

УДК 543.422.3

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ РЕАКТИВА ФОЛИНА–ЧИОКАЛЬТЕУ ДЛЯ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЦЕФАЛОСПОРИНОВ

В.Г. Алексеев

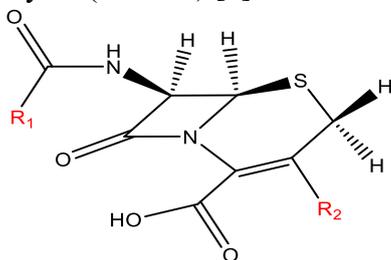
Тверской государственной университет, г. Тверь

Показана возможность применения стандартной методики спектрофотометрического определения органических веществ с использованием реактива Фолина-Чиокальтеу для анализа лекарственных форм цефалоспориновых антибиотиков. Обнаружено, что цефоперазон обладает большей восстановительной способностью в отношении реактива Фолина-Чиокальтеу, чем цефазолин, цефуроксим, цефотаксим и цефтазидим, вследствие наличия фенольной группы.

Ключевые слова: количественное определение цефалоспоринов, реактив Фолина-Чиокальтеу

DOI 10.26456/vtchem2019.4.14

Одними из наиболее широко применяемых на практике лекарственных препаратов являются антибиотики группы цефалоспоринов [1]. Первые цефалоспорины были синтезированы ещё в XX веке и уже на протяжении более пятидесяти лет успешно применяются при лечении многих инфекционных заболеваний. Широкое использование цефалоспоринов обусловлено их высокой эффективностью, относительно низкой токсичностью и возможностью синтеза новых препаратов за счёт модификаций так называемых «боковых цепей» молекулы (R_1 и R_2) [2].



Общая структурная формула цефалоспоринов

В настоящее время в медицинскую практику внедряется уже пятое поколение цефалоспориновых антибиотиков [3]. К сожалению, нередко встречаются фальсификации лекарственных форм цефалоспоринов [4]. Поэтому актуальной задачей современной аналитической химии является разработка точных, удобных и недорогих методов контроля цефалоспоринов.

Существует множество методик количественного определения цефалоспоринов в лекарственных формах [5]. Метод тонкослойной хроматографии [6] в настоящее время применяется редко вследствие невысокой точности и большого времени анализа. Чаще всего используется метод ВЭЖХ [7]. Однако требует дорогостоящего оборудования и расходных материалов, что существенно затрудняет его использование на практике. Известны методики, основанные на применении ионселективных электродов. [8; 9]. Потенциометрическое определение с использованием таких электродов является достаточно быстрым и удобным методом, не требующим дорогостоящего оборудования. Однако для каждого антибиотика нужен селективный к нему электрод. Промышленностью такие электроды не выпускаются, и экспериментаторы вынуждены изготавливать их самостоятельно, что является существенным недостатком. Ещё одной группой методов определения цефалоспориновых антибиотиков являются спектрофотометрические методы. Они основаны на взаимодействии цефалоспоринов с реагентами различной химической природы с образованием окрашенных веществ. [10–15]. Такие методы удобны тем, что позволяют использовать спектрофотометры и колориметры, имеющиеся в любой химической лаборатории.

Среди фотометрических реагентов, применяемых для определения органических веществ интересен реактив Фолина-Чиокальтеу (ФЧ), представляющий собой раствор фосфорновольфрамовой и фосфорномолибденовой кислот в соляной кислоте с добавлением Li_2SO_4 . Реактив успешно применяется для определения органических веществ, обладающих восстановительными свойствами [16]. При взаимодействии с органическим веществом происходит восстановление Mo(VI) до Mo(V) , что сопровождается появлением интенсивной синей окраски. Ранее было показано, что реактив Фолина-Чиокальтеу может быть успешно применен для анализа лекарственных форм пенициллиновых антибиотиков, которые химически родственны цефалоспоринам. [17]. Целью данной работы было изучение возможности применения реактива Фолина-Чиокальтеу для количественного определения цефалоспоринов в лекарственных формах спектрофотометрическим методом.

