

## **Определение оксациллина в лекарственных препаратах трифенилметановым красителем фуксином экстракционно-спектрофотометрическим методом**

**Н. О. Геокчян**

*Кафедра аналитической химии ЕГУ  
0025, Ереван, ул. А. Манукяна, 1*

*Ключевые слова:* экстракция, спектрофотометрия, трифенилметановый краситель, фуксин, чувствительность

Оксациллин – это натриевая соль моногидрата пенициллина. Оксациллин является полусинтетическим пенициллином. Как все антибиотики, оксациллин с несложной структурой синтезируется с помощью простых органических соединений.

Препарат – белый кристаллический порошок, горький на вкус. Легко растворяется в воде, трудно – в спирте. Устойчив в слабокислой среде и поэтому оксациллин сохраняет свою активность в слабокислой среде желудка. В связи с этим он может применяться не только внутримышечно, но и внутрь. Основной особенностью оксациллина является эффективность в отношении стафилококков, резистентных к бензилпенициллину, что обусловлено его устойчивостью к  $\beta$ -лактамазам. Применяют при стафилококковой инфекции (пневмония, эндокардит, сепсис, менингит, инфекции кожи, мягких тканей, костей и суставов).

При инфекциях, вызванных стафилококками, чувствительными к бензилпенициллину, назначать оксациллина натриевую соль нецелесообразно.

Оксациллин противопоказан при повышенной чувствительности к пенициллину и аллергическим заболеваниям.

Спектр антибактериального действия оксациллина подобен спектру бензилпенициллина.

Таким образом, представители полусинтетических пенициллиновых антибиотиков, в том числе и оксациллин, широкого спектра действия применяются для лечения ряда распространенных заболеваний. Фармакологический интерес и масштабы потребления

полусинтетических антибиотиков привели к разработке ряда методов для их аналитического определения [11, 12].

Анализ литературных данных за 15–20 лет показал, что основными методами количественного определения антибиотиков являются микробиологические [4, 5].

Известны также ионселективные электроды для определения антибиотиков пенициллинового ряда в биологических жидкостях и лекарственных формах [6]. Имеются публикации и по электрохимическим методам определения антибиотиков пенициллинового ряда [7, 8], электрофорезу [10], фосфориметрическому определению активных компонентов в лекарственных препаратах [9]. Следует отметить, что все вышеуказанные методы являются косвенными методами определения и, главное, довольно длительны и трудоемки, не обеспечивают высокой чувствительности, мало избирательны; требуют дорогостоящей аппаратуры.

В настоящее время весьма актуальным является разработка и контроль новых эффективных экспрессных избирательных, высокочувствительных экстракционно-спектрофотометрических методов с использованием органических основных красителей.

### **Материал и методы**

Для количественного определения микрограммовых количеств оксациллина ранее нами впервые разработаны новые экстракционно-спектрофотометрические методы с использованием основных красителей различных классов диазинового ряда – сафранина “Т” [1], акридинового– акридинового желтого (АЖ) [2] и родоминного ряда – красителя R6Ж [3]. При помощи этих методик можно успешно определить оксациллин в лекарственных препаратах. Учитывая вышеизложенное, мы намерены разработать новый метод определения оксациллина с представителем трифенилметанового ряда – фуксином.

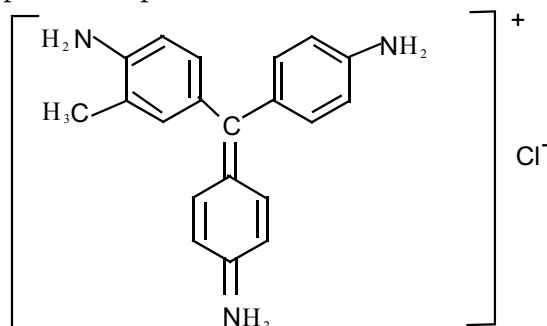
Представителями этого ряда являются – фуксин, метиловый зеленый, малахитовый зеленый, бриллиантовый зеленый и кристаллический фиолетовый. По литературным данным известно, что при использовании трифенилметановых красителей чувствительность и селективность определения заметно повышается. Учитывая вышеизложенное, мы разработали новый экстракционно-спектрофотометрический метод определения микрограммовых количеств оксациллина из

ряда антибиотиков бензилпенициллина, содержащего во внутренней структуре  $\beta$ -лактамное кольцо.

Предварительными опытами, проведенными нами, было установлено, что анион оксациллина с катионом фуксина (фук) образует ионный ассоциат (ИА) красного цвета. В литературе мы не нашли аналогичного сообщения.

