

УДК 543.422.3:615.281.9:547.562

*О.І. Костів, О.Я. Коркуна, М.В. Шеретько***СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧНЕ ВИЗНАЧЕННЯ ЦЕФТАЗИДИМУ У ЛІКАХ ІЗ ЗАСТОСУВАННЯМ РЕЗОРЦИНУ ТА 2-МЕТИЛФЕНОЛУ****Львівський національний університет імені Івана Франка, м. Львів, Україна**

Розроблено дві експресні та прості у виконанні методики спектрофотометричного визначення цефтазидиму у лікарських препаратах з використанням фенольних реагентів резорцину та 2-метилфенолу, які ґрунтуються на порередньому діазотуванні антибіотика в середовищі хлоридної кислоти ( $C_{HCl}=12$  М) та наступному азосполученні з реагентами у лужному середовищі (0,16 М NaOH) з утворенням ефективних аналітичних форм визначення цефтазидиму, що характеризуються максимумами світлопоглинання при 519 та 516 нм для резорцину та 2-метилфенолу, відповідно. Продукти азосполучення фіолетового кольору характеризуються молярними коефіцієнтами світлопоглинання в межах  $(6,34-6,84) \cdot 10^3$  М<sup>-1</sup> см<sup>-1</sup>. Співвідношення компонентів досліджено методом ізомолярних серій і в обох випадках воно становить 1:1. Розроблені методики характеризуються лінійністю аналітичного сигналу в межах від 2,75 до 185,5 мкг/мл цефтазидиму із використанням резорцину ( $C_n=2,54$  мкг/мл) та в межах 0,32–191,3 мкг/мл із застосуванням 2-метилфенолу ( $C_n=0,28$  мкг/мл). Розроблені методики успішно апробовано при аналізі модельних розчинів та однокомпонентних лікарських препаратів – порошків для розчину для ін'єкцій.

Ключові слова: цефтазидим, резорцин, 2-метилфенол, діазотування, азосполучення, спектрофотометрія, лікарські препарати.

**DOI:** 10.32434/0321-4095-2021-134-1-35-44**Вступ**

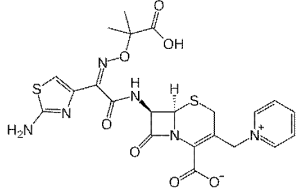
Антибіотики відіграють одну з головних ролей у лікуванні розповсюджених у наш час захворювань викликаних різного типу мікроорганізмами. Цефалоспорини є одними із найважливіших класів антибіотиків, які згідно класифікації ВООЗ належать до групи спостереження, що призначаються як препарати першого і другого вибору для лікування великої кількості інфекцій. Цефтазидим (ЦЕФТ) належить до одних із найрозповсюдженіших препаратів даного ряду, що застосовуються в лікарській практиці в Україні. ЦЕФТ (табл. 1) діє бактерицидно, порушуючи синтез клітинної стінки мікроорганізмів, стійкий до більшості β-лактамаз. Препарат виявляє найбільшу активність серед цефалоспоринів III покоління відносно *Pseudomonas aeruginosa* та внутрішньогоспітальної інфекції.

Для контролю вмісту цефтазидиму у ліках, а також його залишків у біологічних рідинах за-

пропоновано використовувати різні методи аналізу. При здійсненні визначення вмісту ЦЕФТ у складних зразках таких як: кров, плазма, сеча та біологічні тканини найчастіше використовують високоефективну рідинну хроматографію [2], також досить часто застосовують електрохімічні методи [3] та капілярний електрофорез [4]. При визначенні цефтазидиму в субстанціях і ліках на їх основі найчастіше використовують спектрофотометрію за власним поглинанням в діапазоні довжин хвиль 255–266 нм [5]. Деякі із запропонованих спектрофотометричних методик визначення ЦЕФТ (табл. 2) ґрунтуються на попередньому його діазотуванні та подальшому азосполучення із різними реагентами: 3-амінофенолом [6] та п-диметиламінобензальдегідом [7], N-(1-нафтил) етилендіаміндігидрохлоридом [8,9], 1-нафтолом [10] за різної кислотності середовища. Також відомі аналітичні форми для визначення ЦЕФТ, що ґрунтуються на реакції окиснення антибіотика з подальшим комплек-

Таблиця 1

## Фізико-хімічні характеристики цефтазидиму [1]

Параметр	Величина або характеристика
Хімічна назва	(Піридин 1-[[7-[[2-аміно-4-тіазоліл]](1-карбокси-1-метилетокси) іміно]ацетил]аміно)-2-карбокси-8-оксо-5-тіа-1-азабіцикло [4.2.0]окт-2-ен-3-ил] метил] гідроксид, внутрішня сіль пентагідрат [6R-[бальфа, 7бета (Z)]]
CAS номер	CAS No 72558-82-8
Структурна формула	
Молярна маса	M=365,4 г/моль
pK	pK <sub>a1</sub> =1,9; pK <sub>a2</sub> =2,7; pK <sub>a3</sub> =4,1
Зовнішній вигляд і запах	Порошок білого кольору зі специфічним запахом
Розчинність	У воді 5 мг/мл, у спирті 1 мг/мл, малорозчинний в ацетонітрилі