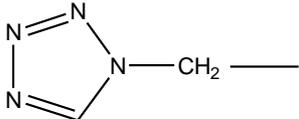
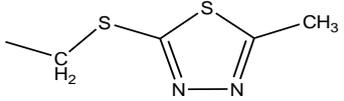
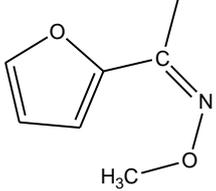
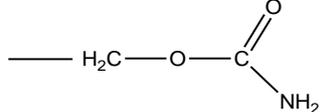
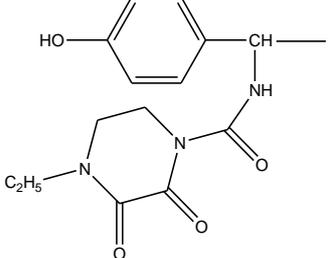
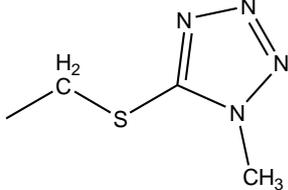
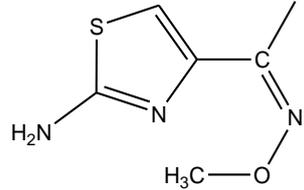
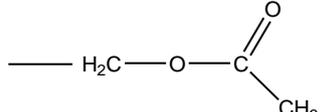
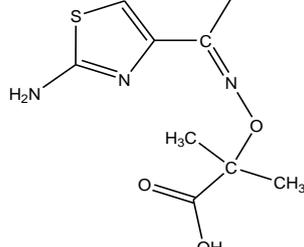
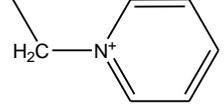
Экспериментальная часть

Методика анализа:

В мерных колбах на 50 мл готовили серии растворов, содержащие различные количества цефалоспорины, добавляли реактив ФЧ и доводили до метки. Масса антибиотика составляла от 0.5 до 4.5

мг. Аналогично, но без антибиотика готовили раствор сравнения. Выдерживали 30 мин на водяной бане при $t = 90\text{ }^{\circ}\text{C}$. При этом желтая окраска раствора менялась на синюю. После чего колбы извлекали из бани, охлаждали, при необходимости раствор доводили водой до метки и перемешивали. Затем записывали спектры растворов на спектрофотометре СФ-2000 (ОКБ «Спектр», Санкт-Петербург области 500–900 нм в кюветах 1 см относительно раствора сравнения.

Для выполнения работы использовали фармацевтические препараты натриевых солей цефалоспориновых антибиотиков: цефазолина, цефуросима, цефоперазона, цефотаксима, цефтазидима.

| Цефалоспорин | R ₁ | R ₂ |
|--------------|---|--|
| цефазолин |  |  |
| цефуросим |  |  |
| цефоперазон |  |  |
| цефотаксим |  |  |
| цефтазидим |  |  |

Приготовление реактива Фолина-Чиокальтеу:

К 100 г вольфрамата натрия прибавляют воду до растворения. К 25 г молибдата натрия также прибавляют воду до растворения. Растворы смешивают и прибавляют воду до 700 мл. Эту жидкость переносят в колбу вместимостью 1000 мл, в которую прибавляют 25 мл 85 %-го раствора фосфорной кислоты и 50 мл концентрированной соляной кислоты. Колбу закрывают пробкой, снабженной обратным холодильником, а затем содержимое колбы непрерывно кипятят в течение 10 ч. После этого жидкость охлаждают, прибавляют 150 г сульфата лития, 50 мл дистиллированной воды и 3-5 капель брома. Жидкость в колбе кипятят без холодильника в течение 15 мин для удаления избытка брома. После охлаждения жидкости ее переносят в колбу и добавляют воду до 1000 мл. Раствор хорошо взбалтывают и фильтруют. Фильтрат собирают в склянку из темного стекла с притертой пробкой. Реактив сохраняют в холодном месте. Он пригоден к употреблению в течение нескольких месяцев.