Таким образом, фуксин для этой цели применяется впервые.

Формула реагента-красителя такова:



Запасный раствор оксациллина (натриевая соль) готовили растворением точной навески препарата производства “Киев мед. препарат” (Украина) в дистиллированной воде. Рабочие растворы оксациллина готовили ежедневно соответствующим разбавлением исходного запасного раствора. Водный раствор фуксина (0,05%) готовили растворением точной навески реагента-красителя (квалификация ч.д.а.) в дистиллированной воде и фильтровали. Органические растворители (квалификации ч.д.а. и х.ч.) использовались без дополнительной очистки. Равновесные значения pH водных фаз контролировали при помощи pH-метра “pH 121”. Оптическую плотность (ОП) водных растворов и органических экстрактов измеряли с помощью спектрофотометра СФ-16.

## Результаты и обсуждение

Исследованы оптимальные условия образования и экстракции ИА. Экстракцию проводили в делительных воронках объемом 50 мл. Наиболее эффективным экстрагентом для извлечения образующегося соединения ИА оказался дихлорэтан (ДХЭ). Объемное соотношение водной и органической фаз составляет 2:1 (10 мл+ 5 мл). Были сняты спектры светопоглощения дихлорэтановых органических экстрактов образующегося ИА и “холостых”, а также водных растворов красителя фуксина. Во всех случаях максимум светопоглощения наблюдается при одной и той же длине волны  $\lambda=540$  нм при довольно низких значениях оптической плотности “холостых” экстрактов ( $A_{\text{хол}}=0,04$ ).

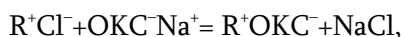
Для выяснения оптимальных условий образования и экстракции ИА была изучена зависимость ОП дихлорэтановых экстрактов от кислотности водной фазы в интервале pH 1,0–4,7 и 0,4–1,0 моль/л в HCl, а также pH 5,7–5,8 в дистиллированной воде. Максимальное значение

ОП, а следовательно и максимальное извлечение ИА, наблюдается при pH 5,7–5,8 в дистиллированной воде. При высоких значениях кислотности водной фазы (1,0 моль/л в HCl) наблюдается резкое понижение значения ОП экстракта ИА. Это явление совпадает с литературными данными о том, что главным свойством оксациллина является то, что оксациллин очень устойчив в слабокислых растворах. Поэтому дальнейшее исследование проводили при pH 5,7–5,8 в дистиллированной воде. Количественный переход ИА оксациллина в органическую фазу имеет место при добавлении в водную фазу 1,0–1,4 мл 0,05% раствора фуксина.

Образующийся ИА оксациллина фуксином практически полностью извлекается однократной экстракцией в течение одной минуты, из pH 5,7–5,8 в дистиллированной воде. Степень извлечения R составляет 96% ( $R=96\%$ ), что было определено методом повторного экстрагирования. Окрашенные экстракты устойчивы около 120 мин. Диапазон определяемой концентрации оксациллина составляет 10–180 мкг оксациллина/10 мл водной фазы. Среднее значение кажущегося молярного коэффициента светопоглощения органических экстрактов ИА с фуксином составляет  $\bar{\varepsilon}_{540} = 18000 \text{ л} \cdot \text{моль}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$ .

В оптимальных условиях образования и экстракции исследуемого ИА методом насыщения найдено молярное соотношение оксациллина и красителя, которое оказалось равным 1:1.

Реакция взаимодействия и образования ИА идет по уравнению



где RCl – молекула фуксина, а  $OKC^-Na^+$  – натриевая соль препарата оксациллина.

Экспериментальным путем нами было установлено, что максимальная ОП ИА для любой точки калибровочного графика, если препарат находится в годности, имеет наивысшее значение. Постепенно значение ОП ИА препарата падает во времени и препарат постепенно теряет свою активность и годность. Так через месяц после годности препарат теряет свою активность на 8,8%, через два месяца – на 18%, а через три месяца – на 30%.

Трифенилметановые красители отличаются от других классов основных красителей тем, что обеспечивают высокую чувствительность, селективность и избирательность определения.

Благодаря этим свойствам с помощью калибровочного графика можно выяснить и контролировать количественное содержание фар-

макологического активного вещества, срок годности, содержание различных органических и неорганических примесей, судить о фальсификации препарата, что в настоящее время является актуальной проблемой в мировом масштабе, т.к. разработка таких новых чувствительных простых экспрессных методов аналитического контроля фармацевтического препарата в лекарственных препаратах является достаточно важной и актуальной задачей.