Таблиця 2

## Деякі спектрофотометричні методи визначення ЦЕФТ з використанням реакції азосполучення

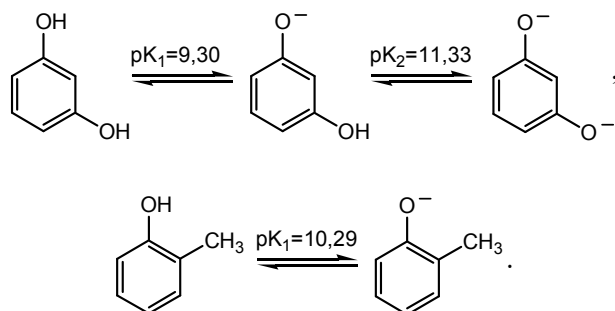
Реагент	Умови реакції	$\lambda_{\max}$ , нм	$\epsilon_{\max} \cdot 10^{-4}$ , л·моль <sup>-1</sup> ·см <sup>-1</sup>	C <sub>min</sub> , мкг·мл <sup>-1</sup>	Межі лінійнос мкг·мл <sup>-1</sup>
3-амінофенол [6]	Розчин ЦЕФТ, 0,1% NaNO <sub>2</sub> , 1 М HCl → охолоджують на крижаній бані (-2÷-3 <sup>0</sup> C) протягом 20 хв → 2% сульфамінова кислота, 0,3% реагент → час реакції 10 хв при кімнатній температурі	500	0,332	0,78	24–168
n-диметиламіно-бензальдегід [7]	Розчин ЦЕФТ приготованого на метанолі, HCl <sub>конц.</sub> , 10 % NaNO <sub>2</sub> → охолоджують до 0÷5 <sup>0</sup> C протягом 20 хв → 0,02013 М розчин реагенту приготованого на 0,0625 М H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> → час реакції 10 хв при кімнатній температурі, розчин CH <sub>3</sub> OH	420	0,103	1,90	5–35
Реактив Браттона-Маршалла N-(1-нафтил) етилендіамін-дигідрохлорид [8,9]	Розчин ЦЕФТ, HCl <sub>конц.</sub> , 1% NaNO <sub>2</sub> → витримують впродовж 5 хв при 0÷5 <sup>0</sup> C → 3% сульфамінова кислота → час реакції 5 хв, 0,25% розчин реагенту → час реакції 3 хв	575	1,04	0,28	1–50
	Розчин ЦЕФТ, HCl <sub>конц.</sub> , 0,145 М NaNO <sub>2</sub> → охолоджують до 0 <sup>0</sup> C, 8,8·10 <sup>-2</sup> М розчин сульфамінової кислоти → перемішують впродовж 5 хв, 8,0·10 <sup>-3</sup> М розчин реагенту	567	–	0,50	10–50
1-нафтол [10]	Розчин ЦЕФТ, HCl <sub>конц.</sub> , 0,1% NaNO <sub>2</sub> → 0,2% розчин сульфамінової кислоти → 0,2% розчин реагенту, приготований у 20% NaOH	562	0,985	–	10–50

соутворенням з 3-метилбензотіазолін-2-онугідразоном [9], 2,2'-біпіридином у присутності залізо(III) хлориду, та реакції утворення кольорової основи Шиффа, отриманої при взаємодії з n-диметиламінобензальдегідом [10]. Оскільки представлені спектрофотометричні методи є достатньо тривалими та потребують здійснення додаткових процедур (нагрівання, охолодження, використання токсичних органічних розчин-

ників) актуальним завданням залишається розробка нових методик визначення ЦЕФТ.

Фенольні сполуки викликають особливий інтерес як перспективні органічні аналітичні реагенти для визначення ЦЕФТ, оскільки можуть вступати в реакцію азосполучення. Резорцин (Рез) та 2-метилфенол (2-Мет) належать до цього класу сполук і володіють властивостями фенолів. Константи протолізу досліджуваних

реагентів у водних розчинах відповідають наступним рівновагам [11,12]:



Резорцин (м-дигідроксибензол, CAS No. 108-46-3) є проміжною хімічною речовиною для синтезу фармацевтичних препаратів та інших органічних сполук. Він використовується у виробництві азобарвників та пластифікаторів, клеїв для деревини і гумово-текстильних композитів, служить зшиваючим агентом для неопрену і УФ поглиначем [13]. 2-метилфенол (о-крезол, CAS No. 95-48-7) найчастіше застосовується як консервант та дезінфікуюча речовина, також широко використовується для одержання смол і синтезу барвників.

#### **Методика експерименту**

Розчин цефтазидиму готували розчиненням точної наважки реактиву цефтазидиму пентагідрату фармакопейної чистоти (вміст в перерахунок на безводний 88,2%) фірми Sigma-Aldrich у воді. Розчин зберігали при кімнатній температурі в захищеному від світла місці.

