

Рекомендована д.ф.н., професором В.С.Бондарем

УДК 547.732: 543.242.3: 543.42.062: 543.257

## КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ НАТРІЙ АМПІЦИЛІНУ У ПОРОШКУ ДЛЯ ПРИГОТУВАННЯ РОЗЧИНУ ДЛЯ ІН'ЄКЦІЙ КІНЕТИЧНИМ МЕТОДОМ

М.Є.Блажеєвський, С.П.Карпова

Національний фармацевтичний університет

**Вивчена кінетика спряжених реакцій S-окиснення та пергідролізу ампіциліну з калію пероксомоносульфатом у лужному середовищі за світлопоглинанням утвореного продукту при 305 нм. Оптимізовані умови та опрацьована методика кількісного визначення ампіциліну натрієвої солі в порошку для приготування розчину для ін'єкцій фотометрично-кінетичним методом з використанням як реагента розчину потрійної калієвої солі кислоти Каро ("Оксон"). RSD  $\leq$  2,1%. Результати аналізу препарату, одержані за новоопрацьованою та чинною фармакопейною методиками, добре узгоджуються між собою ( $\delta = -0,36\%$ ).**

Для кількісного визначення препаратів пеніцилінового ряду рекомендовані методи високоефективної рідинної хроматографії [5], спектрофотометрії [6, 12], потенціометричного титрування [4], йодометрії [10]; для визначення ампіциліну також успішно застосовують метод потенціометрії з використанням іонно-селективних електродів [7], різні варіанти вольтамперометрії [14], амперометрії [11], полярографічного аналізу [2], кінетики [3].

Відомі також спектрофотометричні методики, які ґрунтуються на реакціях окиснення продуктів гідролітичного розщеплення пеніцилінів солями феруму (III) [15], молібдату і ванадату амонію [9], взаємодії їх із солями міді (II) [1], дегідроаскорбіновою кислотою [8] та ін. [13]. Ці методики дозволяють визначити пеніциліни в лікарських препаратах у присутності різноманітних допоміжних речовин.

Незважаючи на те, що в практиці аналізу використовується багато методів, завдання удосконалення відомих та опрацювання нових методик кількісного визначення пеніцилінів залишається актуальним і надалі. Існуючі фармакопейні методики визначення препаратів цього ряду достатньо складні, займають багато часу на підготовку та вимагають використання складної висококоштовної апаратури. Більшість відомих методик спектрофотометричного визначення пеніцилінів, які зводяться до визначення кінцевих продуктів їх

гідролітичного розщеплення, довготривалі та вимагають нагрівання.

Розроблена нами методика визначення ампіциліну має ряд переваг перед уже відомими: дозволяє визначити їх у значно менших кількостях, ніж фармакопейним методом йодометрії; придатна для того ж інтервалу визначуваних концентрацій, що і в методі фотометрії продуктів гідролізу, але при цьому не вимагає довготривалого нагрівання реакційної суміші, простіша за методику хроматографічного методу аналізу та більш швидка. Запропонована методика полягає в попередньому окисненні ампіциліну надлишком пероксомоносульфатної кислоти до відповідного S-оксиду з наступним визначенням продукту гідролітичного перетворення його в лужному середовищі при 305 нм кінетичним методом. Схема перетворень, які призводять до утворення продукту реакції, наведена на рис. 1.

### Матеріали та методи

Для досліджень використовували препарат натрій ампіцилін фармакопейної чистоти (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), сухий стерильний порошок у флаконах "АМПІЦИЛІН-КМП", 1,0 г активної речовини серії 509908 виробництва ВАТ "КІЇВМЕД-ПРЕПАРАТ", Київ, Україна. Як окисник використовували пероксомоносульфатну кислоту у вигляді потрійної калієвої солі  $2\text{KHSO}_5 \cdot \text{KHSO}_4 \cdot \text{K}_2\text{SO}_4$  кваліфікації "extra pure" ("Оксон") з вмістом активного кисню  $\leq$  4,5%. Вибір реагента обумовлений його доступністю, доброю розчинністю і стійкістю у воді та відносно високою окисаційною здатністю.