*Поступила 12.10.11*

**Օքսացիլինի որոշումը դեղանյութերում եռֆենիլմեթանային  
շաքի ներկանյութ՝ ֆուքսինով էքստրակցիոն-  
սպեկտրաֆոտոմետրական եղանակով**

**Ն.Օ. Գյուկչյան**

Օքսացիլինի և ֆուքսինի փոխազդեցությունից առաջացած միությունը (իոնական ասոցիատը) լուծահանելու համար լավագույն էքստրագենտ է ընտրվել դիքլորէթանը, որն էլ ապահովում է իոնական ասոցիատի էքստրակտի օպտիկական խտության մաքսիմալ արժեք, իսկ “կույր” էքստրակտի՝ համեմատաբար մինիմալ արժեք: Մաքսիմում լուսակլանում դիտվում է  $\lambda=540$  նմ ալիքի երկարության տակ: Ջրային ֆազի օպտիմալ թթվության մարզը ընկնում է pH – 5,7–5,8 ըստ թորած ջրի:

Ֆուքսինի 0,05%-անոց լուծույթի օպտիմալ կոնցենտրացիան է 1,0–1,4 մլ: Կորզման աստիճանը  $R=96\%$ : Մեկ ընկալի թափահարելիս իոնական ասոցիատը ջրային ֆազից անցնում է օրգանական ֆազ: Իոնական ասոցիատի էքստրակտը կայուն է 120 ընկալ: Օքսացիլինի որոշվող կոնցենտրացիոն սահմաններն են 10–180 մկգ/10 մլ ջրային ֆազում: Մարման մոլյար գործակիցը՝  $\varepsilon=18000 \text{ Լ}\cdot\text{մոլ}^{-1}\cdot\text{սմ}^{-1}$ : Առաջացած միացության մեջ կոմպոնենտների մոլյար հարաբերությունն է 1:1: Մշակվել է օքսացիլինի որոշման նոր էքստրակցիոն-սպեկտրաֆոտոմետրիկ եղանակ դեղանյութում եռֆենիլմեթանային շաքի ներկանյութ ֆուքսինով:

**Extraction-spectrophotometric method for determination of  
oxacilline by fucsine in medicinal preparatations of  
triphenylmethan raw**

**N.O. Geokchyan**

Interaction of oxacilline anion with triphenylmethan raw has been studied. Compound forming in the system is extracted by dichlorethane. Maximal light absorbance (extinction) for extracts forming compound as well as for "blind" extracts is observed at 540 nm wavelength. At the optimal acidity conditions (pH – 5,7–5,8) oxacilline is extracted almost quantitatively (R=96) to the organic solvent phase by means of single extraction during 1 minutes shaking. The range of determined concentration of oxacilline is 10–180 mkg/10 ml. The molar coefficient of extinction is  $\bar{\epsilon}_{540} = 18000 \text{ l} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$ .

**Литература**

1. *Геокчян Н.О., Егиазарян А.А., Микаелян Дж.А., Хачатрян А.Г.* ДНАН РА, 2002, т. 102, 4, с. 330–334.
2. *Геокчян Н.О., Егиазарян А.А.* Вестник хирургии Армении, 2009, 1(66), с. 30–37.
3. *Геокчян Н.О., Егиазарян А.А., Микаелян Дж.А.* Вестник хирургии Армении, 2010, 4(73), с. 72–76.
4. *Карпов В.Л.* Антибиотики, 1984, 9, с. 695.
5. *Колосова А.Ю., Блинцов А.Н., Самсонова Ж.В., Егоров А.М.* Антибиотики и химиотерапия, 1998, 2, с. 9.
6. *Кулапина Е.Г., Барагузина В.В., Кулапина О.И.* ЖАХ, 2004, т. 59, 9, с. 971-975.
7. *Кулапина Е.Г., Баринова О.В.* Хим. фарм. журнал, 1997, т. 31, 12, с. 40.
8. *Шукшина Т.И., Катюхин В.Е., Штейнгардт Ю.Н., Букреева Е.Б.* ЖАХ, 1993, т. 48, 2, с. 366.
9. *Рехарская Е.М., Поленова Т.В., Борзенко А.Г.* ЖАХ, 2005, т. 60, 5, с. 479-484.
10. *Smither R., Vaughan D.R.* J. Appl. Bacteriol., 1978, v. 44, p. 421.
11. *Bunl F. B. Szpikowska-Sroka,* 2001, v. 46, p. 69.
12. *Quershi S.Z., Qayoom T., Helaler M.J.* J. Pharm. Biomed. Anal., 1999, v. 21, p. 473.