Вихідні стандартні розчини реагентів резорцину, 2-метилфенолу готували розчиненням точної наважки відповідного реагенту фірми Sigma-Aldrich кваліфікації «ч.д.а.» (не менше 99%) у 4,0 М розчині натрій гідроксиду безпосередньо перед виконанням експерименту.

Розчин натрій нітрити та сульфамінової кислоти, готували розчиненням точної наважки реактивів кваліфікації «ч.д.а.» у дистильованій воді. Робочі розчини хлоридної кислоти готували розведенням концентрованої кислоти кваліфікації «х.ч.» у дистильованій воді. Розчини натрій гідроксиду готували розчиненням реактиву кваліфікації «х.ч.» у дистильованій воді.

Вимірювання світлопоглинання виконували на скануючому спектрофотометрі SPECORD M-40 (Carl ZeissJena, Німеччина) в кюветах  $l=1$  см.

**Методика визначення ЦЕФТ з резорцином та 2-метилфенолом**

До мірної колби об'ємом 25 мл додають аліквоту досліджуваного розчину цефтазидиму

в межах 2,75–185,5 мкг/мл (Рез); 0,32–191,3 мкг/мл (2-Мет), вносять 1,0 мл 12,0 М HCl та 1,4 мл (для Рез); 1,5 (для 2-Мет) та 0,06 М розчину  $\text{NaNO}_2$ , додають 1,5 мл 0,09 М розчину сульфамінової кислоти (лише у випадку 2-Мет), далі додають 2,5 мл розчину відповідного реагенту, приготованого на 4,0 М натрій гідроксиді ( $C_{\text{Рез}}=3,4 \cdot 10^{-2}$  М;  $C_{2\text{-Мет}}=1,25 \cdot 10^{-2}$  М). Доводять розчин до мітки дистильованою водою. Вимірювання інтенсивності світлопоглинання досліджуваного розчину відносно холостого розчину проводять при  $\lambda_{\text{Рез}}=519$  нм,  $\lambda_{2\text{-Мет}}=516$  нм,  $l=1$  см. Концентрацію цефтазидиму знаходять способом порівняння, або за допомогою градуувального графіка.

**Методика пробопідготовки порошку для визначення ЦЕФТ у порошку для приготування розчину для ін'єкцій**

Наважку порошку, що містить 1000 мг ЦЕФТ згідно з номінальним вмістом у препараті, вносять до мірної колби об'ємом 100 мл, додають 50 мл дистильованої води, перемішують впродовж 10 хв та доводять вміст колби до мітки тим же розчинником (вихідний розчин). Робочий розчин ЦЕФТ готують розведенням вихідного розчину в 10 разів, для чого 5 мл отриманого розчину вносять у мірну колбу місткістю 50 мл, об'єм розчину доводять до мітки дистильованою водою і перемішують. Робочий розчин містить номінально 100 мг/мл цефтазидиму.

#### **Результати та їх обговорення**

Оскільки цефтазидим містить первинну ароматичну аміногрупу, з літератури відомо, що його визначають за світлопоглинанням продуктів, отриманих азосполученням його діазосолі із деякими фенольними сполуками у лужному середовищі. Дослідження процесу діазотування цефтазидиму залишається не розкритим, адже усі наведені в літературі дані є доволі суперечливими. Зокрема, у роботі [14] описується, що при діазотуванні цефтазидиму у цитратнокислому середовищі утворюється забарвлений продукт без використання реагентів – імовірно азосполука на основі цефтазидиму. Однією з класичних методик визначення цефтазидиму за реакцією азосполучення є взаємодія з 1-нафтолом [10], де діазотування цефтазидиму здійснюють в середовищі концентрованої хлоридної кислоти. Тому нами було вивчено, який вигляд має спектр світлопоглинання цефтазидиму та діазотованого ЦЕФТ у кислому та лужному середовищах. Як видно з рис. 1,а, спектри солі діазонію ЦЕФТ в кислому та лужному середовищах

