

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я
НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМЕНІ О.О.БОГОМОЛЬЦЯ
ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ ФАКУЛЬТЕТ

Кафедра аналітичної, фізичної та колоїдної хімії

ВИПУСКНА КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

**на тему «КІЛЬКІСНЕ ТА ЯКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ БЕТА-ЛАКТАМНИХ
АНТИБІОТИКІВ ФАРМАКОПЕЙНИМИ ТА НЕФАРМАКОПЕЙНИМИ
МЕТОДАМИ АНАЛІЗУ»**

Виконала: здобувачка вищої освіти 6 курсу,
групи 881А

напряму підготовки 22 «Охорона здоров'я»

226 «Фармація, промислова фармація»

освітньої програми «Фармація»

Парамонова Вероніка Максимівна

Керівники: кандидатка хімічних наук,

доцентка Привалко Елеонора Генадіївна

старша викладачка Лисенко Тетяна Анатоліївна

Рецензент: кандидатка біологічних наук,

Доцентка Махиня Лариса Миколаївна

Київ – 2024 рік

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ.....	5
ВСТУП.....	6
РОЗДІЛ 1. КЛАСИФІКАЦІЯ ТА ХАРАКТЕРИСТИКА β -ЛАКТАМНИХ АКТИБІОТИКІВ	8
1.1. Пеніциліни.....	9
1.2. Цефалоспорини.....	12
1.3. Карбапенеми.....	15
1.4. Монобактами.....	16
РОЗДІЛ 2. ЗАСТОСУВАННЯ β -ЛАКТАМНИХ АКТИБІОТИКІВ ТА АНАЛІЗ РИНКУ	18
2.1. Застосування та аналіз ринку антибіотиків пеніцилінового ряду.....	18
2.1.1. Показання до застосування пеніцилінів.....	18
2.1.2. Протипоказання до застосування та побічні реакції на пеніциліни.....	19
2.1.3. Перелік препаратів пеніцилінового ряду.....	20
2.2. Застосування та аналіз ринку антибіотиків цефалоспоринового ряду.....	23
2.2.1. Показання до застосування цефалоспоринів.....	23
2.2.2. Протипоказання до застосування та побічні реакції на цефалоспорини.....	23
2.2.3. Перелік препаратів цефалоспоринового ряду.....	24
2.3. Застосування та аналіз ринку антибіотиків карбопенемів.....	26
2.3.1. Показання до застосування карбопенемів.....	26

2.3.2.	Протипоказання до застосування та побічні реакції на карбопенемі.....	26
2.3.3.	Перелік препаратів карбапенемів.....	27
2.4.	Застосування та аналіз ринку антибіотиків монобактамів.....	27
2.4.1.	Показання до застосування монобактамів.....	27
2.4.2.	Протипоказання до застосування та побічні реакції на монобактамі.....	28
2.4.3.	Перелік препаратів монобактамів.....	29
РОЗДІЛ 3. КІЛЬКІСНЕ І ЯКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ β -ЛАКТАМНИХ АКТИБІОТИКІВ		30
3.1.	Якісне та кількісне визначення пеніцилінів.....	30
3.1.1.	Якісне визначення бензилпеніциліну фармакопейними методами.....	30
3.1.2.	Кількісне визначення бензилпеніциліну фармакопейними методами.....	32
3.1.3.	Якісне визначення бензилпеніциліну нефармакопейними методами.....	33
3.1.4.	Кількісне визначення бензилпеніциліну нефармакопейними методами.....	35
3.2.	Якісне та кількісне визначення цефалоспоринів.....	37
3.2.1.	Якісне визначення цефтриаксону фармакопейними методами.....	37
3.2.2.	Кількісне визначення цефтриаксону фармакопейними методами.....	38

3.2.3.	Якісне визначення цефтриаксону нефармакопейними методами.....	39
3.2.4.	Кількісне визначення цефтриаксону нефармакопейними методами.....	41
	ВИСНОВКИ.....	42
	СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	43
	ДОДАТОК.....	47
	SUMMARY.....	49

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ ТА СКОРОЧЕНЬ

MRSA	- метицилін-резистентний стафілокок
ESBL	- бета-лактамаз расширенного спектра
AmpC	- клас C ампициліну
МО	- міжнародна одиниця
ХОЗЛ	- хронічне обструктивне захворювання легень
ПАЕ	- постантибіотичний ефект
MRCNS	- метицилін-резистентний <i>Staphylococcus aureus</i>
АПФ	- інгібітори ангіотензинперетворюючого ферменту
ФСЗ	- фармакопейні стандартні зразки
HPLC	- високоефективна рідина хроматографія
MS	- мас-спектрометрія
NMR	- ядерно-магнітна резонансна спектроскопія
ГС	- газова хроматографія
УФ	- ультрафіолетове випромінювання

ВСТУП

Актуальність теми. Щороку мільйони людей стикаються з інфекційними захворюваннями. Деякі захворювання прогресують швидко і можуть бути подолані без використання протимікробних засобів, тоді як інші ефективно лікуються антибіотиками, належать до групи бета-лактамів. Ці препарати володіють низькою токсичністю та високою клінічною ефективністю.

Походження протимікробних препаратів відзначається 1928 роком, коли Олександр Флемінг виявив, що стафілококи можуть бути знищені за допомогою звичайного цвілевого грибка. У ході довгих наукових досліджень вдалося створити антибіотики з групи бета-лактамів. Ключовою характеристикою цих антибактеріальних засобів є присутність бета-лактамного кільця в їх молекулярній структурі.

Ця група антибіотиків призначена для блокування клітинної стінки бактерій і виявляє найвищу ефективність проти грамнегативних мікроорганізмів. Клітинна стінка бактерій виконує різноманітні важливі функції, такі як захисна, транспортна та антигенна, тому вона є ключовою структурою для кожного бактеріального організму.

Антибіотики β -лактамного класу взаємодіють із бактеріальними клітинами, порушуючи синтез їхньої клітинної стінки, що спричиняє бактеріоліз. Однак з урахуванням зростаючого рівня резистентності бактерій виникає необхідність постійного вдосконалення та розширення антибіотичних препаратів для подолання цієї проблеми.

Мета і завдання дослідження: провести огляд літературних джерел, використовуючи методи інформаційного пошуку та аналізу літературних даних, з метою дослідження методів якісного та кількісного визначення β -лактамних антибіотиків фармакопейними та нефармакопейними методами аналізу.

Новизна та значення одержаних результатів: пошук та встановлення оптимальних, швидких та сучасних методів аналізу для впровадження у лабораторіях контролю лікарських засобів.

Апробація результатів дослідження: результатами роботи було опубліковано 1 тезу у збірнику міжнародної конференції (VI Міжнародна конференція «KyivLvivPharma-2023. Фармацевтична технологія та фармакологія в забезпеченні активного довголіття», 16–18 листопада 2023 року.)

Структура роботи: кваліфікаційна робота викладена на 50 сторінках друкованого тексту, містить 3 таблиці, 13 рисунків і складається з вступу, трьох розділів, списку використаних літератури (34 джерел), додатку та анотації.

РОЗДІЛ 1

КЛАСИФІКАЦІЯ ТА ХАРАКТЕРИСТИКА β -ЛАКТАМНИХ АНТИБІОТИКІВ

Щороку мільйони людей зазнають інфекційних захворювань. Деякі хвороби швидко розвиваються і не потребують використання протимікробних засобів, тоді як інші можуть бути ефективно лікувані лише антибіотиками з групи бета-лактамів. Ці препарати відрізняються низькою токсичністю та високою клінічною ефективністю [1].

Протимікробні препарати виникли у 1928 році завдяки дослідженням Олександра Флемінга, який помітив, що стафілококи знищуються від дії звичайного цвілевого грибка. Під час тривалих наукових досліджень вченими були створені антибіотики з ряду бета-лактамів. Визначальною особливістю цих антибактеріальних засобів є наявність бета-лактамного кільця в їхній молекулярній формулі [2].

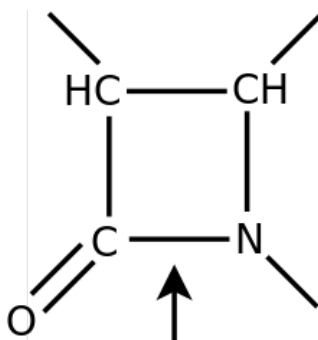


Рис. 1.1. Структура бета-лактамного кільця

Ця категорія антибіотиків спрямована на блокування клітинної стінки бактерій і найбільш ефективна проти грамнегативних мікроорганізмів. Клітинна стінка бактерій виконує різноманітні важливі функції, такі як захисна, транспортна та антигенна, тому вона представляє собою ключову структуру для кожного бактеріального організму [2].

До антибіотиків цієї групи відносяться:

- 1) Пеніциліни, які отримують з колоній цвілевих грибів.
- 2) Цефалоспорини, що мають схожу структуру з пеніцилінами, але можуть впоратися з мікроорганізмами, стійкими до пеніцилінів.

3) Карбапенеми, які відрізняються більш стійкою до бета-лактамаз структурою.

4) Монобактами, що є ефективними тільки проти грампозитивних бактерій [1].

1.1. Пеніциліни

Бета-лактами цього типу були відкриті Олександром Флемінгом. Бактеріолог залишив кавалок пліснявого хліба поруч із колонією стафілококів і відзначив, що поруч із цвіллю відсутні хвороботворні мікроорганізми. Чистий антибіотик був синтезований тільки у 1938 році. Пеніцилін є абсолютно безпечним для ссавців, оскільки їхній організм не містить муреїну, але деякі люди можуть мати вроджену непереносимість до цього засобу. Антибактеріальні препарати поділяються на природні та штучно синтезовані [1].

Пеніциліни представляють собою групу антибактеріальних препаратів, які виробляються мікроорганізмами, виділеними з рослинних і тваринних тканин, а також їхні напівсинтетичні та синтетичні аналоги, що специфічно пригнічують життєдіяльність чутливих до них мікроорганізмів.

Основу структури пеніциліну складає 6-амінопеніциланова кислота (6-АПК), яка включає тiazолідиновий (A) і β -лактамний (B) цикли [3].