Результаты и их обсуждение

Во всех случаях наблюдается интенсивная полоса поглощения при длине волны 750 нм. Все спектры выглядят однотипно. Каждую серию измерений проводили не менее трёх раз. На основании усреднённого значения оптической плотности строили зависимость оптической плотности на длине волны 750 нм от концентрации в пробе.

Для всех исследованных антибиотиков наблюдается практически линейный характер зависимости, что показывает возможность применения реактива ФЧ для количественного анализа лекарственных форм этих антибиотиков. С использованием программы Origin были рассчитаны линейные уравнения, описывающие зависимость оптической плотности от массы антибиотика m в мг:

| | |
|-------------|---|
| Цефазолин | $A = (0,1408 \pm 0,01307) + (0,157 \pm 0,00464) \cdot m$ |
| Цефоперазон | $A = (0,1072 \pm 0,01172) + (0,1606 \pm 0,00498) \cdot m$ |
| Цефуроксим | $A = (0,0691 \pm 0,00548) + (0,1604 \pm 0,0026) \cdot m$ |
| Цефотаксим | $A = (0,0703 \pm 0,0247) + (0,1603 \pm 0,0088) \cdot m$ |
| Цефтазидим | $A = (0,6333 \pm 0,0113) + (0,1373 \pm 0,004) \cdot m$ |

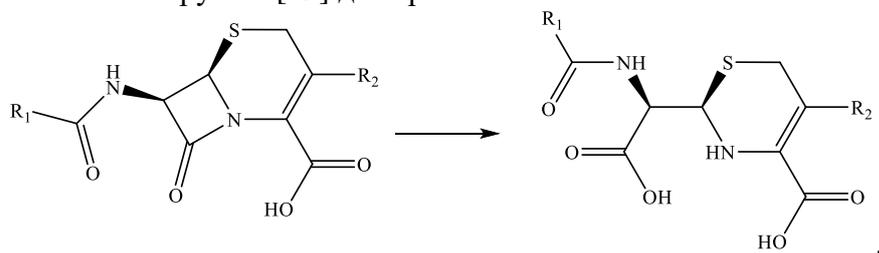
Также были построены графики и выведены линейные зависимости, описывающие зависимость оптической плотности от количества антибиотика в пробе v в ммоль.

| | |
|-------------|---|
| Цефазолин | $A = (0,14083 \pm 0,013) + (71,3565 \pm 2,110) \cdot \nu$ |
| Цефоперазон | $A = (0,10721 \pm 0,0117) + (103,7306 \pm 3,217) \cdot \nu$ |
| Цефуросксим | $A = (0,0692 \pm 0,005) + (68,08941 \pm 1,10) \cdot \nu$ |
| Цефотаксим | $A = (0,0703 \pm 0,0247) + (73,0194 \pm 3,9931) \cdot \nu$ |
| Цефтазидим | $A = (0,0633 \pm 0,0113) + (75,0629 \pm 2,1949) \cdot \nu$ |

Как видно из уравнений, коэффициенты поглощения продуктов взаимодействия цефазолина, цефоперазона, цефуросксима, цефотаксима, цефтазидима с реактивом ФЧ составляют:

| | |
|--------------|--|
| Цефазолин: | $\varepsilon = 71,3565 \text{ ммоль}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$ |
| Цефуросксим: | $\varepsilon = 68,08941 \text{ ммоль}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$ |
| Цефоперазон: | $\varepsilon = 103,7306 \text{ ммоль}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$ |
| Цефотаксим: | $\varepsilon = 73,0194 \text{ ммоль}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$ |
| Цефтазидим: | $\varepsilon = 75,0629 \text{ ммоль}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$ |

Видно, что для цефазолина, цефуросксима, цефотаксима и цефтазидима молярный коэффициент поглощения практически одинаков, для цефоперазона существенно больше, что говорит о большей восстановительной способности цефоперазона. Очевидно это является следствием наличия в составе молекулы цефоперазона фенольной группы. Известно, что реактив ФЧ был первоначально создан для определения именно фенольных соединений [18]. При взаимодействии цефалоспоринов с реактивом ФЧ происходит гидролиз бета-лактамной группы [19] до карбоксильной



затем окисление двух карбоксильных групп, а в случае цефоперазона – и фенольной группы.