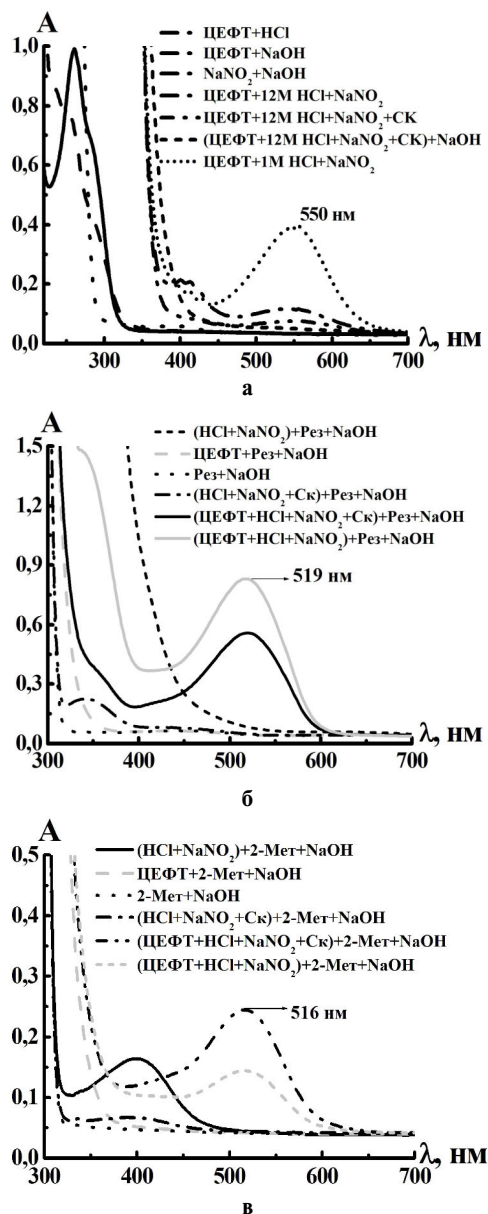


Рис. 1. Електронні спектри світлопоглинання розчинів а) ЦЕФТ та його діазосолі, і азосполучення б) резорцином та в) 2-метилфенолом.  $C_{\text{CEFT}}=3,7 \cdot 10^{-4}$  М;  $C_{\text{HCl}}=12,0$  М;  $C_{\text{NaNO}_2}=7,5 \cdot 10^{-4}$  М;  $C_{\text{CK}}=1,0 \cdot 10^{-3}$  М;  $C_{\text{Pez}}=1,4 \cdot 10^{-3}$  М;  $C_{2\text{-Mer}}=1,4 \cdot 10^{-3}$  М;  $C_{\text{NaOH}}=0,16$  М;  $l=1$  см

практично не відрізняються від спектрів антибіотику в цих середовищах. Однак з цих спектрів світлопоглинання видно, що діазотуваний ЦЕФТ в середовищі 1 М НСІ азосполучається між собою і має максимум світлопоглинання при  $\lambda_{\text{max}}=550$  нм, існування цього продукту у слабкислому середовищі описано в роботі [14]. Проте використання концентрованої хлоридної кислоти для діазотування ЦЕФТ перешкоджає утворенню саме цієї сполуки.

Встановлено, що при взаємодії діазосолі

цефтазидиму з лужними розчинами Рез та 2-Мет утворюються забарвлені у фіолетовий колір сполуки, які характеризуються появою нових максимумів світлопоглинання при  $\lambda_{\text{max}}=519$  нм та  $\lambda_{\text{max}}=516$  нм, відповідно (рис. 1,б,в). Використання сульфамінової кислоти для усунення непрореагованого надлишку натрій нітриту у випадку вивчення взаємодії з 2-Мет приводить до збільшення інтенсивності максимуму світлопоглинання продукту у порівнянні, коли сульфамінову кислоту не використовували. Для реакції азосполучення діазотованого ЦЕФТ з Рез непрореагований при діазотуванні надлишок натрій нітриту недоцільно усувати сульфаміновою кислотою, оскільки за його наявності величина максимуму світлопоглинання одержаного продукту взаємодії є дещо вищою. Такий вплив сульфамінової кислоти у випадку взаємодії з 2-Мет можна пояснити тим, що непрореагований натрій нітрит імовірно окиснює реагент чи утворений продукт, що зменшує його світлопоглинання. У випадку взаємодії із резорцином узгоджена орієнтація ОН-груп реагенту дозволяє його нітрузувати, що при утворенні азосполуки сприяє більшому спряженню електронної густини і відповідно зростанню світлопоглинання її розчинів.

Оскільки концентрація кислоти, в якій проводять діазотування цефтазидиму, істотно впливає на те чи утвориться продукт азосполучення діазотованого ЦЕФТ між собою, було визначено мінімальну концентрацію хлоридної кислоти, за якої такий продукт не утворюється, а вихід самого продукту азосполучення із досліджуваними реагентами є максимальним.

Як видно з рис. 2, лише при використанні 1 М хлоридної кислоти для діазотування ЦЕФТ спостерігається максимум при 557 нм з невели-

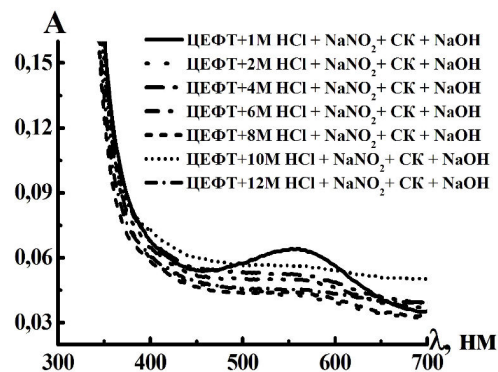


Рис. 2. Вплив концентрації хлоридної кислоти при діазотуванні ЦЕФТ на світлопоглинання продукту його азосполучення в лужному середовищі.  $C_{\text{CEFT}}=3,7 \cdot 10^{-4}$  М;  $C_{\text{NaNO}_2}=7,5 \cdot 10^{-4}$  М;  $C_{\text{CK}}=1,0 \cdot 10^{-3}$  М;  $C_{\text{NaOH}}=0,16$  М;  $l=1$  см

