємом 20 мкл, і дані записували та оцінювали за допомогою програмного забезпечення LC solution версії 5.0. Розділення проводили на Flowrosil C18 (250 × 4,6 мм внутрішній діаметр, 5 мкм) при температурі навколишнього середовища. Встановлено, що суміш метанол: вода: ортофосфорна кислота у співвідношенні 75:24,5:0,5 об/об є ідеальною рухомою фазою для ідеального хроматографічного аналізу цефтріаксону натрію. Суміш розчинників фільтрували через мембранний фільтр 0,22 мкм і перед використанням обробляли ультразвуком. Швидкість рухомої фази 1,0 мл/хв. Об'єм інжекції в колонці підтримується на рівні 20 мкл при кімнатній температурі. Колонку врівноважували прокачуванням рухомої фази через колонку протягом принаймні 20 хв перед введенням розчину лікарського

засобу. Детектування контролювали при 240 нм. Час роботи встановлюється 10 хвилин. Оптимізовані хроматографічні умови показані в таблиці 3.1.

Таблиця 3.1

Умови проведення кількісного визначення цефтриаксону натрію методом рідинної хроматографії з використанням різних методик

Параметри	Умови проведення методики	
	Методика 1	Методика 2
Нерухома фаза (колонка)	Phenomenex C-18 (250 мм × 4,6 мм, 5,0 мкм)	Flowrosil C18 (250 × 4.6 мм 5мкм)
Рухома фаза	Ацетонітрил : вода (70:30, об./об.), доведена 0.01% триетиламіном до рН 6.5	Метанол : вода : ортофосфорна кислота (75 : 24.5 : 0.5 об./об.)
Швидкість потоку (мл/хв)	1,0 мл/хв	1,0 мл/хв
Час виконання (хв)	15 хв	10 хв + прокачування колонки 20 хв
Температура колонки (°C)	Навколишнє середовище	Навколишнє середовище
Об'єм введеної проби (мкл)	20	20
Довжина хвилі виявлення (нм)	270	240
Час утримання (хв)	4.15	3.78

Порівняння валідаційних характеристик методик рідинної хроматографії, що запропоновані в наукових джерелах, з методикою, наведеною у Державною Фармакопеею України (ДФУ), проводили, враховуючі, що фармакопейна методика валідована і відповідає вимогам ІСН [40].

Порівнювали такі валідаційні характеристики, як критерій прийнятності лінійної залежності – коефіцієнт кореляції (R_c), залишкове стандартне відхилення (SD_0), систематична похибка – вільний член прямої на осі ординат (a). межа виявлення і межа кількісного визначення.

Специфічність. Ця характеристика демонструє вибірковість визначення речовини в присутності допоміжних речовин лікарського засобу. Отримані результати наведених у літературі методик (табл. 3.2) показали відсутність впливу допоміжних речовин на визначення цефтриаксону натрію і доводять їх специфічність.

Точність. Точність аналітичної методики виражає ступінь близькості (або ступінь розкиду) результатів для серії вимірів, виконаних за даною методикою на різних пробах одного й того ж однорідного зразка. Вона може розглядатися на трьох рівнях: збіжність, внутрішньолaborаторна точність і відтворюваність. Точність аналітичної методики зазвичай характеризується відхиленням, стандартним відхиленням або відносним стандартним відхиленням для серії вимірювань [41]. Результати визначення відносного стандартного відхилення *RSD* наведені в таблиці 3.3.

Лінійність, межа виявлення і межа кількісного визначення. Ці значення є важливими при виборі методики для завдань фармацевтичного аналізу. Метрологічні характеристики лінійної залежності для описаних в літературі методиках та результати визначення межі виявлення та кількісного визначення наведені в таблиці 3.2.