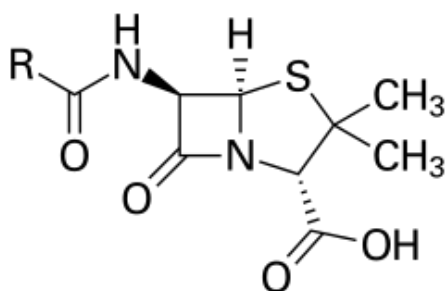


Рис. 1.2. Структурна формула пеніциліну

Пеніциліни представляють собою білі кристалічні речовини із гірким смаком. Солі пеніциліну з натрієм або калієм легко розчиняються у воді, але важко розчиняються у органічних розчинниках і часто мають властивість гігроскопічності. Вільні кислоти, такі як новокаїнова сіль бензилпеніциліну, малорозчинні у воді і легко розчиняються у органічних розчинниках.

Молекули пеніциліну містять три асиметричні атоми вуглецю, і всі препарати цієї групи мають однакову просторову конфігурацію.

Основною хімічною властивістю пеніциліну є їх здатність до гідролізу, який супроводжується розкриттям лактамного кільця. Напрямок реакції та природа утворених продуктів в значній мірі залежать від рН середовища [3].

Антибіотики пеніцилінового ряду поділяються на наступні групи:

1) Природні пеніциліни, такі як бензилпеніцилін та феноксиметилпеніцилін, виявляють активність проти різних мікроорганізмів. Специфічна активність охоплює стрептококи групи А (*Streptococcus pyogenes*), інші β -гемолітичні стрептококи (групи В, С, G), актиноміцет (*Actinomyces*), лептоспіроз, анаеробні коки, такі як *Clostridium*, *Neisseria meningitidis*, сифіліс, *Listeria monocytogenes*, *Pasteurella multocida* (наприклад, випадки інфікування рваних ран після укусів собак або котів), і бешиха (*Erysipelotrix*). Однак їх активність відносно інших важливих видів бактерій, таких як *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus viridans*, *Neisseria gonorrhoeae*, може варіюватися. Стафілококи, як правило, проявляють стійкість, викликану широкою продукцією β -лактамаз.

2) Антистафілококові напівсинтетичні пеніциліни, зокрема клоксацилін (ізоксазоли), мають високу ефективність проти стафілококових інфекцій і вважаються першим вибором для їх лікування. Ці препарати виявляють стійкість до стафілококових β -лактамаз. Однак вони неактивні відносно метицилін-резистентних стафілококів (MRSA), які стійкі до всіх β -лактамів, а також ентерококів, грамнегативних паличок, пневмококів, *L. monocytogenes* та анаеробів.

3) Амінопеніциліни, такі як ампіцилін і амоксицилін, мають активність, аналогічну пеніциліну G, але вони також ефективні проти грамнегативних паличок з роду *Haemophilus* та родини *Enterobacteriaceae*, які не виробляють β -лактамаз. Однак вони виявляють активність і проти *Helicobacter pylori*, особливо в комбінованій терапії. Амінопеніциліни демонструють вищу активність проти ентерококів у порівнянні з пеніциліном. Ампіцилін

вважається ліком першого вибору для лікування інфекцій, спричинених *L. monocytogenes*, *S. agalactiae* та *E. faecalis*. Амоксицилін також використовується для лікування Лайм бореліозу на стадії мігруючої еритеми. Важливо відзначити, що великий відсоток стійких штамів спостерігається серед паличок *E. coli*, *Salmonella spp.* та *Shigella sonnei*. Бактерії з родів *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Proteus* (індолпозитивні), *Pseudomonas*, *Acinetobacter* є нечутливими до цих антибіотиків. Комбінація амінопеніцилінів із аміноглікозидами демонструє синергізм, що робить їх ефективними у лікуванні тяжких інфекцій.

4) Карбоксипеніциліни, такі як тикарцилін, проявляють активність проти *P. aeruginosa*, але вони піддаються гідролізу внаслідок дії β -лактамаз паличок *Enterobacteriaceae*, за умови, що використовується інгібітор.

5) Уреїдопеніциліни, зокрема піперацилін, відзначаються розширеною активністю проти грамнегативних паличок. Зазвичай їх використовують для лікування серйозних нозокоміальних інфекцій, таких як легеневі, очеревинні та кров'яні інфекції, що викликані *P. aeruginosa*. Часто це відбувається в поєднанні з аміноглікозидом. Крім того, цей клас антибіотиків також проявляє активність проти ентерококів.

б) Пеніциліни, які містять інгібітори β -лактамаз:

а) Амоксицилін із клавулановою кислотою проявляє активність, аналогічну амоксициліну, та додатково виявляє ефективність проти штамів, які виробляють β -лактамази, включаючи ті, що мають розширений спектр дії (ESBL) та цефалоспориназу (AmpC), а також відноситься до неферментуючих паличок, таких як *Pseudomonas* і *Acinetobacter*.

б) Ампіцилін із сульбактамом має активність, аналогічну амоксициліну з клавулановою кислотою. Сульбактам проявляє активність проти паличок *Acinetobacter*. Застосування через травний тракт недостатньо ефективне (рекомендується використовувати парентерально).

в) Тикарцилін із клавулановою кислотою виявляє розширення спектру дії на штами паличок родини *Enterobacteriaceae*, що виробляють різні β -

лактамази. Він проявляє високу ефективність проти *Stenotrophomonas maltophilia* та *Bacteroides fragilis*, але менше ефективний проти бактерій, які продуцують ESBL та AmpC. Рекомендується головним чином для лікування нозокоміальних інфекцій.

г) Піперацилін із тазобактамом має більший спектр дії, ніж тикарцилін із клавулановою кислотою. Його ефективність проти *P. aeruginosa* порівнюється з піперациліном і покращується в комбінації з аміноглікозидом. Він активний проти ентерококів, бактерій роду *Bacteroides* та деяких кишкових паличок. Застосовується при нозокоміальних інфекціях, а також при бактеріємії/сепсисі та нейтропенічній лихоманці [4].

Серед антибактеріальних препаратів вважають найефективнішими напівсинтетичні пеніциліни, оскільки вони призводять до гибелі більшості грампозитивних і грамнегативних бактерій. Ці препарати впливають на білки, які зв'язані з пеніциліном у мікроорганізмів, що є ключовим компонентом клітинної стінки. Після введення пеніциліну швидко проникають у легені, нирки, слизові оболонки кишечника і репродуктивних органів, кістковий мозок і кістки (при синтезі кальцію), а також в плевральній і перитонеальній рідині [1].

1.2. Цефалоспорини

Препарати цього типу, що входять до групи бета-лактамів, відрізняються надзвичайною стійкістю до бета-лактамаз, що суттєво підвищує їхню протимікробну ефективність. Цефалоспорини були відкриті Джузеппе Бротзу в 1948 році, коли він виявив, що *Cephalosporium acremonium* виділяє речовини, що знищують збудників тифу. Цефалоспорини проявляють ефективність у боротьбі з інфекціями, спричиненими стрептококами та стафілококами.

Відносно патогенних мікроорганізмів ці бета-лактами впливають подібно до пеніцилінів. Цефалоспорини добре всмоктуються з шлунково-кишкового тракту, при цьому їхня біодоступність може досягати 95%. При вживанні їжі може спостерігатися сповільнення процесу всмоктування.

Цефалоспорины проникають у всі органи та тканини, за винятком передміхурової залози, і можна виявити у високих концентраціях у жовчі та внутрішньоочній рідині [1].

Цефалоспорины є антибіотиками бета-лактамного класу, основним елементом хімічної структури яких є 7-аміноцефалоспоринова кислота. Їхня молекулярна маса знаходиться у діапазоні 400–450 МО, вони розчинні у воді, мають високу стійкість до рН і температурних змін. Хімічно та фармакологічно цефалоспорины аналогічні пеніцилінам. У їхній структурі присутні бета-лактамне кільце, дигідротіазинове кільце та бічні ланцюги [5].

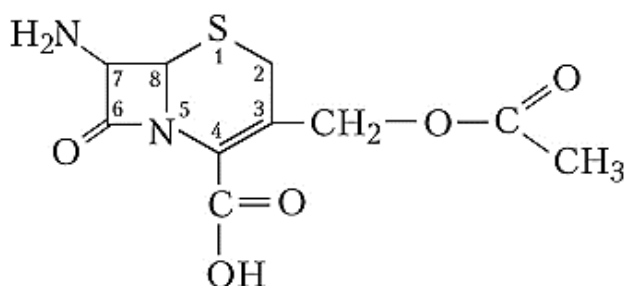


Рис. 1.3. Структурна формула цефалоспорины

Антибіотики цефалоспоринового ряду поділяються на наступні групи:

1) Цефалоспорины для парентерального введення із помірною активністю, які піддаються гідролізу внаслідок дії більшості β-лактамаз, що виробляють кишкові палички, відносяться до першого покоління, наприклад, цефазолін. Їх активність переважно використовується для профілактичних цілей у хірургічних втручаннях та іноді для лікування інфекцій, спричинених *S. aureus* та стрептококами; вони неактивні щодо коагулазонегативних стафілококів (*S. epidermidis*).

2) Пероральні цефалоспорины з помірною активністю, які є стійкими до впливу деяких β-лактамаз, що виробляються кишковими паличками, можуть бути класифіковані на різні покоління.

а) I покоління включає цефрадин, цефалексин та цефадроксил. Ці препарати виявляють достатню активність проти *S. aureus*, стрептококів та певних кишкових паличок, викликаючи нозокоміальні інфекції. Застосовуються для лікування інфекцій верхніх дихальних шляхів,

сечовивідних шляхів, шкіри та підшкірної клітковини. Цефадроксил вважається найбільш ефективним для стрептококового тонзиліту, а цефалексин застосовується для продовження терапії (секвенційна терапія) інфекцій кісток та суглобів, спричинених *S. aureus* (з високою дозою).