кою інтенсивністю, який очевидно, відповідає світлопоглинанню азосполуки утвореної внаслідок взаємодії молекул діазотованого ЦЕФТ між собою в лужному середовищі. Використання більш концентрованої кислоти запобігає утворенню даної азосполуки. Наявність великого надлишку протонів призводить до того, що первинна ароматична аміногрупа цефтазидиму є протонувана і має позитивний заряд, що перешкоджає її азосполученню із позитивно зарядженою діазогрупою.

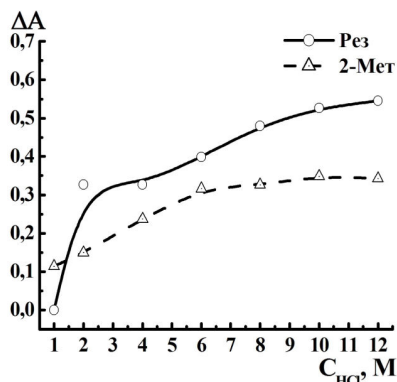


Рис. 3. Вплив концентрації хлоридної кислоти при діазотування цефтазидиму на світлопоглинання продукту його азосполучення з Рез та 2-Мет.  $C_{\text{ЦЕФТ}}=1,0 \cdot 10^{-4}$  М;  $C_{\text{NaNO}_2}=1,0 \cdot 10^{-3}$  М;  $C_{\text{Рез}}=C_{\text{2-Мет}}=1,0 \cdot 10^{-3}$  М;  $C_{\text{NaOH}}=0,16$  М;  $\lambda_{\text{Рез}}=519$  нм;  $\lambda_{\text{2-Мет}}=516$  нм;  $l=1$  см

Щоб переконатися, чи концентрація хлоридної кислоти, яку використовують для діазотування, впливає на подальше азосполучення із досліджуваними реагентами, було досліджено її вплив. Результати досліджень (рис. 3) показують, що утворення максимальної кількості продукту взаємодії діазотованого ЦЕФТ з реагентами відбувається коли діазотування ЦЕФТ проводити в середовищі 12 М хлоридної кислоти у випадку обох досліджуваних реагентів.

Подальші дослідження показали, що з часом ( $>5$ хв) продукт власного азосполучення ЦЕФТ все ж утворюється, навіть коли проводити діазотування в середовищі концентрованої хлоридної кислоти (рис. 4), оскільки розчин діазосоли жовтіє. На спектрах це проявляється утворенням максимуму світлопоглинання при 455 нм і його подальшому зростанню. Такі результати свідчать про те, що швидкість утворення солі діазонію в концентрованій хлоридній кислоті є великою, і нема необхідності чекати: реагент можна додавати відразу після внесення натрій нітриту та сульфамінової кислоти. Відпо-

відно, 5 хв достатньо щоб провести діазотування і додати лужний розчин реагенту та отримати очікуваний продукт азосполучення практично миттєво.

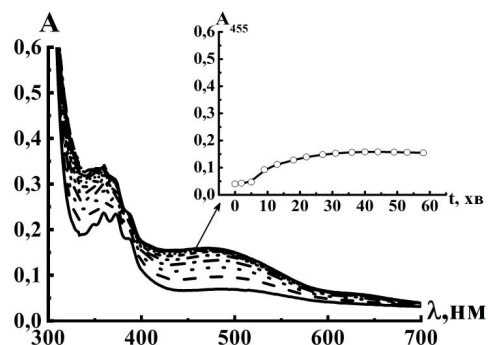


Рис. 4. Вплив тривалості утворення на світлопоглинання розчинів солі діазонію ЦЕФТ.  $C_{\text{ЦЕФТ}}=1,5 \cdot 10^{-4}$  М;  $C_{\text{HCl}}=12$  М;  $C_{\text{NaNO}_2}=1,5 \cdot 10^{-3}$  М;  $l=1$  см

Досліджено вплив концентрації NaOH на взаємодію діазотованого ЦЕФТ із резорцином та 2-метилфенолом (рис. 5). Максимальний вихід продуктів взаємодії діазотованого ЦЕФТ із досліджуваними реагентами спостерігається при концентрації лугу в реакційному середовищі 0,16 М (кінцева концентрація).