Таблиця 3.2

**Порівняння валідаційних характеристик досліджуваних методик
визначення цефтриаксону натрію**

Методика	Лінійність, мкг/мл	Коефіцієнт кореляції, R_c	Відносне стандартне відхилення, %	Межа виявлення, мкг/мл	Межа кількісного визначення, мкг/мл
1	10-120	0,9955	0,820	0,22	0,67
2	10-50	0,9990	0,655	0,054	0,16

Таким чином, запропоновані методики за валідаційними характеристиками відповідають усім вимогам ДФУ і ІСН та можуть бути

запроваджені для проведення кількісного визначення цефтриаксону натрію в лікарських засобах.

3.2. Розрахунок вартості проведення аналізу за запропонованими методиками

Згідно з Наказом МОЗ України від 09.12.2024 р. № 245 «Про затвердження вартості послуг», вартість одного лабораторного аналізу лікарських засобів методом рідинної хроматографії складає 7848,0 грн. Це значення враховує комплекс витрат, пов'язаних із використанням обладнання, витратних матеріалів, реактивів, а також оплату праці персоналу.

Для уточнення економічної доцільності застосування альтернативних методик було проаналізовано склад витрат, притаманний кожній з них. Основними чинниками, що впливають на вартість аналізу, є:

- склад рухомої фази (дороговартісні органічні розчинники, наприклад, ацетонітрил, метанол);
- кількість використаних реагентів (в тому числі буферні розчини);
- частота калібрувань та кількість ін'єкцій (які впливають на витрати реактивів та час роботи приладу);
- потреба у фільтрації розчинів, що потребує додаткових матеріалів;
- час проведення аналізу, що визначає загальну продуктивність приладу.

Порівняльний аналіз показав, що:

- *Фармакопейна методика*, хоч і стандартизована, є середньою за собівартістю, враховуючи складну композицію рухомої фази з декількох буферів та використання специфічних солей (тетрабутіламонію бромід, тетрагептіламонію бромід). Її повна собівартість становить орієнтовно 7200–7500 грн за аналіз.

- *Методика 1* (з використанням ацетонітрилу) є потенційно дорожчою через високу вартість ацетонітрилу, особливо за умов коливання валютного

курсу. За попередніми підрахунками, її собівартість коливається в межах 7600–8000 грн.

- *Методика 2* (на основі метанолу та ортофосфорної кислоти) є економічно вигіднішою за рахунок простішого складу рухомої фази. Вартість аналізу за цією методикою може становити близько 6800–7100 грн.

Таким чином, хоча всі розглянуті методики демонструють задовільні аналітичні параметри, саме *Методика 2* є найбільш економічно обґрунтованою при масовому впровадженні в лабораторну практику, тоді як фармакопейна методика є оптимальною з позиції нормативної відповідності.

3.3. Екологічна оцінка запропонованих методик аналізу цефтриаксону натрію

Зелена аналітична хімія стала критично важливим елементом у сприянні сталому розвитку в лабораторіях контролю якості та аналітичних лабораторіях. 12 принципів зеленої аналітичної хімії, що походять з принципів зеленої хімії, забезпечують основу для розробки екологічно чистих аналітичних процесів [42].

Такі зусилля зазвичай передбачають використання чистіших, менш шкідливих розчинників або повну відмову від розчинників, мінімізацію споживання реагентів, зменшення використання енергії, уникнення дериватизації та обмеження утворення відходів. Розробка та впровадження зелених метрик має вирішальне значення для порівняння сталості існуючих та нових аналітичних методів.

Наразі для оцінки впливу аналітичних процесів на навколишнє середовище використовується кілька інструментів. Ці метрики включають аналітичний Eco-Scale, індекс зелених аналітичних процедур (GAPI) [45] та метрику AGREE [46], які широко використовуються поряд з іншими інструментами та модифікаціями, такими як ComplexGAPI та AGREEprep, завдяки їх простоті використання та застосовності до широкого спектру