б) II покоління представлено цефаклором і цефпрозілом. Ці препарати менше ефективні при лікуванні інфекцій, спричинених *S. pneumoniae*, і мають меншу активність порівняно з цефуроксимом проти штамів *H. influenzae* та *M. catarrhalis*, які виробляють β -лактамази. Їх вибір обумовлено результатами антибіотикограми у пацієнтів із гіперчутливістю до пеніциліну та амоксициліну при лікуванні загострень ХОЗЛ, неускладнених інфекцій сечової системи, а також гострого бактеріального гаймориту (лише при інфікуванні *H. influenzae* або *M. catarrhalis*).

в) Цефаміцини та цефуроксим (II покоління): доступний тільки цефуроксим як для перорального, так і для парентерального введення. Вони активні проти стрептококів (зокрема, *S. pneumoniae*, чутливих до пеніциліну), *H. influenzae* та *M. catarrhalis* (що утворюють β -лактамази), *E. coli*, *N. gonorrhoeae* та спірохет з роду *Borrelia*.

3) Цефалоспорини третього покоління, такі як цефотаксим та цефтріаксон, відзначаються високою ефективністю проти багатьох штамів, які продукують β -лактамази. Їх активність проявляється особливо високо проти таких мікроорганізмів, як *S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *N. meningitidis*, *N. gonorrhoeae*, *E. coli*, палички роду *Klebsiella*, *Proteus*, *Salmonella* та інших з родини *Enterobacteriaceae* (неактивні відносно штамів, які виробляють ESBL, AmpC). Проте вони не виявляють активності проти *P. aeruginosa*. Також вони ефективні в лікуванні бореліозу в разі ураження центральної нервової системи.

4) Щодо пероральних цефалоспоринів третього покоління, таких як цефетамет, цефіксим, цефподоксим та цефтібутен, вони відрізняються високою активністю проти кишкових паличок, але їх ефективність проти грампозитивних коків є недостатньою.

5) Цефалоспорини високої активності проти *P. aeruginosa*, а також з різною активністю щодо інших бактерій, можна класифікувати за поколіннями:

а) Цефалоспорини третього покоління, такі як цефтазидим і цефоперазон, відрізняються високою активністю проти 70% штамів *P. aeruginosa*. Цефтазидим є лікарським засобом вибору для лікування інфекцій, спричинених чутливими до цього антибіотика штамми *P. aeruginosa*, хоча менше активний проти грампозитивних коків у порівнянні з цефтріаксоном та цефотаксимом. Обидва гідролізуються ферментами ESBL, AmpC і карбапенемази. Щодо цефоперазону, він є активним проти менше ніж 30% штамів *P. aeruginosa*.

б) Цефалоспорин четвертого покоління, такий як цефепім, відрізняється високою активністю проти *P. aeruginosa* та кишкових паличок, які виробляють β -лактамази типу AmpC. Однак він не є достатньо ефективним проти штамів, які утворюють ESBL і карбапенемазу. Відносно *S. pneumoniae* активність подібна до цефтріаксону.

в) Цефалоспорини п'ятого покоління, зокрема цефтаролін, проявляють активність проти штамів MRSA і *S. pneumoniae*, стійких до пеніциліну, але неактивні проти грамнегативних паличок, що утворюють ESBL [4].

1.3. Карбапенеми

Карбапенеми представляють собою клас антибіотиків β -лактамного типу, які включають у свою структуру β -лактамне кільце, не прямо пов'язане з тiazолідиновим кільцем [6].

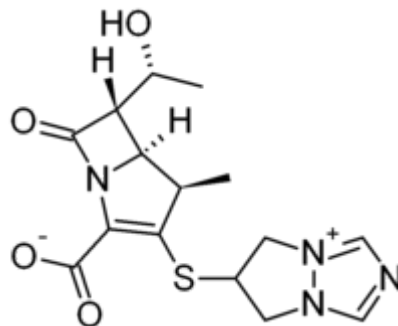


Рис. 1.4. Структурна формула карбапенемів

Через 40 років після відкриття пеніцилінів вчені виявили збільшення випадків резистентності до антимікробних препаратів цієї групи. В результаті інтенсивних досліджень у 1985 році був відкритий Іміпенем, який належить до групи карбапенемів разом із препаратами Циластатин, Дорипенем, Фаропенем, Меропенем і Ертапенем. На сьогодні ці препарати продовжують використовуватися в медицині для лікування різних інфекцій.

Карбапенеми володіють потужною бактерицидною дією, порушуючи синтез клітинних стінок бактерій. Швидко проникаючи через зовнішню мембрану грамнегативних мікроорганізмів, вони забезпечують виражений постантибіотичний ефект (ПАЕ). Ці бета-лактамі антибіотики добре розподіляються в організмі, однак впливають на всі тканини і секрети рівномірно [1].

Іміпенем (поданий у препараті разом із циластатином та меропенем) проявляє найширший спектр дії серед всіх антибіотиків. Він ефективний проти різних грампозитивних і грамнегативних бактерій, включаючи ті, які виробляють ESBL, а також анаеробів. Ертапенем активний у відношенні паличок *Enterobacteriaceae*, але не ефективний проти *P. aeruginosa* та *Acinetobacter spp.* Ці антибіотики рекомендується застосовувати для лікування інфекцій, спричинених бактеріями, що проявляють стійкість до інших класів антибіотиків. Однак вони не ефективні проти штамів, які виробляють карбапенемази, а також проти ампіциліну-резистентних ентерококів, метицилін-резистентних стафілококів (MRSA, MRCNS), *Enterococcus faecium*, *C. difficile*, паличок роду *Stenotrophomonas* та *Burkholderia* [4].

1.4. Монобактами

Монобактами представляють собою групу β-лактамічних антибіотиків. Особливість структури молекули полягає в тому, що їхня основа представлена простим β-лактамічним кільцем, яке, на відміну від пеніцилінів і цефалоспоринів, не пов'язане з тiazолідиновим чи дигідротіазиним кільцем. Молекулярна структура забезпечує їх високу стійкість до впливу β-лактамаз [7].

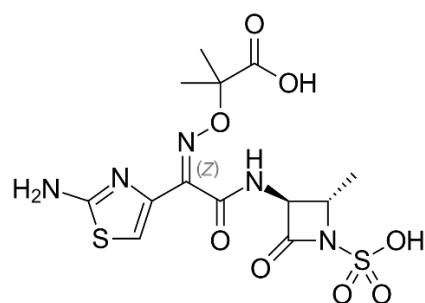


Рис. 1.5. Структурна формула монобактамів

Особливістю цих антибіотиків є повна стійкість до лактамаз, які продукується грамнегативною аеробною флорою. Цю стійкість вдалося досягти, вилучивши ароматичне кільце з монобактамів. Синтез монобактамів штучним шляхом вченим був успішно виконаний у 1986 році. До цієї групи антибіотиків відноситься Азтреонам. Зараз його застосовують вкрай рідко через вузький спектр дії і високу чутливість до контакту зі стафілококами, бактероїдами та бета-лактамазами розширеного спектру дії.

Монобактами ефективно борються з ентеробактеріями, включаючи нозокоміальні штами, які виявляють стійкість до цефалоспоринів. Ці антибіотики швидко розподіляються по всіх тканинах організму, проникають через плаценту та потрапляють у грудне молоко. Речовини практично не піддаються метаболізму в печінці і виводяться нирками на 70-75% у незмінному стані. При нормальній роботі сечовидільної системи період напіввиведення антибіотиків становить 2 години. У разі цирозу ліки виводяться з організму протягом 3-3,5 годин, а при нирковій недостатності - за 9 годин [1].

Представником монобактамів є азтреонам. Цей антибіотик виявляє активність виключно проти аеробних грамнегативних бактерій, зокрема *P. Aeruginosa* [4].

РОЗДІЛ 2

ЗАСТОСУВАННЯ β -ЛАКТАМНИХ АКТИБІОТИКІВ ТА АНАЛІЗ РИНКУ

Бета-лактамі антибіотики є широко використовуваними лікарськими засобами для лікування бактеріальних інфекцій. Ця класифікація включає пеніциліни, цефалоспорини, карбапенеми та монобактами. Основне застосування цих антибіотиків охоплює наступні аспекти.

Лікування бактеріальних інфекцій: бета-лактамі антибіотики використовуються для лікування широкого спектру бактеріальних інфекцій, включаючи респіраторні, сечостатеві, шкірні, м'які тканини та інші види інфекцій.

Профілактика інфекцій: вони можуть також використовуватися для профілактики інфекцій перед хірургічними втручаннями або у випадках імунодепресії.

Лікування нозокоміальних інфекцій: бета-лактамі антибіотики застосовуються для лікування інфекцій, які виникають в лікувальних закладах (нозокоміальні інфекції), такі як пневмонія, сепсис та інші ускладнені стани.

Лікування відомих штамів бактерій: враховуючи різноманітність бета-лактамних антибіотиків, їх використовують для лікування конкретних видів бактерій, таких як стафілококи, стрептококи, кишкові палички, гонококи тощо.

2.1. Застосування та аналіз ринку антибіотиків пеніцилінового ряду

2.1.1. Показання до застосування пеніцилінів

Пеніциліни призначаються для лікування інфекцій, спричинених різноманітними грампозитивними і грамнегативними бактеріями, такими як палички, коки, спірохети, синьогнійна паличка та інші. Сучасно вони використовуються у емпіричній терапії, коли точний діагноз ще не встановлено. У випадках, коли потрібно конкретизувати лікування, лікарі нерідко вдаються до призначення напівсинтетичних пеніцилінів. Основні показання для застосування включають інфекції крові, бронхіальне запалення,

остеомієліт, менингококкові інфекції, пневмонію, гнійний плеврит, дифтерію, тонзиліт, інфекційно-запальні захворювання у вухах, ротовій порожнині та носі.

При проблемах з функціонуванням печінки, нирок або серця, лікарі рекомендують застосовувати препарати в зменшених дозах. Максимальна дитяча доза обмежена 300 мг/добу. Важливо враховувати, що бета-лактамі антибіотики слід вживати тільки під контролем, оскільки бактерії можуть швидко розвивати стійкість до них. Недотримання цього правила може ставити пацієнта перед ризиком серйозних ускладнень [1].