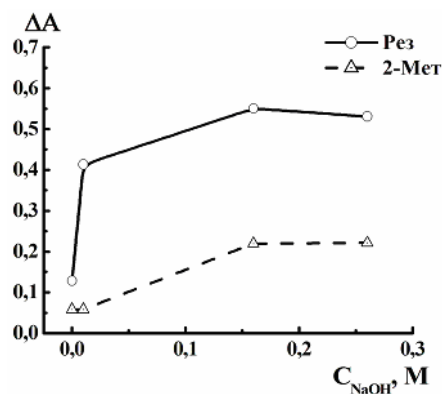


Рис. 5. Вплив концентрації натрій гідроксиду на світлопоглинання продуктів азосполучення солі діазонію ЦЕФТ із резорцином та 2-метилфенолом.  $C_{\text{ЦЕФТ}}=3,7 \cdot 10^{-4}$  М;  $C_{\text{HCl}}=12$  М;  $C_{\text{NaNO}_2}=7,5 \cdot 10^{-4}$  М;  $C_{\text{СК}}=1,0 \cdot 10^{-3}$  М;  $C_{\text{Рез}}=1,4 \cdot 10^{-3}$  М;  $C_{\text{2-Мет}}=1,4 \cdot 10^{-3}$  М;  $\lambda_{\text{Рез}}=519$  нм;  $\lambda_{\text{2-Мет}}=516$  нм;  $l=1$  см

Досліджено вплив концентрації натрій нітриту, як діазотуючого реагенту, на утворення діазосоли цефтазидиму (рис. 6) та її подальше азосполучення із досліджуваними реагентами. Як видно, максимальне світлопоглинання одержаних азосполук спостерігається при концентрації

натрій нітриту  $1,0 \cdot 10^{-3}$  М, тобто його 10-кратний надлишок відносно концентрації цефтазидиму.

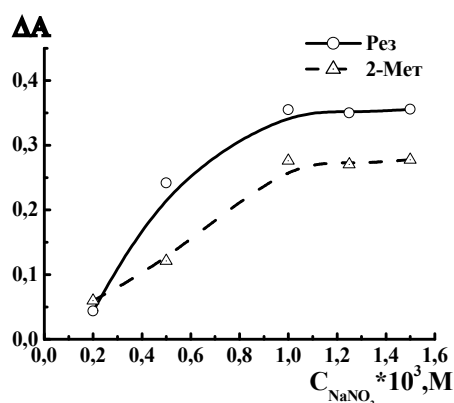


Рис. 6. Вплив концентрації натрій нітриту на світлопоглинання продуктів азосполучення солі діазонію ЦЕФТ із резорцином та 2-метилфенолом.  $C_{\text{CEFOT}}=1,0 \cdot 10^{-4}$  М;  $C_{\text{HCl}}=12$  М;  $C_{\text{Pez}}=C_{2\text{-Mer}}=7 \cdot 10^{-4}$  М;  $C_{\text{NaOH}}=0,16$  М;  $\lambda_{\text{Pez}}=519$  нм;  $\lambda_{2\text{-Mer}}=516$  нм;  $l=1$  см

Необхідний надлишок нітриту стосовно ЦЕФТ можна пояснити механізмом діазування, згідно з яким з однією ароматичною аміногрупою взаємодіє дві молекули нітритної кислоти; крім того, як відомо, надлишок реагенту зміщує рівновагу реакції в бік утворення продуктів реакції.

Як показали попередні дослідження, максимальне світлопоглинання азосполуки, утвореної у випадку взаємодії діазосолі ЦЕФТ із 2-метилфенолом, досягається за умов усунення надлишку натрій нітриту за допомогою сульфамінової кислоти. Тому було досліджено вплив її концентрації на вихід продукту реакції азосполучення діазосолі ЦЕФТ із 2-Мет. З отриманих результатів (рис. 7) видно, що оптимальним є використання сульфамінової кислоти з концентрацією  $1,5 \cdot 10^{-4}$  М, тобто її 1,5-кратний надлишок відносно концентрації діазотуючого реагенту.

Для встановлення оптимальних умов взаємодії діазотованого ЦЕФТ із фенольними сполуками здійснено пошук оптимального надлишку реагентів у реакційній суміші для максимального виходу продукту реакції. Як видно з отриманих результатів (рис. 8), максимальний вихід забарвлених форм аналіту досягається при таких концентраціях реагентів, що відповідають 10-кратному надлишку обох реагентів Pez і 2-Мет стосовно ЦЕФТ.

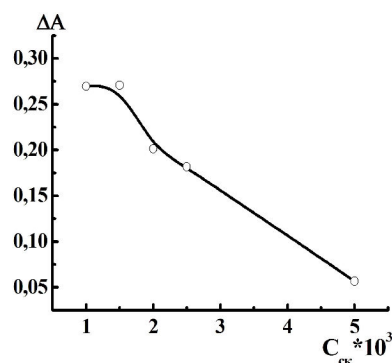


Рис. 7. Вплив концентрації сульфамінової кислоти на світлопоглинання продукту взаємодії розчинів діазотованого ЦЕФТ з 2-Мет.  $C_{\text{CEFOT}}=1 \cdot 10^{-4}$  М;  $C_{\text{HCl}}=12$  М;  $C_{\text{NaNO}_2}=1 \cdot 10^{-3}$  М;  $C_{\text{NaOH}}=0,16$  М;  $\lambda_{2\text{-Mer}}=516$  нм;  $l=1$  см