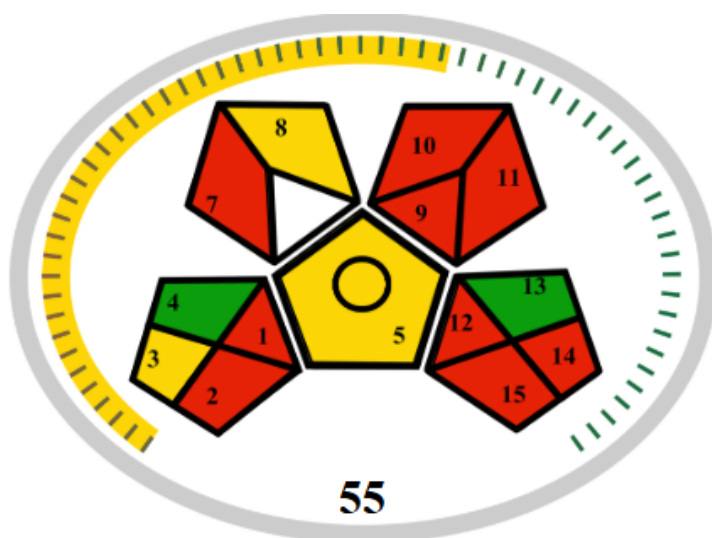
аналітичних методів, включаючи УФ-видиму спектрофотометрію, спектрофлуорометрію, хроматографію та інші.

Індекс зеленої аналітичної процедури (GAPI) оцінює екологічні небезпеки всієї аналітичної методології, використовуючи п'ять кольорових пентаграм для різних етапів аналітичної методології. Кожна пентаграма оцінює конкретні аспекти методології: відбір проб, тип методу, підготовку зразків, використані розчинники/реагенти та споживання енергії. Інструмент GAPI забезпечує швидкий та оперативний огляд екологічності різних етапів аналітичної методології, що робить його корисним для оцінки та оптимізації аналітичних методологій для зменшення впливу на навколишнє середовище.

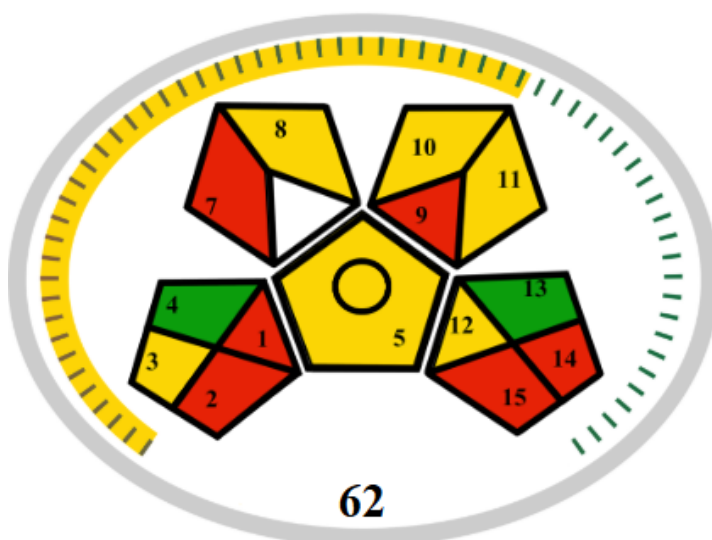
Для оцінки екологічності методу було розроблено та застосовано інструмент і програмне забезпечення MoGAPI. Інструмент не лише надає характерні червоні/зелені/жовті піктограми загальноновживаного інструменту GAPI, але й забезпечує загальну оцінку екологічності методу шляхом обчислення загального балу. Бал розраховується на основі кількості доступних опцій у кожному пункті [47].

Запропонована та розроблена еволюція в поточній шкалі GAPI не тільки дозволяє порівнювати методики, але й допомагає класифікувати методики на «відмінно екологічно чисті» (≥ 75), «прийнятно екологічно чисті» (50–74) та «недостатньо екологічно чисті» (< 50), відповідно до балу, отриманій в аналітичній еко-шкалі.