2.1.2. Протипоказання до застосування та побічні реакції на пеніциліни

У разі індивідуальної непереносимості використання пеніцилінів для лікування прогресуючих інфекцій є нерекомендованим. У випадку осіб із діагнозом епілепсії препарат не застосовується в область між окістям і оболонкою спинного мозку. На відзначені побічні ефекти, які рідко проявляються при дотриманні рекомендованих доз:

- 1) Розлади шлунково-кишкового тракту (нудота, блювота, пронос, рідкий стілець).
- 2) Слабкість, сонливість, підвищена дратівливість.
- 3) Кандидоз ротової порожнини або піхви.
- 4) Дисбактеріоз.
- 5) Затримка води в організмі та набряки.

У пеніцилінів є особливості, які можуть призвести до небажаних ефектів. Заборонено змішувати ці антибіотики в одному шприці або інфузійній системі з аміноглікозидами через їхню несумісність за фізико-хімічними властивостями. При комбінуванні ампіцилінов з алопуринолом збільшується ризик алергічної реакції.

За використання підвищених доз бета-лактамічних антибіотиків із калійзберігаючими діуретиками, інгібіторами АПФ та препаратами калію суттєво зростає ризик гіперкаліємії. Під час лікування інфекцій, спричинених синьогінною паличкою, пацієнтам рекомендується тимчасово відмовитися від

антикоагулянтів, антиагрегантів та тромболітиків. Невиконання цього правила може призвести до підвищеної кровоточивості.

Практично всі антибіотики знижують ефективність пероральних контрацептивів через порушення ентерогепатичної циркуляції естрогенів. Метотрексат під впливом пеніцилінів виводиться з організму повільніше, що може вплинути на вироблення фолієвої кислоти. Комбінація бета-лактамних препаратів із сульфаніламидами не рекомендується, оскільки це може знизити бактерицидний ефект пеніцилінів та значно збільшити ймовірність алергічної реакції [1].

2.1.3. Перелік препаратів пеніцилінового ряду

Усі види пеніцилінів можна класифікувати на природні та напівсинтетичні. Перша група включає антибіотики, які мають вузький спектр дії та ефективні лише проти грампозитивних бактерій і коків. Напівсинтетичні пеніциліни отримують штучним шляхом з конкретних штамів цвілевих грибів. У медицині ці пеніциліни поділяються на різні підгрупи і підтипи, що наведені у табл. 2.1.

Перелік препаратів пеніцилінового ряду, представлені на ринку України

Таблиця 2.1

Назва	Підгрупа	Підтип	Приклад медикаментів
Бензилпеніцилін	Природні	–	Бензилпеніцилін порошок для розчину для ін'єкцій (ПАТ «Київмедпрепарат», Україна) [8]. Біцилін®-3 порошок для приготування суспензії для ін'єкцій (Корпорація Артеріум, Україна) [9]. Пеніцилін G натрієва сіль порошок для приготування ін'єкційного розчину (Sandoz GmbH, Австрія) [10].
Феноксиметилпеніцилін	Природні	–	Оспен гранули для приготування суспензії для перорального застосування (Sandoz GmbH, Австрія) [11].
Оксацилін	Напівсинтетичні	Пеніциліназностабільні	Оксацилін порошок для приготування розчину для інфузій (Корпорація Артеріум, Україна) [12].
Тикарцилін		Карбеніциліни	Тиментин порошок для розчину для інфузій

			(GlaxoSmithKline Pharmaceuticals S.A., Великобританія) [13].
Піперацилін		Уреїдопеніциліни	Піперацилін-тазобактам-Тева порошок для розчину для інфузій (Teva Pharmaceutical Industries Ltd, Ізраїль) [14]. Рефлекс порошок для розчину для інфузій (ТОВ Юрфя-Фарм, Україна) [15].
Амоксицилін		Амінопеніциліни	Амоксиклав порошок для розчину для ін'єкцій (Sandoz GmbH, Австрія) [16]. Амоксил-К таблетки (Корпорація Артеріум, Україна) [17].

2.2. Застосування та аналіз ринку антибіотиків цефалоспоринового ряду

2.2.1. Показання до застосування цефалоспоринів

Ці бета-лактамі антибіотики призначаються медичними фахівцями лише тоді, коли визначені збудники запалення, і їх чутливість до препаратів встановлена. Цефалоспорины п'ятого покоління проявляють ефективність не лише в лікуванні інфекцій шкіри, але й у випадках ураження суглобів і кісток. При неконтрольованому прийомі ліків пацієнтом може швидко розвинути стійка антибіотикорезистентність. Показання до застосування включають:

- стрептококовий тонзиллофарингіт;
- пневмонію;
- інфекції дерми і м'яких тканин;
- гострий синусит;
- загострення хронічного бронхіту;
- пієлонефрит у вагітних і годуючих жінок, гострий цистит і пієлонефрит у дітей;
- менінгіт;
- інтраабдомінальні інфекції;
- сепсис [1].

2.2.2. Протипоказання до застосування та побічні реакції на цефалоспорины

Не слід застосовувати цефалоспорины у випадку підвищеної чутливості до бета-лактамічних препаратів. При частому внутрішньовенному введенні цих препаратів пацієнти можуть відчувати підвищення температури тіла та м'язову слабкість. Важливо уникати споживання алкоголю під час лікування цефалоспорины, оскільки це може викликати сильну інтоксикацію організму після прийому бета-лактамічного препарату цієї групи. При тривалому застосуванні антибіотиків можуть виникати наступні побічні реакції:

- кропив'янка, мультиформна еритема;

- кандидоз порожнини рота і піхви;
- підвищення активності трансаміназ, псевдохолелітіаз, холестаза;
- болі в животі, нудота, блювання, пронос, псевдомембранозний коліт;
- легка лихоманка;
- судоми у пацієнтів із захворюваннями сечовивідних шляхів і нирок.

Антациди значно знижують всмоктування пероральних цефалоспоринів шлунково-кишковим трактом, тому інтервал між прийомами цих препаратів повинен бути не менше 2 годин. Одночасний застосування антибіотиків із засобами антиагрегації та антикоагулянтами збільшує ризик кровотеч у шлунково-кишковому тракті. Коли цефалоспорини комбінуються з петлевими діуретиками або аміноглікозидами у хворих з нирковою недостатністю, існує підвищений ризик нефротоксичності цих препаратів [1].

2.2.3. Перелік препаратів цефалоспоринового ряду

На сьогоднішній день існує п'ять поколінь цефалоспоринів. Кожне нове покоління препаратів проявляє вищу ефективність порівняно з попереднім, але при цьому можуть виникати специфічні небажані реакції при тривалому використанні останніх синтезованих засобів. Наприклад, цефалоспорини 5 покоління можуть негативно впливати на процес кровотворення. Офіційно ці антибіотики розділені на підгрупи, що наведені у табл. 2.2.

Перелік препаратів цефалоспоринового ряду, представлені на ринку України

Таблиця 2.3

Назва	Підгрупа	Підтип	Приклад медикаментів
Цефазолін	1 покоління	Внутрішньом'язово	Цефазолін порошок для розчину для ін'єкцій (Корпорація Артеріум, Україна) [18].
Цефадроксил		Ентерально	Цефадроксил-Здоров'я капсули (ТОВ Здоров'я) [19].
Цефуроксим	2 покоління	Внутрішньом'язово	Цефуроксим-Дарниця порошок для розчину для ін'єкцій (ПрАТ «Фармацевтична фірма «Дарниця», Україна) [20].
Цефотаксим	3 покоління	Внутрішньом'язово	Цефотаксим порошок для розчину для ін'єкцій (Лекхім, Україна) [21].
Цефтибутен		Ентерально	Цедекс капсули (MSD, США) [22].
Цефепім	4 покоління	Внутрішньом'язово	Цефепім порошок для розчину для ін'єкцій (Лекхім, Україна) [23].
Цефтаролин	5 покоління	Внутрішньом'язово	Зінфоро порошок для розчину для інфузій (AstraZeneca, Швейцарія) [24].

2.3. Застосування та аналіз ринку антибіотиків карбопенемів

2.3.1. Показання до застосування карбопенемів

Ці антибіотики застосовуються виключно шляхом введення внутрішньовенно. У домашніх умовах їх майже не використовують через цей метод введення. Карбапенеми призначаються госпіталізованим пацієнтам для лікування різних видів інфекцій, таких як:

- менінгіт;
- абсцес легені;
- ендокардит;
- сепсис;
- зараження крові;
- запалення оболонки серця і м'яких тканин;
- лихоманка;
- інтраабдомінальні інфекції;
- інфекції органів малого таза;
- інфекційні ураження кісток і суглобів [1].

2.3.2. Протипоказання до застосування та побічні реакції на карбопенеми

Безпеку цієї категорії речовин підтвердили дослідження, проведені протягом періоду з 1985 по 1997 роки. Карбапенеми виводяться нирками в незмінному вигляді, тому при нирковій недостатності лікарі призначають їх у зменшених дозах. Протипоказані ці протимікробні препарати у випадку алергії на ціластин. У вагітності також рекомендується утримуватися від прийому антибіотиків цього типу. Пацієнтам старше 65 років небажано вживати карбапенеми, оскільки вони можуть викликати судоми. Бета-лактамі препарати цього типу можна комбінувати з іншими бета-лактамами. Серед побічних ефектів карбапенемів вказують на:

- висип, кропив'янку, набряк Квінке, бронхоспазм;
- флебіт, тромбофлебіт;
- глосит, гіперсалівацію, нудоту, блювання;

- запаморочення, сплутаність свідомості, тремор кінцівок, судоми;
- гіпотензію (виникає при швидкому внутрішньовенному введенні) [1].

2.3.3. Перелік препаратів карбапенемів

Карбапенеми - це клас антибіотиків бета-лактамного типу, які володіють широким спектром дії проти бактерій. Їх можна класифікувати за кількома основними критеріями, такими як покоління, хімічна структура та спектр дії.

Перше покоління: Препарати цього покоління включають іміпенем.

Друге покоління: Меропенем, ертапенем, дорипенем.

У табл. 2.3. наведені приклади медичних засобів, що містять карбапенеми.