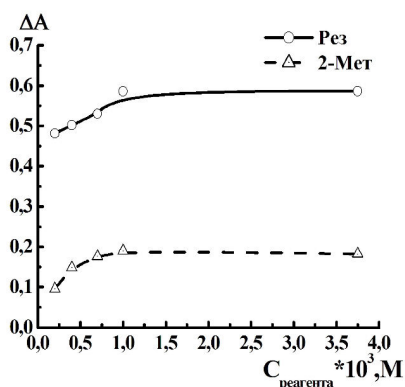


Рис. 8. Вплив концентрації реагентів на світлопоглинання продуктів їх азосполучення із діазосіллю ЦЕФТ.  $C_{\text{CEFOT}}=1,0 \cdot 10^{-4}$  М;  $C_{\text{NaNO}_2}=1,0 \cdot 10^{-3}$  М;  $C_{\text{СК}}=1,5 \cdot 10^{-3}$  М;  $C_{\text{HCl}}=12$  М;  $C_{\text{NaOH}}=0,16$  М.  $\lambda_{\text{Pez}}=519$  нм;  $\lambda_{2\text{-Mer}}=516$  нм;  $l=1$  см

Отримання азосполук, як аналітичних форм для визначення цефтазидиму, є двостадійним процесом, які проходять у різних середовищах, що має значний вплив на самі реагенти. Тому було досліджено порядок додавання компонентів у реакційну суміш. Встановлено, що максимальний вихід продуктів реакції спостерігається, якщо діазування та подальше азосполучення з обома реагентами проводити у такій послідовності: до аліквоти розчину цефтазидиму вносити розчин кислоти, тоді додавати розчин натрій нітриту та сульфамінової кислоти, а після цього виконувати азосполучення з відповідним лужним розчином реагентів.

Незважаючи на те, що цефтазидим містить одну первинну ароматичну аміногрупу, процес діазування та азосполучення відбувався в дос-



татньо агресивних середовищах, що може мати вплив на сам антибіотик, який може руйнуватися. Тому було досліджено співвідношення компонентів у азосполуках, утворених діазотованим цефтазидимом з досліджуваними реагентами методом ізомолярних серій. З результатів, наведених на рис. 9, можна зробити висновок, що при взаємодії діазотованого ЦЕФТ з Рез та 2-Мет утворюється продукт азосполучення із співвідношенням компонентів 1:1.

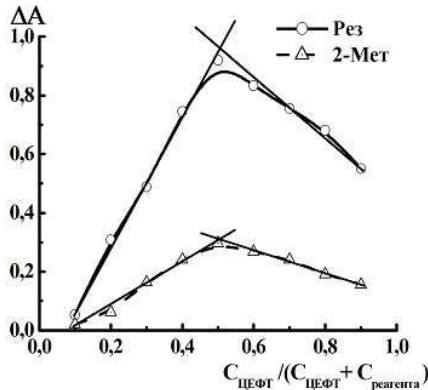


Рис. 9. Встановлення співвідношення компонентів у системах ЦЕФТ–Рез, ЦЕФТ–2-Мет методом ізомолярних серій.  $C_{\text{ЦЕФТ}} + C_{\text{Рез, 2-Мет}} = 3,7 \cdot 10^{-4}$  М;  $C_{\text{HCl}} = 12$  М;  $C_{\text{NaOH}} = 0,16$  М;  $\lambda_{\text{Рез}} = 519$  нм;  $\lambda_{\text{2-Мет}} = 516$  нм;  $l = 1$  см

На підставі даних ізомолярних кривих обрховано ефективні молярні коефіцієнти світлопоглинання, які наведено в табл. 3. Встановлено, що величина аналітичного сигналу забарвлених продуктів у системах ЦЕФТ–Рез та ЦЕФТ–2-Мет лінійно залежить від концентрації цефтазидиму в розчині. Як видно з табл. 3, при визначенні цефтазидиму з досліджуваними реагентами лінійність сигналу світлопоглинання продуктів зберігається в межах 1,5–2 порядків концентрацій ЦЕФТ. Чутливість реакції вза-

ємодії ЦЕФТ із реагентами є досить високою і близькою до більшості спектрофотометричних методик визначення цефтазидиму, а у випадку взаємодії з 2-метилфенолом перевищує чутливість запропонованих методик.

Для розроблення методики визначення важливе значення має стійкість у часі аналітичної форми, тому досліджено стабільність світлопоглинання утворених продуктів азосполучення діазотованого ЦЕФТ з Рез та 2-Мет.

Встановлено, що аналітичний сигнал характерний для продуктів взаємодії діазотованого ЦЕФТ із досліджуваними реагентами (рис. 10) залишається стабільним впродовж тривалого часу (більше 50 хв).