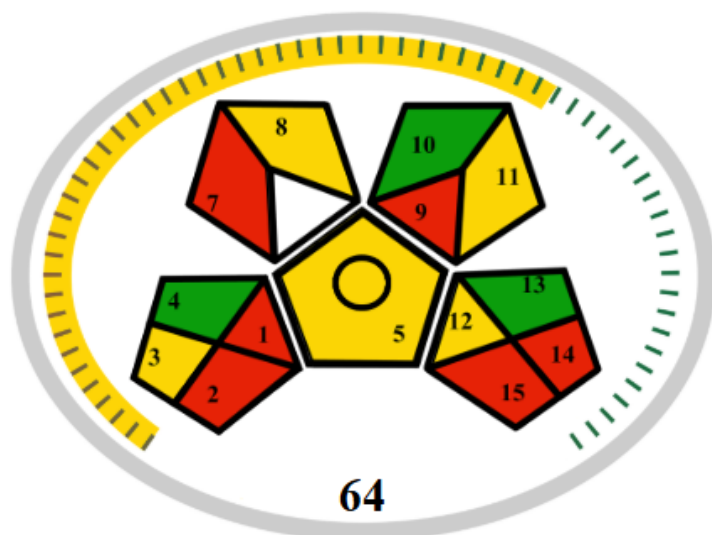
На рис. 3.1 наведено графічне представлення звіту MoGAPI та еко-шкала для кожної розглянутої методики.



а



б



в

Рис. 3.1. Аналітична шкала MoGAPI дослідження цефтриаксону натрію методами рідинної хроматографії за методиками ДФУ (а), 1 (б) і 2 (в)

Як можна бачити з рисунку 3.1, методики за екологічністю майже однакові і відносяться до «прийнятно екологічно чистих». За рахунок того, що в порівнюваних методах використовуються токсичні речовини, то існує високий ризик забруднення навколишнього середовища.

Тобто, актуальним залишається завдання підбір екологічних, економічних та експресних методик визначення цефтриаксону натрію та інших цефалоспоринових антибіотиків в складі лікарських засобів.

Висновки до розділу 3

1. У результаті дослідження було порівняно три методики рідинної хроматографії для визначення цефтриаксону натрію в складі лікарських засобів. Встановлено, що всі вони відповідають валідаційним характеристикам, визначеним ДФУ та ІСН, зокрема щодо лінійності, точності, межі виявлення і кількісного визначення.

2. Згідно з Наказом МОЗ України від 09.12.2024 р. № 245, базова вартість одного аналізу становить 7848,0 грн. Проведений економічний аналіз показав, що найнижчу собівартість має Методика 2 (6800–7100 грн), у той час як Методика 1 виявилась найбільш витратною (7600–8000 грн) через застосування ацетонітрилу.

3. За результатами екооцінки всі три методики належать до категорії «прийнятно екологічно чистих» відповідно до шкали MoGAPI. Це дозволяє рекомендувати їх для використання з урахуванням принципів «зеленої аналітичної хімії».

4. Оптимальність методики визначається не лише аналітичними параметрами, а й економічними та екологічними показниками. Врахування всіх трьох аспектів дозволяє здійснити обґрунтований вибір для рутинного контролю якості в залежності від обладнання лабораторій та доступності реактивів.

ВИСНОВКИ

1. На основі літературного аналізу представлено сучасну класифікацію цефалоспоринових антибіотиків, охарактеризовано їх хімічну будову, фармакологічні властивості, показання та обмеження до застосування. Встановлено взаємозв'язок між структурними особливостями молекул та їх антимікробною активністю, що має практичне значення для вибору препаратів у клінічній практиці.

2. Визначено основні фармакопейні підходи до контролю якості цефалоспоринів. Охарактеризовано їх переваги, недоліки, сфери застосування та відповідність міжнародним аналітичним вимогам.

3. В рамках експериментальної частини здійснено порівняння трьох методик ВЕРХ для визначення кількісного вмісту цефтриаксону натрію в ін'єкційній формі. Усі методики відповідали встановленим критеріям валідації (специфічність, лінійність, точність, відтворюваність).