*Розчин РСЗ натрієвої солі ампіциліну 500 мкг/мл.* Наважку 0,0504 г РСЗ ампіциліну натрієвої солі розчиняли у 100,00 мл дистильованої води при 20°C.

*Виготовлення робочого розчину пероксомоносульфатної кислоти,  $2 \cdot 10^{-2}$  моль/л.* Наважку 0,615 г солі розчиняли у 100,0 мл двічі дистильованої води при 20°C. Концентрацію розчину контролювали методом йодометричного титрування.

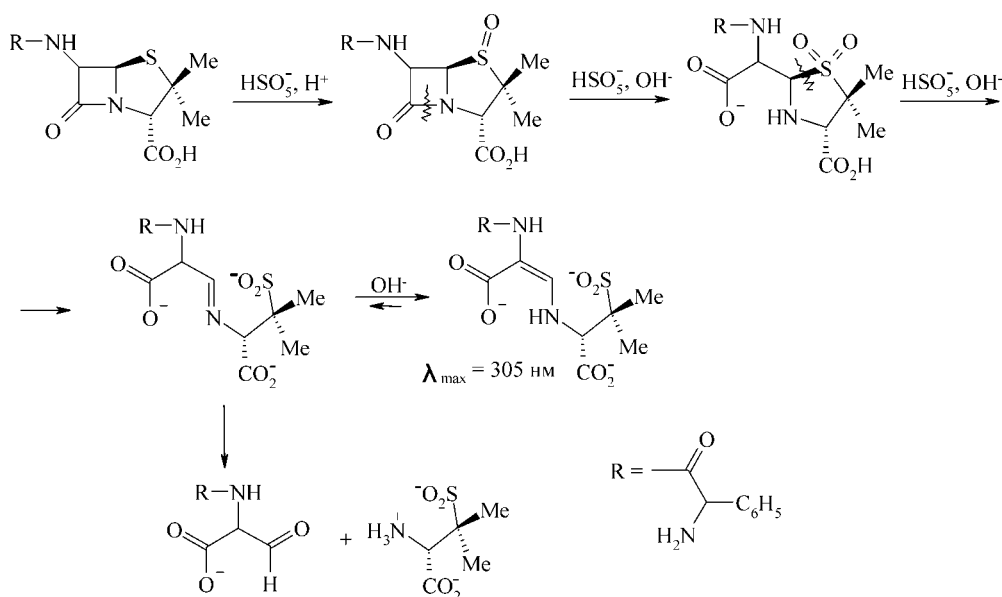


Рис. 1. Схема спряжених реакцій пероксикислотного окиснення та пергідролізу натрію ампіциліну з утворенням заміщеного похідного N-акрил-β-пеніциламіну сульфінату (IV).

Як робочий стандартний зразок (PC3) натрію ампіциліну використовували субстанцію натрієвої солі ампіциліну фармакопейної чистоти з точно відомим вмістом основної речовини.

Електронні спектри реєстрували на спектрофотометрі СФ-26 (ЛОМО, ССРСР); кінетику вивчали за світлопоглинанням утвореного продукту реакції при 305 нм. Для вимірювання оптичної густини розчинів використовували кювету з товщиною поглинаючого шару  $l=1$  см; розчини перед зливанням термостатували у термостаті UTU-2 (Zemitt, Horizont Krakow-Poland), час фіксували секундоміром з моменту змішування розчинів. Для створення та підтримки необхідної кислотності середовища використовували 0,1 моль/л розчин натрію гідроксиду, який не містив карбонатів. Обробку результатів здійснювали методом “тангенсів” (диференційний варіант). Швидкість оцінювали за тангенсом кута нахилу лінійної ділянки кінетичної кривої  $A - \text{час}$  ( $tg \alpha_{\text{амп}} - \text{у хв}^{-1}$ ).