Перелік препаратів карбапенемів, представлений на ринку України

Таблиця 2.3

Назва	Підгрупа	Приклад медикаментів
Іміпенем	1 покоління	Імібацид порошок для розчину для інфузій (Борщагівський ХФЗ, Україна) [25].
Меропенем	2 покоління	Аріс порошок для розчину для інфузій (ТОВ «Ранбаксі Фармасьютікалс Україна», Україна) [26].
Ертапенем		Інванз ліофілізат для приготування розчину для ін'єкцій (MSD, США) [27].

2.4. Застосування та аналіз ринку антибіотиків монобактамів

2.4.1. Показання до застосування монобактамів

Цей препарат використовують виключно за допомогою внутрішньовенного введення. З урахуванням обмеженого спектру дії монобактамів, лікарі при призначенні лікування серйозних інфекцій рекомендують використовувати Азтреонам разом із бета-лактамами

антимікробними препаратами, ефективними проти грампозитивних коків і анаеробів. Індикації для використання антибіотиків цього типу включають:

- інфекції нижніх дихальних шляхів;
- інтраабдомінальні інфекції;
- сепсис;
- інфекції сечовивідних шляхів;
- інфекційні ураження шкіри, кісток і м'яких тканин.

Лікарі обережно призначають цей вид бета-лактамних препаратів літнім людям старше 65 років через природне зниження функції нирок у цільовій групі. У таких випадках може знадобитися коригування дози. При цирозі концентрацію антибіотика зменшують на 25% через збільшений період напіввиведення. Монобактами можуть впливати на показники крові, спричиняючи позитивну реакцію Кумбса [1].

2.4.2. Протипоказання до застосування та побічні реакції на монобактами

Антибіотики не призначають у випадках індивідуальної непереносимості чи алергії. Пацієнти з підвищеною чутливістю до пеніциліну можуть використовувати монобактами у невеликих кількостях, але у випадку реакції на цефалоспорини також рекомендується утриматися від використання цього типу бета-лактамних препаратів. Введення антибіотика може викликати такі небажані ефекти у пацієнтів:

- жовтяниця, гепатит;
- запаморочення, головний біль, сплутаність свідомості, безсоння;
- висип, кропив'янка;
- біль і набряклість у місці введення препарату.

Не рекомендується комбінувати монобактами з карбапенемами через можливий антагонізм. Також не слід змішувати азтреонам з іншими препаратами в одному шприці або інфузійній системі. У випадку використання цього типу антибіотиків у дітей можуть бути більш виражені

небажані реакції, тому в разі їх виникнення дитина або її батьки повинні негайно звернутися до лікаря [1].

2.4.3. Перелік препаратів монобактамів

Єдиним представником монобактами є азтреонам.

Азтреонам має потужну бактерицидну активність проти широкого спектру грамнегативних аеробних збудників. На відміну від більшості бета-лактамних антибіотиків, він не є індуктором активності бета-лактамази *in vitro*. Азтреонам, як правило, активний *in vitro* проти резистентних аеробних мікроорганізмів, чий бета-лактамази гідролізують інші антибіотики.

На ринку України представлений лише один препарат азтреонаму – Азеонам порошок для розчину для ін'єкцій або інфузій виробника Ананта Медикаер Лтд [28].

РОЗДІЛ 3.1

КІЛЬКІСНЕ І ЯКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ β -ЛАКТАМНИХ АКТИБІОТИКІВ

3.1. Якісне та кількісне визначення пеніцилінів

Бензилпеніциліну калієва сіль містить не менше 96,0 % і не більше 101,0% калію (2S,5R,6R)-3, 3-диметил-7-оксо-6- [(фенілацетил)аміно] -4-тіа-1-азабіцикло[3.2.0] гептан -2- карбоксилату, у перерахунку на суху речовину. Субстанція продукується певними штамми *Penicillium notatum* або спорідненими організмами , або одержується будь-якими іншими способами [29].

3.1.1. Якісне визначення бензилпеніциліну фармакопейними методами

Перша ідентифікація: А, D .

Друга ідентифікація: В, С, D.

А. Інфрачервоний спектр поглинання субстанції має відповідати спектру ФСЗ бензилпеніциліну калієвої солі.

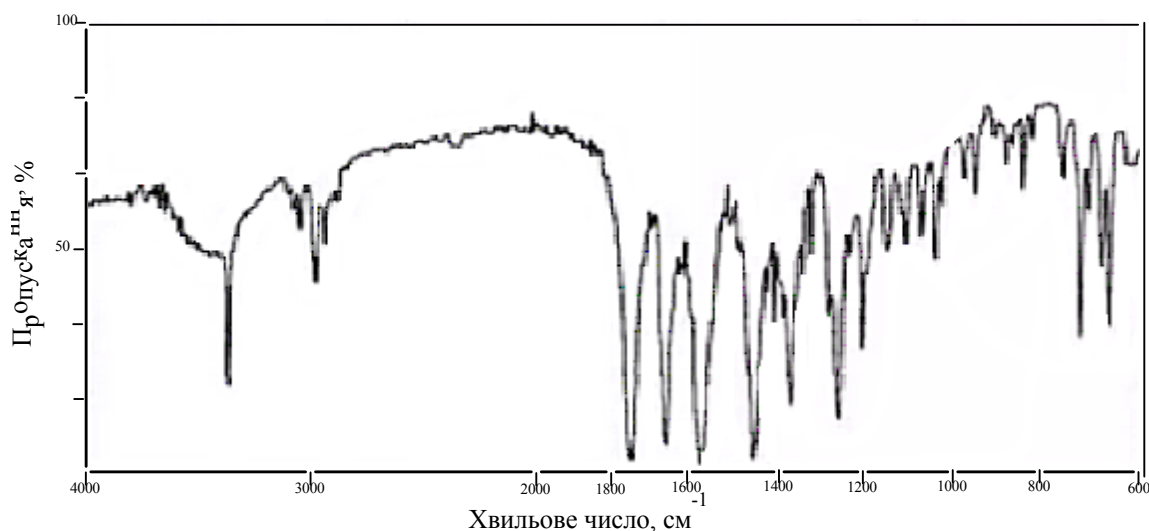


Рис. 3.1. Інфрачервоний спектр поглинання субстанції
ФСЗ бензилпеніциліну калієвої солі

В. Визначення проводять методом тонкошарової хроматографії, використовуючи як тонкий шар силікагель силанізований. Випробовуваний розчин 25 мг субстанції розчиняють у 5 мл води [29].

Розчин порівняння (а). 25 мг ФСЗ бензилпеніциліну калієвої солі розчиняють у 5 мл води.

Розчин порівняння (b). 25 мг ФСЗ бензилпеніциліну калієвої солі і 25 мг ФСЗ феноксиметилпеніциліну калієвої солі розчиняють у 5 мл води.

На лінію старту хроматографічної пластинки наносять 1 мкл (5 мкг) випробовуваного розчину, 1 мкл (5 мкг) розчину порівняння (а), 1 мкл (5 мкг) бензилпеніциліну калієвої солі і 5 мкг феноксиметилпеніциліну калієвої солі) розчину порівняння (b).

Пластинку помішають у камеру із сумішшю розчинників ацетон Р-розчин 154 г/л амонію ацетату, рН якого доведено до 5,0 кислотою оцтовою льодяною (30 : 70). Коли фронт розчинників пройде 15 см від лінії старту, пластинку виймають із камери, сушать на повітрі й витримують у парі йоду до проявлення плям.

Хроматограму переглядають при денному світлі.

На хроматограмі випробовуваного розчину має виявлятися основна пляма на рівні основної плями на хроматограмі розчину порівняння (а), відповідна їй за розміром і забарвленням.

Результати аналізу вважаються вірогідними якщо на хроматограмі розчину порівняння (b) виявляються дві чітко розділені плями [29].

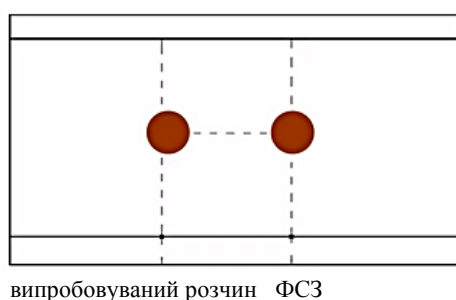


Рис. 3.2. Хроматограма випробовуваного розчину та ФСЗ

С. Близько 2 мг субстанції помішають у пробірку заввишки близько 150 мм і діаметром 15 мм і змочують 0,05 мл води. Потім додають 2 мл розчину формальдегіду в кислоті сірчаній і перемішують обертальними рухами:

одержаний розчин має бути практично безбарвним. Пробірку нагрівають у водяній бані протягом 1 хв; поступово з'являється червонувато-коричнєве забарвлення.



Рис. 3.3. Взаємодія субстанції з розчином формальдегіду в концентрованій сульфатній кислоті

D. Субстанція дає реакцію (а) на калій [29].

3.1.2. Кількісне визначення бензилпеніциліну фармакопейними методами

Визначення проводять методом рідинної хроматографії [29].

Випробовуваний розчин (а). 50,0 мг субстанції розчиняють у воді і доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 50,0 мл.

Випробовуваний розчин (b). Розчин готують безпосередньо перед використанням 80,0 мг субстанції розчиняють у воді і доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 20 мл.

Розчин порівняння (а). 10 мг ФСЗ бензилпеніциліну натрієвої солі і 10 мг ФСЗ кислоти фенілоцтової розчиняють у воді і доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 50 мл.

Розчин порівняння (с). 1,0 мл розчину порівняння (а) доводять водою до об'єму 20,0 мл. 1,0 мл одержаного розчину доводять водою до об'єму 50 мл.

Розчин порівняння (d). 4,0 мл розчину порівняння (а) доводять водою до об'єму 100 мл.

Хроматографування проводять на рідинному хроматографі з УФ-детектором за таких умов:

- колонка розміром 0,25 м x 4,6 мм, заповнена силікагелем октадецилсилільним для хроматографії, з розміром часток 5 мкм ;
- рухома фаза А: розчин 68 г/л калію дигідрофосфату, рН якого доведено до 3,5 розчином 500 г/л кислоти фосфорної розведеної - метанол - вода (10:30:60);
- рухома фаза В: розчин 68 г/л калію дигідрофосфату, рН якого доведено до 3,5 розчином 500 г/л кислоти фосфорної розведеної - вода - метанол (10:40:50); швидкість рухомої фази 1,0 мл/хв: детектування за довжини хвилі 225 нм.