4. Особливу увагу приділено економічному аспекту застосування методик: проаналізовано собівартість проведення одного аналізу з урахуванням витрат на реактиви, розчинники й обслуговування обладнання. Встановлено, що Методика 2 (на основі метанолу та ортофосфорної кислоти) є найекономічнішою (6800–7100 грн), тоді як Методика 1 (з використанням ацетонітрилу) – найбільш затратна.

5. Проведено екологічну оцінку методик за допомогою інструменту MoGAPI, результати якої дозволили віднести всі досліджувані методики до категорії «прийнятно екологічно чистих». Це підтверджує їх відповідність сучасним вимогам сталого розвитку аналітичної хімії.

6. Отримані результати можуть бути практично використані при розробці проектів змін до Державної Фармакопеї України, в роботі контрольно-аналітичних лабораторій, а також у навчальному процесі підготовки фармацевтів-аналітиків.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Залюбовська О. І. Антибіотики. *Фармацевтична енциклопедія*. URL: <https://www.pharmencyclopedia.com.ua/article/2810/antibiotiki#list> (дата звернення: 27.02.2025).
2. Miller E. L. The penicillins: a review and update. *J Midwifery Womens Health*. 2002. Vol. 47(6). P. 426-434. DOI: 10.1016/s1526-9523(02)00330-6.
3. Брунь Л. В. Пеніциліни. *Фармацевтична енциклопедія*. URL: <https://www.pharmencyclopedia.com.ua/article/764/penicilini> (дата звернення: 27.02.2025).
4. Самура І. Б. Цефалоспорини. *Фармацевтична енциклопедія*. URL: <https://www.pharmencyclopedia.com.ua/article/109/cefalosporini#list> (дата звернення: 01.05.2025).
5. Fernandez J., Jimenez-Rodriguez T. W., Blanca-Lopez N. Classifying cephalosporins: from generation to cross-reactivity. *Curr Opin Allergy Clin Immunol*. 2021. Vol. 21(4). P. 346-354. DOI: 10.1097/ACI.0000000000000755.
6. Comparative review of the carbapenems / G. G. Zhanel et al. *Drugs*. 2007. Vol. 67(7). P. 1027-1052. DOI: 10.2165/00003495-200767070-00006.
7. Brewer N. S., Hellinger W. C. The monobactams. *Mayo Clin Proc*. 1991. Vol. 66(11). P. 1152-1157. DOI: 10.1016/s0025-6196(12)65797-8.
8. Majalekar P. P., Shirote P. J. Fluoroquinolones: Blessings Or Curses. *Curr Drug Targets*. 2020. Vol. 21(13). P. 1354-1370. DOI: 10.2174/1389450121666200621193355.
9. Rybak M. J. The pharmacokinetic and pharmacodynamic properties of vancomycin. *Clin Infect Dis*. 2006. Vol. 42(1). P. 35-39. DOI: 10.1086/491712.
10. Глікопептидні антибіотики: еволюційний аспект біосинтезу та формування резистентності. *Український Медичний Часопис*. URL: <https://umj.com.ua/uk/novyna-161399-glikopeptidni-antibiotiki-evolyutsijnij-aspekt-biosintezu-ta-formuvannya-rezistentnosti> (дата звернення: 25.04.2025).