**Результати та їх обговорення**

У результаті дослідження з’ясовано, що поряток змішування розчинів суттєво чинить вплив на

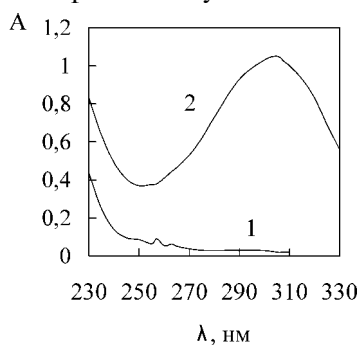


Рис. 2. Електронні спектри світлопоглинання натрію ампіциліну (1) та продукту реакції пергідролізу S-оксиду ампіциліну.  $c(\text{NaOH}) = 1,22 \cdot 10^{-2}$  моль/л;  $c(\text{KHSO}_5) = 4 \cdot 10^{-4}$  моль/л;  $c(\text{Na-ампіцилін}) = 50$  мкг/мл.

кінетику та вихід продукту реакції. Найвища швидкість нагромадження продукту спостерігається лише після попереднього змішування розчину зразка досліджуваного ампіциліну з пероксомonosульфатною кислотою, а відтак — розчином лугу. Максимальна активність пероксомonosульфатної кислоти у реакції спостерігалася при її концентрації  $2 \cdot 10^{-3}$  моль/л. Встановлено, що оптимальна концентрація лугу, при якій спостерігалась найбільша швидкість утворення продукту реакції, становить  $6 \cdot 10^{-3}$  моль/л. У відсутності пероксомonosульфатної кислоти в зазначених вище умовах впродовж перших 30 хв (час спостереження) утворення продукту реакції не відбувалось. Такий необхідний надлишок пероксомonosульфатної кислоти може бути пояснений її участю в процесі подальшого гідролітичного розщеплення, утвореного на першій стадії реакції відповідного S-оксиду ампіциліну в лужному середовищі (нуклеофільний каталіз гідролізу β-лактамного та тiazолідинового циклів). На рис. 2 наведений електронний спектр продуктів взаємодії досліджуваного ампіциліну, який реєстрували через 30 хв перебігу реакції (час досягнення рівноваги).

На рис. 3 наведений градувальний графік кількісного визначення ампіциліну. Він свідчить, що в межах від 1 до 40 мкг/мл умовна швидкість реакції зберігає лінійний характер залежно від концентрації ампіциліну. Цей факт дозволяє здійснювати визначення ампіциліну в зазначеному інтервалі концентрацій його в розчині. Результати дослідів наведені в таблиці, з якої видно, що визначення натрієвої солі ампіциліну у порошку для приготування розчину для ін’єкцій можливе із задовільною точністю ( $RSD \leq 2,09\%$ ).

**Побудова градувального графіка.** У мірні колби на 50 мл за допомогою мікробюретки послідовно

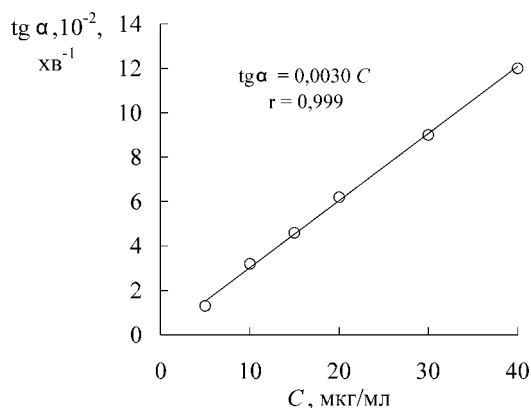


Рис. 3. Градувальний графік кількісного визначення натрій ампіциліну.  
 $c(\text{KHSO}_5) = 2 \cdot 10^{-3}$  моль/л;  $c(\text{NaOH}) = 6,0 \cdot 10^{-3}$  моль/л.

відміряють 0,50; 2,50; 3,00; 4,00; 5,00; 7,50; 10,00 мл стандартного розчину ампіциліну, додають у кожну по 5 мл  $2 \cdot 10^{-2}$  моль/л розчину пероксомоносульфатної кислоти і ретельно збовтують. У кожну колбу послідовно приливають 5,0 мл 0,06 моль/л розчину натрій гідроксиду, доводять об'єм до позначки дистильованою водою і ретельно перемішують. Після додавання розчину луку починають відлік часу, вмикають секундомір. Одержані розчини фотометрують у кварцовій кюветі з товщиною 1 см при 305 нм проти дистильованої води (компенсаційний розчин) впродовж 10 хв через кожну хвилину при 20°C і будують кінетичні криві залежності оптичної густини від часу. За даними нахилу лінійних ділянок кінетичних кривих будують градувальну залежність  $\text{tg} \alpha$  від концентрації ампіциліну ( $C$ , мкг/мл).