Урівноважують колонку рухомою фазою у співвідношенні рухомих фаз А:В (70:30).

Хроматографують 20 мкл розчину порівняння (В). Хроматографічна система вважається придатною, якщо виконуються такі умови [29]:

- коефіцієнт розділення двох основних піків має бути не менше 6,0 (якщо необхідно, коригують співвідношення рухомих фаз А : В);
- коефіцієнт ємності для другого піка (бензилпеніцилін), має бути від 4,0 до 6,0.

Хроматографують 20 мкл розчину порівняння (с). Систему регулюють таким чином, щоб відношення сигнал/шум становило не менше 3.

Хроматографують 20 мкл розчину порівняння (а). шість разів. Хроматографічна система вважається придатною, якщо відносно стандартне відхилення для площі основного піка не перевищує 1,0 % [29].

Вміст бензилпеніциліну калієвої солі, у відсотках, розраховують шляхом помноження відсоткового вмісту бензилпеніциліну калієвої солі на 1,045.

3.1.3. Якісне визначення бензилпеніциліну нефармакопейними методами

Якісне визначення бензилпеніциліну (також відомого як пеніцилін G) може бути проведене за допомогою різних методів, таких як хроматографія, спектроскопія та інші.

Хроматографія:

Високоєфективна рідинна хроматографія (HPLC): Цей метод дозволяє розділити та визначити пеніцилін G за його ретенційним часом у порівнянні зі стандартом.

Спектроскопічні методи:

Мас-спектрометрія (MS): Мас-спектрометр дозволяє визначити масу частиць та ідентифікувати молекулярні з'єднання, такі як пеніцилін G.

Ядерно-магнітна резонансна спектроскопія (NMR): Дозволяє отримати інформацію про структуру молекули, включаючи атоми та їх взаємодії.

Імунологічні методи:

Імунодифузія: Цей метод використовує антитіла для виявлення наявності пеніциліну G у зразках.



Рис. 3.4. Імунодифузний метод визначення пеніциліну G

Колориметричні методи:

Реакція з фенільними сполуками: Цей метод базується на зміні кольору при реакції пеніциліну G з фенільними сполуками, що дозволяє визначити наявність або концентрацію пеніциліну G.

Перед використанням будь-якого методу важливо враховувати специфікації та обмеження кожного методу, а також враховувати відповідні нормативні вимоги для якісного контролю лікарських засобів.

3.1.4. Кількісне визначення бензилпеніциліну нефармакопейними методами

Кількісне визначення бензилпеніциліну (пеніциліну G) може бути виконане різними методами аналізу, зазвичай в лабораторному середовищі. Декілька типових методів включають:

Спектрофотометрія:

Визначення концентрації бензилпеніциліну може бути здійснене за допомогою спектрофотометра. Цей метод базується на абсорбції світла пеніциліном при конкретній довжині хвилі.

Хроматографія:

Високоєфективна рідина хроматографія (HPLC) та газова хроматографія (GC) можуть використовуватися для розділення та визначення бензилпеніциліну.

Хімічний метод аналізу для бензилпеніцилінів проводиться у два етапи: Сума пеніцилінів для лікарських засобів природних пеніцилінів визначається йодометричним методом. Суть методу полягає в тому, що продукти лужного гідролізу пеніциліну здатні окиснюватися йодом у присутності ацетатного буфера з pH = 4,5:

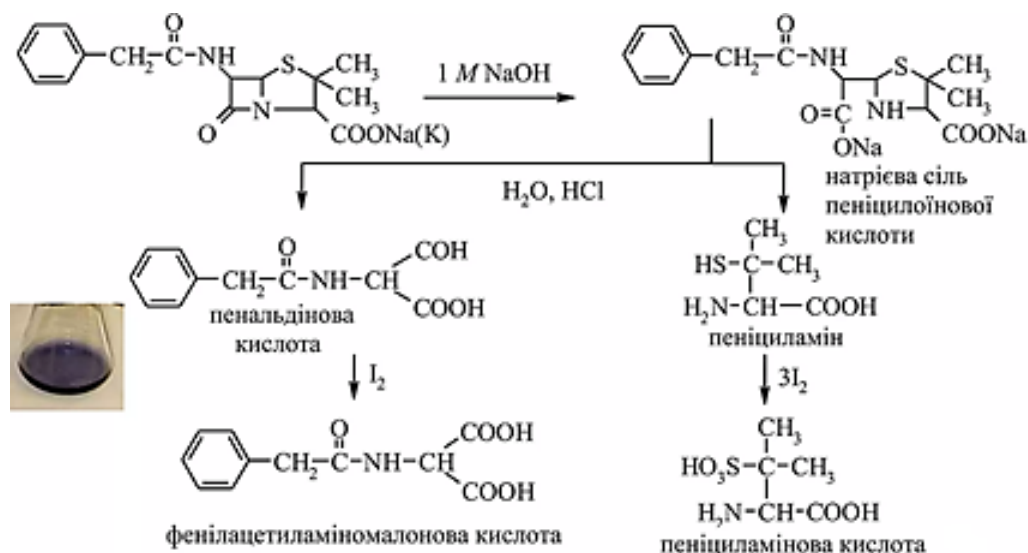


Рис. 3.5. Йодометричне титрування бензилпеніциліну натрієвої солі

При йодометричному визначенні пеніцилінів використовують стандартні зразки (бензилпеніциліну натрієву сіль або феноксиметилпеніцилін), так як реакція взаємодії йоду з продуктами лужного гідролізу пеніцилінів не протікає стехіометрично, з цієї ж причини підтримують певне значення рН середовища і час проведення реакції.

Визначення вмісту бензилпеніциліну проводиться гравіметричним методом по реакції утворення N-етилпіперидинієвої солі. Солі бензилпеніциліну за допомогою фосфатної кислоти переводять в кислу форму, яку екстрагують амілацетатом і додають розчин N-етилпіперидину в амілацетаті, при цьому випадає осад N-етилпіперидинієвої солі бензилпеніциліну.

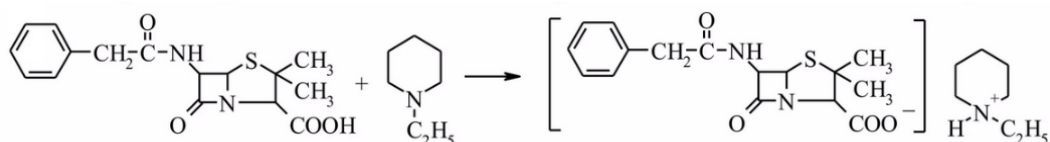


Рис. 3.6. Гравіметричний метод визначення вмісту бензилпеніциліну натрієвої солі

Мас-спектрометрія:

Мас-спектрометрія може служити для ідентифікації та визначення маси бензилпеніциліну, що дозволяє підтверджувати його наявність.

Ядерно-магнітна резонансна спектроскопія (NMR):

NMR може використовуватися для структурного аналізу та визначення концентрації бензилпеніциліну.

Важливо враховувати, що вибір методу залежить від доступності обладнання, точності, чутливості та конкретних вимог дослідження.

Використовуючи будь-який метод, важливо дотримуватися відповідних протоколів та стандартів для забезпечення точності та надійності результатів.

3.2. Якісне та кількісне визначення цефалоспоринів

3.2.1. Якісне визначення цефтриаксону фармакопейними методами

Перша ідентифікація: А, D.

Друга ідентифікація: В, С, D.

А. Інфрачервоний спектр поглинання субстанції має відповідати спектру ФСЗ цефтриаксону натрієвої солі [29].

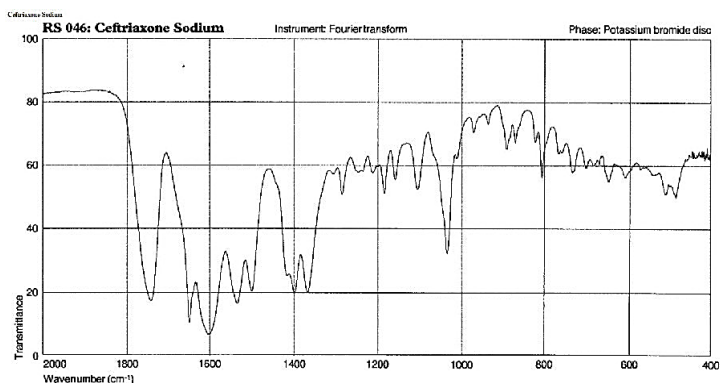


Рис. 3.7. Інфрачервоний спектр поглинання субстанції
ФСЗ цефтриаксону натрієвої солі

В. Визначення проводять методом тонкошарової хроматографії, використовуючи як тонкий шар силікагель HF254 силанізований.

Випробовуваний розчин. 20 мг субстанції розчиняють у 5 мл суміші рівних об'ємів метанолу і 0,067 М фосфатного буферного розчину рН 7,0.

Розчин порівняння (а). 20 мг ФСЗ цефтриаксону натрієвої солі розчиняють у 5 мл суміші рівних об'ємів метанолу і 0,067 М фосфатного буферного розчину рН 7,0 [29].

Розчин порівняння (Б). 20 мг ФСЗ цефтриаксону натрієвої солі і 20 мг ФСЗ цефрадину розчиняють у 5 мл суміші рівних об'ємів метанолу і 0,067 М фосфатного буферного розчину рН 7,0.

На лінію старту хроматографічної пластинки наносять 1 мкл (4 мкг) випробовуваного розчину, 1 мкл (4 мкг) розчину порівняння (а), 1 мкл (4 мкг цефтриаксону натрієвої солі і 4 мкг цефрадину) розчину порівняння (Б). Пластинку поміщають у камеру із сумішшю розчинників метилацетат-розчин

150 г/л амонію ацетату, рН якого попередньо доведено до 6,2 кислотою оцтовою. Коли фронт розчинників пройде 15 см від лінії старту, пластинку виймають із камери, сушать у струмені теплого повітря і переглядають в УФ-світлі за довжини хвилі 254 нм [29].