11. Ващук В. В., Андрющенко В. П., Кирик Т. П., Хомченко Т. В. Захищені β -лактами в сучасній терапії резистентних бактеріальних інфекцій. *Здоров'я України*. 2019. № 9(454). С. 19-21.
12. Chaudhry S. B., Veve M. P., Wagner J. L. Cephalosporins: A Focus on Side Chains and β -Lactam Cross-Reactivity. *Pharmacy*. 2019. Vol. 7(3). P. 103. DOI: 10.3390/pharmacy7030103.
13. Analysis of cephalosporin antibiotics / S. R. El-Shaboury et al. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*. 2007. Vol. 45(1). P. 1-19. DOI: 10.1016/j.jpba.2007.06.002.
14. Sader H. S., Jones R. N. Historical overview of the cephalosporin spectrum: Four generations of structural evolution. *Antimicrobial Newsletter*. 1992. Vol. 8(12). P. 75-82. DOI: 10.1016/0738-1751(92)90022-3.
15. Ali S. M., Elbashir A. A., Aboul-Enein H. Y. Spectroscopic Methods for Analysis of Cephalosporins in Pharmaceutical Formulations. *World Journal of Analytical Chemistry*. 2015. Vol. 3. P. 21-32. DOI: 10.12691/wjac-3-1A-5.
16. Самура І. Б. Цефалоспорини. *Фармацевтична енциклопедія*. URL: <https://www.pharmencyclopedia.com.ua/article/109/cefalosporini#list> (дата звернення: 24.01.2025).
17. Fung-Tomc J. C. Fourth-generation cephalosporins. *Clinical Microbiology Newsletter*. 1997. Vol. 19(17). P. 129-136. DOI: 10.1016/S0196-4399(97)82485-3.
18. Цефалоспорини. URL: <https://www.msdmanuals.com/uk/professional/infectious-diseases/bacteria-and-antibacterial-medications/cephalosporins> (дата звернення: 15.11.2024).
19. Kaushik D., Rath S., Jain A. Ceftaroline: a comprehensive update. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2011. Vol. 37(5). P. 389-395. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2011.01.017.
20. Understanding antibiotic resistance. *Open Learning*. URL: <https://www.open.edu/openlearn/mod/oucontent/view.php?id=75701§ion=6.1> (Date of access: 19.03.2025).

21. Norrby S. R. Side effects of cephalosporins. *Drugs*. 1987. Vol. 34(2). P. 105-120. DOI: 10.2165/00003495-198700342-00009.
22. Cephalosporins / National Center for Biotechnology Information. URL: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK551517/> (Date of access: 18.11.2024).
23. Przewodnik po spektroskopii FT-IR. High-Value Life Science and Material Research and Diagnostics Solutions. URL: <https://www.bruker.com/pl/products-and-solutions/infrared-and-raman/ft-ir-routine-spectrometer/what-is-ft-ir-spectroscopy.html> (Date of access: 26.04.2025).
24. 2.2.24. Absorption spectrophotometry, infrared. *European Pharmacopoeia*. 7th ed. 2010. URL: <https://www.drugfuture.com/Pharmacopoeia/EP7/DATA/20224E.PDF> (Date of access: 26.04.2025).
25. Аналітичні методи досліджень. Спектроскопічні методи аналізу: теоретичні основи і методики : навч. посіб. для підготовки студентів ВНЗ / Д. О. Мельничук та ін. Київ : ЦП «Компринт», 2016. 289 с.
26. Formulation and in-vitro evaluation of floating matrix tablets of cephalexin using hydrophilic polymers / N. R. Kandukoori et al. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 2012. Vol. 2(2). P. 58-65.
27. Гризодуб О., Леонтьєв Д. Хроматографія. *Фармацевтична енциклопедія*. URL: <https://www.pharmencyclopedia.com.ua/article/237/xromatografiya> (дата звернення: 23.03.2025).
28. Morley R., Minceva M. Liquid-Liquid Chromatography: Current Design Approaches and Future Pathways. *Annu Rev Chem Biomol Eng*. 2021. Vol. 12. P. 495-518. DOI: 10.1146/annurev-chembioeng-101420-033548.
29. Ahn A., Dallegrave A., Zimnoch Dos Santos J. H. Evaluation of the Cefalexin Drug Degradation Profile in Pharmaceutical Capsule Forms Based on Forced Degradation Studies. *Chromatographia*. 2022. Vol. 85(7). DOI: 10.1007/s10337-022-04134-2.