**Методика кількісного визначення ампіциліну у порошку для приготування розчину для ін'єкцій.** Близько 0,05 г (точна наважка) препарату переносять у мірну колбу місткістю 100 мл, розчиняють у 50 мл дистильованої води, доводять об'єм розчину до позначки і перемішують. 5,00 мл отриманого розчину переносять у мірну колбу на 50 мл і далі виконують аналіз, як при побудові градувального графіка. Отриманий розчин фотометрують у кварцовій кюветі з товщиною 1 см при 305 нм, використовуючи дистильовану воду як компенсаційний розчин, щохвилини протягом 10 хв та будують кінетичну криву залежності світлопоглинання розчину ( $A$ ) від часу. З графіка знаходять тангенс кута нахилу лінійної ділянки кінетичної кривої.

Таблиця

Результати кількісного визначення ампіциліну в порошку для приготування розчину для ін'єкцій за реакцією з пероксомоносульфатною кислотою ( $n=5$ ,  $P=0,95$ )

Узято ампіциліну, г	Знайдено		Метрологічні характеристики
	г	%	
"АМПІЦИЛІН-КМП", 1,0 г активної речовини, серії 509908 виробництва ВАТ "КІЇВМЕДПРЕПАРАТ", Київ, Україна			
0,9914*	0,9725	97,25	$\bar{x} = 0,9879$ (98,79%) $S_x = \pm 0,0206$ $S_{\bar{x}} = \pm 0,0092$ $\Delta x = \pm 0,0257$ $S_r = \pm 2,09\%$ $\varepsilon = 2,60\%$ $\delta = -0,36\%$
	0,9981	99,81	
	0,9613	96,13	
	0,9950	99,50	
	1,0125	101,25	

Примітка. \* — вміст ампіциліну, вказаний у сертифікаті якості.

Вміст  $\text{C}_{16}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_4\text{S}$ , г у одному флаконі ( $x_{\text{амп}}$ ) розраховують за формулою:

$$x_{\text{амп}} = \frac{a_{\text{см}} \cdot \text{tg} \alpha \cdot 0,9408 \bar{a}}{a \cdot \text{tg} \alpha_{\text{см}}}$$

де:  $a_{\text{см}}$  — маса наважки РСЗ ампіциліну натрієвої солі, г;  $\text{tg} \alpha_{\text{см}}$  — тангенс кута нахилу кінетичної кривої у досліді з РСЗ ампіциліну натрієвої солі,  $\text{хв}^{-1}$ ;  $a$  — маса наважки досліджуваного порошку ампіциліну натрієвої солі, г;  $a$  — середня маса вмістимого флакону, г;  $\text{tg} \alpha$  — тангенс кута нахилу кінетичної кривої у досліді з досліджуваним розчином ампіциліну натрієвої солі,  $\text{хв}^{-1}$ ; 0,9408 — коефіцієнт перерахунку ампіциліну натрієвої солі у кислоту.

#### ВИСНОВКИ

1. Вивчена кінетика спряжених реакцій S-окиснення та пергідролізу за посередництвом пероксомоносульфатної кислоти ампіциліну в лужному середовищі.

2. Як аналітичний реагент для фотометрично-кінетичного визначення ампіциліну запропонована потрійна калієва сіль кислоти Каро ("Оксон").

3. Опрацьована нова методика кількісного визначення ампіциліну в порошку для приготування розчину для ін'єкцій.  $\text{RSD} \leq 2,1\%$ . Результати аналізу препарату, одержані новоопрацьованою та стандартною фармакопейною методиками, добре узгоджуються між собою ( $\delta = -0,36\%$ ).