На хроматограмі випробовуваного розчину має виявлятися основна пляма на рівні основної плями на хроматограмі розчину порівняння (а), відповідна їй за розміром.

Результати аналізу вважаються вірогідними, якщо на хроматограмі розчину порівняння (Б) виявляються дві чітко розділені плями.

С. Близько 2 мг субстанції помішають у пробірку заввишки близько 150 мм і діаметром 15 мм і змочують 0,05 мл води. Потім додають 2 мл розчину формальдегіду в кислоті сірчаній і перемішують обертальними рухами; одержаний розчин має бути зеленуватожовтим. Пробірку нагрівають у водяній бані протягом 1 хв; поступово з'являється жовте забарвлення [29].

Д. Субстанція дає реакцію (а) на натрій [29].

3.2.2. Кількісне визначення цефтриаксону фармакопейними методами
Визначення проводять методом рідинної хроматографії [29].

Випробовуваний розчин. 30,0 мг субстанції розчиняють у рухомій фазі і доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 100,0 мл.

Розчин порівняння (а). 30,0 мг ФСЗ цефтриаксону натрієвої солі розчиняють у рухомій фазі й доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 100,0 мл.

Розчин порівняння (b). 5,0 мг ФСЗ цефтриаксону натрієвої солі і 5,0 мг ФСЗ домішки А цефтриаксону розчиняють у рухомій фазі й доводять об'єм рухомою фазою до 100 мл.

Розчин порівняння (с). 1 .0 мл випробовуваного розчину доводять рухомою фазою до об'єму 100.0 мл.

Хроматографування проводять на рідинному хроматографі з УФ-детектором за таких умов:

- колонка з нержавіючої сталі розміром 0,25 м x 4,6 мм,

- заповнена силікагелем октадецилсилільним для хроматографії, з розміром часток 5 мкм;
- рухома фаза: 2,0 г тетрадециламонію броміду і 2,0 г тетрагептиламонію броміду розчиняють у суміші 440 мл води, 55 мл 0,067 М фосфатного буферного розчину рН 7,0, 5,0 мл цитратного буферного розчину рН 5,0 і 500 мл ацетонітрилу.
- швидкість рухомої фази 1,5 мл/хв: детектування за довжини хвилі 254 нм; об'єм проби, що уводиться, 20 мкл.

Хроматографують розчин порівняння (b). Чутливість системи регулюють таким чином, щоб висота піків становила не менше 50 % шкали реєструючого пристрою [29].

Хроматографічна система вважається придатною, якщо коефіцієнт розділення двох основних піків становить не менше 3,0.

Хроматографують розчин порівняння (a) шість разів.

Хроматографічна система вважається придатною, якщо відносне стандартне відхилення для площі пікацефтриаксону не перевищує 1,0 % .

Поперемінно хроматографують випробовуваний розчин і розчин порівняння (a). Розраховують вміст цефтриаксону натрієвої солі у відсотках [29].

3.2.3. Якісне визначення цефтриаксону нефармакопейними методами

Якісне визначення цефтриаксону може проводитися за допомогою різних методів аналізу в лабораторному середовищі. Декілька типових методів включають:

Хроматографія:

Високоефективна рідина хроматографія (HPLC) та газова хроматографія (GC) можуть використовуватися для розділення та визначення цефтриаксону. Ці методи дозволяють визначити концентрацію речовини та ідентифікувати її [30].

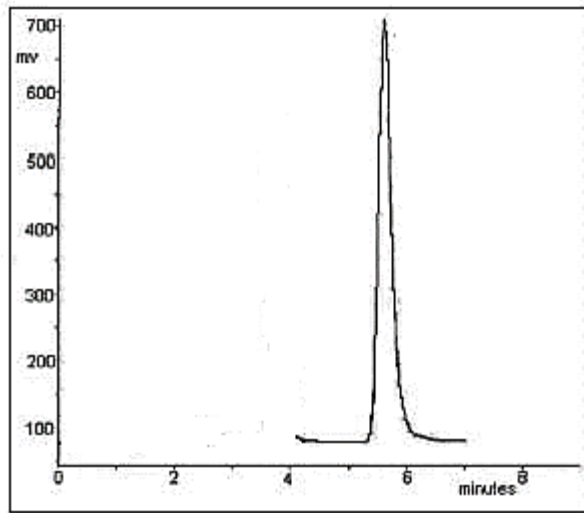


Рис. 3.8. Хроматограма цефтріаксону

Мас-спектрометрія:

Мас-спектрометрія може використовуватися для ідентифікації та визначення маси цефтріаксону.

Спектрофотометрія:

Визначення концентрації цефтріаксону може бути проведене за допомогою спектрофотометра, вимірюючи абсорбцію світла речовини при певній довжині хвилі [31 – 34].

Ядерно-магнітна резонансна спектроскопія (NMR):

NMR може використовуватися для структурного аналізу та визначення концентрації цефтріаксону.

Титрування:

Титрування може використовуватися для визначення концентрації цефтріаксону на основі відомих хімічних реакцій та стехіометричних відносин.

Обирайте метод відповідно до конкретних вимог дослідження та доступності обладнання. Важливо дотримуватися стандартів та протоколів для отримання точних і надійних результатів.

Кількісне визначення цефтріаксону можна здійснити за допомогою різних методів, включаючи хроматографію (HPLC), спектрофотометрію та

інші. Ось загальний опис методу визначення цефтріаксону за допомогою високоефективної рідини хроматографії (HPLC):

3.2.4. Кількісне визначення цефтріаксону нефармакопейними методами

Метод HPLC для кількісного визначення цефтріаксону:

Обладнання та реагенти:

Хроматограф з детектором UV або UV-мас-спектрометром.

Колонка для хроматографії, заповнена матеріалом, який взаємодіє з аналізованою речовиною.

Мобільна фаза (наприклад, водний розчин фосфатного буфера).

Референсний стандарт цефтріаксону.

Процедура:

Підготовка розчину цефтріаксону: Розчиніть визначену кількість цефтріаксону у відповідному розчиннику, щоб отримати стандартний розчин з відомою концентрацією.

Хроматографічний аналіз:

Завантажте стандартний розчин та зразок цефтріаксону на хроматограф.

Ведіть хроматографію за умовами, оптимізованими для розділення цефтріаксону.

Визначення концентрації:

Вимірюйте площу піку цефтріаксону в обох стандартному розчині та зразку.

Використовуючи відомі концентрації стандартного розчину, побудуйте калібрувальну криву.

Визначте концентрацію цефтріаксону в зразку за допомогою калібрувальної кривої.

Цей метод може бути адаптований до конкретних умов та доступного обладнання в вашій лабораторії. Завжди слід дотримуватися внутрішніх та зовнішніх стандартів, щоб забезпечити точні та надійні результати.

ВИСНОВКИ

1. Проаналізовано дані літератури щодо використання у медицині різних бета-лактамних антибіотиків, їх класифікацію, будову та фізико-хімічні властивості.

2. Здійснено аналіз ринку України щодо наявності препаратів з різними активними фармацевтичними інгредієнтами з різних класів бета-лактамних антибіотиків. Більшість препаратів відносяться до антибіотиків пеніцифінового або цефалоспоринового ряду. Не дивлячись на високу ефективність, найменше на ринку України представлено монобактамів через обмежений спектр дії та виключно внутрішньовенне введення.

3. Теоретично описані фармакопейні та нефармакопейні методи якісного та кількісного визначення антибіотиків пеніцифінового або цефалоспоринового ряду, як найбільш поширених.

Отже, існує велике різноманіття сучасних інструментальних та хімічних методів аналізу беталактамних антибіотиків, які не описані у Фармакопеї України. При умові доведення кореляції, релевантності та валідності нефармакопейних методів визначення даних антибіотиків до фармакопейних методів, ці методи можна впроваджувати до використання у різноманітних лабораторних установах, які здійснюють контроль обігу лікарських засобів, зокрема антибіотиків.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Бета-лактамі антибіотики: список препаратів. веб-сайт. URL: <https://paralleli.if.ua/4322-beta-laktamni-antibiotiki-klasifikatsiya-ta-diya.html>.
2. Коваленко Т.І. Антибіотикорезистентність деяких грампозитивних та грамнегативних бактерій до бета-лактамічних антибіотиків. Мікробіологічні та імунологічні дослідження в сучасній медицині: матеріали Міжнар. наук.-практ. конф., м. Харків, 26 березня 2021 року Харків, 2021. С. 64-66.
3. Фармацевтична енциклопедія / гол. ред. ради фарм. енцикл. В.П. Черних. веб-сайт. URL: <https://www.pharmencyclopedia.com.ua/article/764/penicilini>.
4. Антибіотики. веб-сайт. URL: <https://empendium.com/ua/chapter/B27.II.18.11.1>.
5. Цефалоспорини. Фармацевтична енциклопедія / гол. ред. ради фарм. енцикл. В.П. Черних. веб-сайт. URL: <https://www.pharmencyclopedia.com.ua/article/109/cefalosporini>.
6. Карбапенеми. Фармацевтична енциклопедія / гол. ред. ради фарм. енцикл. В.П. Черних. веб-сайт. URL: <https://www.pharmencyclopedia.com.ua/article/3442/karbapenemi>.
7. Монобактами. Фармацевтична енциклопедія / гол. ред. ради фарм. енцикл. В.П. Черних. веб-сайт. URL: <https://www.pharmencyclopedia.com.ua/article/1501/monobaktami>.
8. Бензилпеніцилін порошок для розчину для ін'єкцій (ПАТ «Київмедпрепарат», Україна): веб-сайт. URL: <https://compendium.com.ua/dec/268398/7284/>.
9. Біцилін®-3 порошок для приготування суспензії для ін'єкцій (Корпорація Артеріум, Україна): веб-сайт. URL: <https://compendium.com.ua/dec/268509/6235/>.
10. Пеніцилін G натрієва сіль порошок для приготування ін'єкційного розчину (Sandoz GmbH, Австрія): веб-сайт. URL: <https://compendium.com.ua/dec/268649/8258/>.