30. Santiago M., Strobel S. Thin layer chromatography. *Methods Enzymol.* 2013. Vol. 533. P. 303-24. DOI: 10.1016/B978-0-12-420067-8.00024-6.
31. Державна Фармакопея України / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-ге вид. Харків : ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2014. Т. 2. 724 с.
32. Contributors to Wikimedia projects. High-performance thin-layer chromatography - Wikipedia. Wikipedia, the free encyclopedia. URL: https://en.wikipedia.org/wiki/High-performance_thin-layer_chromatography (date of access: 15.01.2025).
33. Tissue B. M. Ultraviolet and Visible Absorption Spectroscopy. 2012. DOI:10.1002/0471266965.com059.pub2.
34. Instrumentation of a UV-Visible Spectrophotometer. URL: <https://jascoinc.com/learning-center/theory/spectroscopy/uv-vis-spectroscopy/instrumentation/> (Date of access: 15.01.2025).
35. Chemometric Assisted UV-Spectrophotometric Quantification of Cefaclor in Suspension Dosage Form / M. Kirtimaya et al. *International journal of pharmaceutical quality assurance.* 2023. Vol. 14. P. 734-739. DOI: 10.25258/ijpqa.14.3.46.
36. Державний реєстр лікарських засобів України. URL: <http://www.drlz.com.ua/ibp/ddsite.nsf/all/shlist> (дата звернення: 15.01.2025).
37. Державна Фармакопея України / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-ге вид. Харків : ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2014. Т. 3. 732 с.
38. QbD approach to HPLC method development and validation of ceftriaxone sodium / K. Y. Patel et al. *Futur J Pharm Sci.* 2021. Vol. 7(141). DOI: 10.1186/s43094-021-00286-4.
39. Sankatala L., Yalagatti M. S. Development and validation of new RP-HPLC method for the estimation of ceftriaxone sodium in bulk and pharmaceutical

dosage form. *GSC Biological and Pharmaceutical Sciences*. 2023. Vol. 24(1). P. 62–71. DOI: 10.30574/gscbps.2023.24.1.0221.

40. ICH Q2 (R2) Validation of Analytical Procedures 3 Scientific guideline. 2023. URL: <https://www.ema.europa.eu/en/ich-q2r2-validation-analytical-procedures-scientific-guideline> (Date of access: 15.01.2025).

41. Державна Фармакопея України. Допов. 7 / ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». 2-е вид. Харків : ДП «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2024. Т. 2. 424 с.

42. Titenko L. V. Evaluation and Calculation in the Pharmaceutical Industry. Finance, Accounting and Audit. Kyiv : KNEU. 2009. 25 p.

43. Green synthesis interventions of pharmaceutical industries for sustainable development / M. Mishra et al. *Current Research in Green and Sustainable Chemistry*. 2021. Vol. 4. P. 100-174. DOI: 10.1016/j.crgsc.2021.100174.

44. Green Chemistry in the Synthesis of Pharmaceuticals / S. Kar et al. *Chemical Reviews*. 2022. Vol. 122(3). P. 3637–3710. DOI: 10.1021/acs.chemrev.1c00631.

45. Becker J., Manske C., Randl S. Green chemistry and sustainability metrics in the pharmaceutical manufacturing sector. *Current Opinion in Green and Sustainable Chemistry*. 2022. Vol. 33. P. 100562. DOI: 10.1016/j.cogsc.2021.100562.

46. Pena-Pereira F., Wojnowski W., Tobiszewski M. AGREE-Analytical GREENness Metric Approach and Software. *Anal Chem*. 2020. Vol. 92(14). P. 10076-10082. DOI: 10.1021/acs.analchem.0c01887.

47. Mansour F. R., Płotka-Wasyłka J., Locatelli M. Modified GAPI (MoGAPI) Tool and Software for the Assessment of Method Greenness: Case Studies and Applications. *Analytica*. 2024. Vol. 5(3). P. 451-457. DOI: 10.3390/analytica5030030.