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Алексеев В.Г., Лапшин С.В. // *Вопр. биол., мед. и фармац. химии.* — 2007. — №1. — С. 27-30.
2. Блажеєвський М.Є. // *Фармац. журн.* — 2003. — №5. — С. 66-78.
3. Блажеєвський М.Є. // *Укр. хим. журн.* — 2005. — Т. 71, №10. — С. 90-93.
4. Демская Е.В., Алексеев В.Г. // *Вестник ТвГУ.* — 2005. — №2. Сер. хим. Вып. 8. — С. 177-179.
5. *Державна фармакопея України / Державне підприємство "Науково-експертний фармакопейний центр". — 1-е вид. — Х.: РІПЕГ, 2001. — Доп. 1. — 2004. — С. 285-289.*
6. Зайцева К.В., Алексеев В.Г. // *Вестник ТвГУ.* — 2007. — №2. Сер. хим. Вып. 3. — С. 112-115.

7. Кулапина Е.Г., Барагузина В.В., Кулапина О.И. // *Хим.-фармац. журн.* — 2006. — Т. 40, №3. — С. 53-55.
8. *Международная фармакопея.* — 3-е изд. — Женева: ВОЗ, 1983. — Т. 2. — С. 49-50.
9. Пат. 2024851. Россия МКИ<sup>3</sup> G 01 N 21/78 / В.К.Шорманов, Е.П.Дурицын. — №5055770/25. — Заявл.: 22.07.92. Опубл.: 15.12.94. — Бюл. 23.
10. Туркевич М., Владзімірська О., Лесик Р. *Фармацевтична хімія (стероїдні гормони, їх синтетичні замінники і гетероциклічні сполуки як лікарські засоби): Підруч.* — Вінниця: Нова книга, 2003. — 464 с.
11. *European Pharmacopoeia, Suppl.* — 4-ed. Council of Europe. — Strasbourg: EDQM, 2001. — 2415 p.
12. Mohamed G.G. // *J. Pharm. and Biomed. Anal.* — 2001. — Vol. 24, №4. — P. 561-567.
13. Pajchel Genowefa, Pawlowski Krzysztof, Tyski Stefan // *J. Pharm. and Biomed. Anal.* — 2002. — Vol. 29, №1-2. — P. 75-81.
14. Rizk M.S., Issa Y.M., Shoukry A.F. et al. // *Anal. Lett.* — 1994. — Vol. 27, №6. — P. 1055-1065.
15. Singh K. // *Ind. J. Technol.* — 1993. — Vol. 31, №8. — P. 613-614.

---

УДК 547.732: 543.242.3: 543.42.062: 543.257

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ НАТРИЯ АМПИЦИЛЛИНА В ПОРОШКЕ ДЛЯ ПРИГОТОВЛЕНИЯ РАСТВОРА ДЛЯ ИНЪЕКЦИЙ КИНЕТИЧЕСКИМ МЕТОДОМ  
М.Е.Блажеевский, С.П.Карпова

Изучена кинетика сопряженных реакций S-окисирования и пергидролиза ампициллина с пероксомоносульфатом калия в щелочной среде по светопоглощению образующегося продукта при 305 нм. Оптимизированы условия и разработана методика количественного определения ампициллина натриевой соли в порошке для приготовления раствора для инъекций фотометрически-кинетическим методом с использованием в качестве реагента раствора тройной калиевой соли кислоты Каро ("Оксон"). RSD ≤ 2,1%. Результаты анализа препарата, полученные с помощью разработанной и стандартной фармакопейной методики, хорошо согласуются между собой ( $\delta = -0,36\%$ ).

---

UDC 547.732: 543.242.3: 543.42.062: 543.257

THE QUANTITATIVE DETERMINATION OF AMPICILLINE SODIUM SALT FOR PREPARING SOLUTIONS FOR INJECTIONS

M.Ye.Blazheyevskiy, S.P.Karpova

The kinetics of the conjugated reactions of S-oxidation and perhydrolysis of ampicilline with potassium peroxomonosulphate in the alkaline medium has been studied by light absorbance increase of a product forming at 305 nm. The conditions have been optimized and the procedure of the quantitative determination of ampicilline sodium salt in the powder for preparing the solution for injections by the photometric kinetic method has been developed using triple potassium Caro salt solution ("Oxon") as a reagent. RSD ≤ 2,1%. The results of the drug analysis obtained by the method developed and the standard Pharmacopoeian method have been well conformed ( $\delta = -0,36\%$ ).