11. Оспен гранули для приготування суспензії для перорального застосування (Sandoz GmbH, Австрія): веб-сайт. URL: <https://tabletki.ua/uk/%D0%9E%D1%81%D0%BF%D0%B5%D0%BD/9496/#productCardFeatures>.
12. Оксацилін порошок для приготування розчину для інфузій (Корпорація Артеріум, Україна): веб-сайт. URL: <https://tabletki.ua/uk/%D0%9E%D0%BA%D1%81%D0%B0%D1%86%D0%B8%D0%BB%D0%BB%D0%B8%D0%BD/23877/#productCardFeatures>.
13. Тиментин порошок для розчину для інфузій (GlaxoSmithKline Pharmaceuticals S.A., Великобританія): веб-сайт. URL: <https://tabletki.ua/uk/%D0%A2%D0%B8%D0%BC%D0%B5%D0%BD%D1%82%D0%B8%D0%BD/999/#productCardFeatures>.
14. Піперацилін-тазобактам-Тева порошок для розчину для інфузій (Teva Pharmaceutical Industries Ltd, Ізраїль): веб-сайт. URL: <https://tabletki.ua/uk/%D0%9F%D0%B8%D0%BF%D0%B5%D1%80%D0%B0%D1%86%D0%B8%D0%BB%D0%BB%D0%B8%D0%BD-%D1%82%D0%B0%D0%B7%D0%BE%D0%B1%D0%B0%D0%BA%D1%82%D0%B0%D0%BC-%D1%82%D0%B5%D0%B2%D0%B0/26983/>.
15. Рефлекс порошок для розчину для інфузій (ТОВ Юрфя-Фарм, Україна): веб-сайт. URL: <https://tabletki.ua/uk/%D0%A0%D0%B5%D1%84%D0%B5%D0%BA%D1%81/35122/#productCardFeatures>.
16. Амоксиклав порошок для розчину для ін'єкцій (Sandoz GmbH, Австрія): веб-сайт. URL: <https://compendium.com.ua/dec/563781/141580/>.
17. Амоксил-К таблетки (Корпорація Артеріум, Україна): веб-сайт. URL: <https://compendium.com.ua/dec/338362/183279/>.
18. Цефазолін порошок для розчину для ін'єкцій (Корпорація Артеріум, Україна): веб-сайт. URL: <https://tabletki.ua/uk/%D0%A6%D0%B5%D1%84%D0%B0%D0%B7%D0%BE%D0%BB%D0%B8%D0%BD/12193/>.

19. Цефадроксил-Здоров'я капсули (ТОВ Здоров'я): веб-сайт. URL: <https://tabletki.ua/uk/search/19.%09%D0%A6%D0%B5%D1%84%D0%B0%D0%B4%D1%80%D0%BE%D0%BA%D1%81%D0%B8%D0%BB-%D0%97%D0%B4%D0%BE%D1%80%D0%BE%D0%B2%27%D1%8F%20%D0%BA%D0%B0%D0%BF%D1%81%D1%83%D0%BB%D0%B8%20%28%D0%A2%D0%9E%D0%92%20%D0%97%D0%B4%D0%BE%D1%80%D0%BE%D0%B2%E2%80%99%D1%8F%29/>.
20. Цефуроксим-Дарниця порошок для розчину для ін'єкцій (ПрАТ «Фармацевтична фірма «Дарниця», Україна): веб-сайт. URL: <https://tabletki.ua/uk/%D0%A6%D0%B5%D1%84%D1%83%D1%80%D0%BE%D0%BA%D1%81%D0%B8%D0%BC-%D0%94%D0%B0%D1%80%D0%BD%D0%B8%D1%86%D0%B0/39517/>.
21. Цефотаксим порошок для розчину для ін'єкцій (Лекхім, Україна): веб-сайт. URL: <https://tabletki.ua/uk/%D0%A6%D0%B5%D1%84%D0%BE%D1%82%D0%B0%D0%BA%D1%81%D0%B8%D0%BC/4840/>.
22. Цедекс капсули (MSD, США): веб-сайт. URL: <https://tabletki.ua/uk/%D0%A6%D0%B5%D0%B4%D0%B5%D0%BA%D1%81/956/#productCardFeatures>.
23. Цефепім порошок для для розчину для ін'єкцій (Лекхім, Україна): веб-сайт. URL: <https://tabletki.ua/uk/%D0%A6%D0%B5%D1%84%D0%B5%D0%BF%D0%B8%D0%BC/29085/>.
24. Зінфоро порошок для розчину для інфузій (AstraZeneca, Швейцарія): веб-сайт. URL: <https://tabletki.ua/uk/%D0%97%D0%B8%D0%BD%D1%84%D0%BE%D1%80%D0%BE/28411/#productCardFeatures>.
25. Імібацид порошок для розчину для інфузій (Борщагівський ХФЗ, Україна): веб-сайт. URL: <https://compendium.com.ua/dec/341350/512056/>.

26. Аріс порошок для розчину для інфузій (ТОВ «Ранбаксі Фармасьютікалс Україна», Україна): веб-сайт. URL: <https://compendium.com.ua/dec/263194/193112/>.
27. Інванз ліофілізат для приготування розчину для ін'єкцій (MSD, США): веб-сайт. URL: <https://compendium.com.ua/dec/274474/122785/>.
28. Азеонам порошок для розчину для ін'єкцій або інфузій (Ананта Медікеар Лімітед): веб-сайт. URL: <https://compendium.com.ua/info/359829/586629/>.
29. Державна фармакопея України: у 3 т. / Держ. служба України з лік. засобів, Укр. наук. фармакоп. центр якості лік. засобів. - 2-ге вид. - Харків: Укр. наук. фармакоп. центр якості лік. засобів, 2014. Т. 2. - 724 с.
30. De Diego M. Chemical stability of ceftriaxone by a validated stability-indicating liquid chromatographic method. *Journal of the Chilean Chemical Society*. 2010. Vol.55, № 3. P. 335-337.
31. О.І. Костів, О.Я. Коркуна, М.П. Орна. Реакція азосполучення цефалоспоринових антибіотиків з 8-окси-хіноліном та її застосування в аналізі лікарських засобів. *Methods and objects of chemical analysis*. 2020, Vol. 15, № 3, С. 144-155.
DOI: <https://doi.org/10.17721/moca.2020.144-155>
32. M. DE Diego, G. Godoy, S. Mennickent. Chemical stability of ceftriaxone by a validated stability-indicating liquid chromatographic method. *Journal of the Chilean Chemical Society*. 2010. Vol. 55, № 3. P. 335-337.
DOI: <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-97072010000300013>
33. M. Chandra Sekhar, Y.N. Manohara, K. Srinivasa Rao, S. Appala Rajut. Validated spectrophotometric methods for the estimation of ceftriaxone in pharmaceutical preparations. *Asian Journal of Chemistry*. 2006. Vol. 18, № 4. P. 2523-2527.
34. Mohammed Khalid Qahtan, AN Alshirifi. Development and validated spectrophotometric method for the determination of Ceftriaxone in pharmaceutical preparations. *Journal of Pharmaceutical Negative Results*. Vol. 13, Special Issue 06. 2022. P. 3085-3092. DOI: <https://doi.org/10.47750/pnr.2022.13.S06.418>.



KyivLvivPharma-2023

CERTIFICATE

THIS IS TO CERTIFY THAT

Veronika Paramonova


PARTICIPATED IN THE VI INTERNATIONAL SCIENTIFIC AND PRACTICAL
CONFERENCE

**"KYIVLVIVPHARMA-2023. PHARMACEUTICAL
TECHNOLOGY AND PHARMACOLOGY IN
ENSURING ACTIVE LONGEVITY"**


DURATION - 30 HOURS (1 ECTS CREDIT)

Held in Kyiv-Lviv, Ukraine, November 16-18, 2023

Kyiv-Lviv
November 16-18, 2023
UA N°0094


Vladyslav STRASHNYI

*Dr. Sci. (Pharm.), Professor, Co-chair
of the Organizing Committee of
conference*


Volodymyr BESSARABOV

*Dr. Sci. (Engin.), Professor,
Responsible secretary of
conference*

SUMMARY

Paramonova Veronika

Topic: “Quantitative and qualitative determination of beta-lactam antibiotics by pharmacopeial and non-pharmacopeial methods of analysis”

Department of analytical, physical and colloid chemistry

Scientific supervisor: Privalko Eleonora, Lysenko Tetiana

Keywords: antibiotics, beta-lactam ring, penicillins, cephalosporins, pharmacopoeia

Introduction. Every year, millions of people are exposed to infectious diseases. Some diseases progress quickly and can be overcome without the use of antimicrobial agents, while others are effectively treated with antibiotics belonging to the beta-lactam group. These drugs have low toxicity and high clinical effectiveness.

Materials and methods. A review of literary sources was carried out, using methods of information search and analysis of literary data, with the aim of researching the methods of qualitative and quantitative determination of β -lactam antibiotics by pharmacopoeial and non-pharmacopoeial methods of analysis.

Results. Literature data on the use of various beta-lactam antibiotics in medicine, their classification, structure, and physicochemical properties were analyzed.

An analysis of the Ukrainian market was carried out regarding the availability of drugs with various active pharmaceutical ingredients from various classes of beta-lactam antibiotics. Most drugs belong to antibiotics of the penicillin or cephalosporin series. Despite the high efficiency, monobactams are the least represented on the market of Ukraine due to the limited spectrum of action and exclusively intravenous administration.

Theoretically described pharmacopoeial and non-pharmacopoeial methods of qualitative and quantitative determination of penicillin or cephalosporin antibiotics, as the most common.

Conclusions. Therefore, there is a wide variety of modern instrumental and chemical methods for the analysis of beta-lactam antibiotics, which are not described in the Pharmacopoeia of Ukraine. Provided that the correlation, relevance and validity of non-pharmacopoeial methods for determining antibiotic data are proven to pharmacopoeial methods, these methods can be implemented for use in various laboratory institutions that control the circulation of medicinal products, in particular antibiotics.