Выявленные в ходе проведенной работы закономерности окисления реактивом ФЧ цефалоспориновых антибиотиков могут быть использованы для разработки методик анализа их лекарственных форм.

Список литературы

1. Asbel L.E., Levison M.E. // *Inf. Dis. Clin. North Am.* 2000. V. 14, № 2. P. 435-447.
2. Singh G.S. // *Mini Rev. Med. Chem.* 2004. № 4. P. 93-109.

3. Giacobbe D.R., De Rosa F.G., Del Bono V. et al // *Expert Rev. Anti Infect. Ther.* 2019. V.17, № 9. P. 689-698.
4. Ушкалова Е.А. // *Антимикробные препараты.* 2005. Т. 7, № 2. С. 167-173.
5. Кулапина Е.Г., Баринова О.В., Кулапина О.И. и др. // *Антибиотики и химиотерапия.* 2009. Т. 54; №9–10. С.53–60.
6. Hancu G., Simon B., Kelemen H. et al // *Adv. Pharm. Bull.* 2013. V.3, № 2, P. 367-371.
7. Legrand T., Vodovar D., Tournier N. et al // *Antimicrob. Agents Chemother.* 2016. V.60, № 8. P. 4734-4742.
8. Шведене Н.В., Боровская С.В. // *Журн. аналит. хим.* 2003. Т. 58, № 11. С. 1208-1213.
9. Кулапина О.И., Макарова Н.М., Кулапина Е.Г. // *Журн. аналит. хим.* 2015. Т. 70, № 4. С. 399–406.
10. Saleh G.A., Askal H.F., Radwan M.F., Omar M.A. // *Talanta.* 2001. V. 54. P. 1205-1215.
11. Amin A.S., Ragab G.H. // *Spectrochim. Acta. Part A: Mol. Biomol. Spectr.* 2004. V. 60. 2831-2835.
12. Omar M.A., Osama H., Abdelmageed H., Attia T.Z. // *Int. J. Analyt. Chem.* 2009. № 1. P.12.
13. Alothman Z. A., Abdalla M. A. // *Arab. J. Chem.* 2011. V. 4. P. 239-242.
14. Ali S.M., Elbashir A. A., Aboul-Enein H.Y. // *Arab. J. Chem.* 2015. V. 8. P. 233-239.
15. Крысанова Т.А., Котова Д.Л., Васильева С.Ю. и др. // *Вестник Воронежского гос. ун-та.* 2015. №2. С.13-16.
16. Everette J.D., Bryant Q.M., Green A.M. et al // *J. Agric. Food Chem.* 2010. V. 58. P. 8139–8144.
17. Ахмад А.С., Рахман Н., Ислам Ф. // *Журн. аналит. хим.* 2004. Т. 59, № 2. С. 138-142.
18. Singleton V.L., Orthofer R., Lamuela-Raventós R.M. // *Methods Enzymol.* 1999. V. 299. P. 152-178.
19. Zhang, H., Xie, H., Chen, J., Zhang, S. // *Env. Sci. Tech.* 2015. V. 49, № 3, P. 1552–1558.

USE OF THE VOLINE – CHIOCALTEU REACTIVE FOR QUANTITATIVE DETERMINATION OF CEPHALOSPORINS

V.G. Alekseev

Tver state University

The possibility of using the standard method of spectrophotometric determination of organic substances using the Folin-Chiokalteu reagent for the analysis of dosage forms of cephalosporin antibiotics is shown. It was found that cefoperazone has a greater reducing ability with respect to the

Folin–Ciokalteu reagent than cefazolin, cefuroxime, cefotaxime and ceftazidime, due to the presence of a phenolic group.

Keywords: *quantitative determination of cephalosporins, Folin-Chiokalteu reagent*

Об авторе:

АЛЕКСЕЕВ Владимир Георгиевич – доктор химических наук, доцент, профессор кафедры неорганической и аналитической химии, ТвГУ. email: Alekseev.VG@tversu.ru

Поступила в редакцию 15 октября 2019 г.