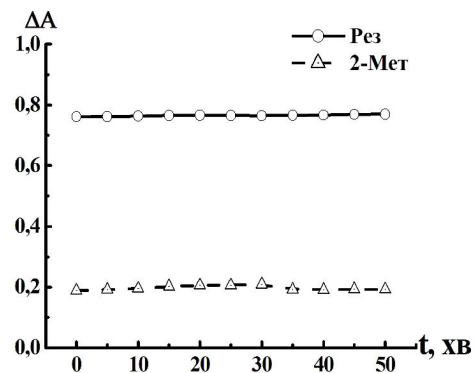


Рис. 10. Стабільність у часі світлопоглинання продуктів азосполучення діазотованого ЦЕФТ з Рез та 2-Мет.

$C_{\text{ЦЕФТ}} = 1,0 \cdot 10^{-4}$  М;  $C_{\text{HCl}} = 12$  М;  $C_{\text{NaNO}_2} = 1,0 \cdot 10^{-3}$  М;  $C_{\text{Рез}} = 1,0 \cdot 10^{-3}$  М;  $C_{\text{2-Мет}} = 7,0 \cdot 10^{-4}$  М;  $C_{\text{СК}} = 1,5 \cdot 10^{-4}$  М;  $C_{\text{NaOH}} = 0,16$  М;  $\lambda_{\text{Рез}} = 519$  нм;  $\lambda_{\text{2-Мет}} = 516$  нм;  $l = 1$  см

Правильність спектрофотометричних методик визначення цефтазидиму з фенольними реагентами перевірено способом “введено-знайдено” на модельних розчинах методом градуйованого графіка (табл. 4). Отримані результати

Таблиця 3

Аналітичні характеристики спектрофотометричного визначення ЦЕФТ з використанням Рез та 2-Мет.  
 $n=5$ ;  $R=0,95$ ;  $C_{\text{HCl}}=12$  М;  $C_{\text{Рез}}=1,0 \cdot 10^{-3}$  М;  $C_{\text{2-Мет}}=7,0 \cdot 10^{-4}$  М;  $C_{\text{NaNO}_2}=1,0 \cdot 10^{-3}$  М,  
 $C_{\text{СК}}=1,5 \cdot 10^{-3}$  М,  $C_{\text{NaOH}}=0,16$  М;  $l=1$  см

Параметри/характеристики	ЦЕФТ+Рез	ЦЕФТ+2-Мет
$\lambda_{\text{max}}$ , нм	519	516
Межі лінійності, мкг/мл	2,75–185,5	0,32–191,3
$C_{\text{H}}$ , мкг/мл	2,54	0,28
$C_{\text{min}}$ , мкг/мл	0,84	0,09
Молярний коефіцієнт світлопоглинання, $\epsilon_{\lambda_{\text{max}}} \cdot 10^{-3}$ , л·моль <sup>-1</sup> ·см <sup>-1</sup>	6,84	6,34
Рівняння лінійної залежності ( $C_{\text{ЦЕФТ}}$ в мкг/мл)	$\Delta A = 0,271 + 3,91 \cdot 10^{-3} C$	$\Delta A = 0,062 + 4,85 \cdot 10^{-3} C$
Коефіцієнт кореляції (R)	0,9993	0,9987

вказують на те, що похибка визначення ЦЕФТ за розробленими методиками не перевищує похибки спектрофотометричного методу, а отже, розроблені методики можуть бути застосовані для аналізу реальних об'єктів.

Таблиця 4

**Результати спектрофотометричного визначення ЦЕФТ з Рез та 2-Мет у модельних розчинах.**  $n=5$ ;  $P=0,95$ ;  $C_{HCl}=12$  М;  $C_{NaNO_2}=1,0 \cdot 10^{-3}$  М;  $C_{CK}=1,5 \cdot 10^{-3}$  М;  $C_{Pez}=1,0 \cdot 10^{-3}$  М;  $C_{2-Мет}=7,0 \cdot 10^{-4}$  М;  $C_{NaOH}=0,16$  М;  $\lambda_{Pez}=519$  нм;  $\lambda_{2-Мет}=516$  нм;  $l=1$  см

Реагент	Внесено ЦЕФТ, мкг/мл	Знайдено ЦЕФТ, $\bar{x} \pm \frac{S \cdot t_{\alpha}}{\sqrt{n}}$ , мкг/мл	$S_r$
Рез	16,00	15,72±0,78	0,04
2-Мет	66,00	66,01±0,82	0,01

Ліки на основі цефтазидиму випускають у формі порошку для приготування розчину для ін'єкцій. Допоміжні речовини, які використовують для виготовлення лікарських форм, як правило, не впливають на діючі речовини, однак можуть заважати визначенню їх вмісту за допомогою окремих реакцій. Для одержання зазначеної лікарської форми цефтазидиму як допоміжну речовину використовують безводний натрій карбонат.

На основі розроблених методик визначення ЦЕФТ із резорцином та 2-метилфенолом було визначено вміст цефтазидиму в однокомпонентних лікарських препаратах, які випускають у формі порошку для розчину для ін'єкцій "Цефтазидим" та "Денізид" виробництва Свісс Перентерале Пвт. Лтд, Індія (табл. 5).

Для отримання зазначених лікарських форм як допоміжну речовину використовують безвод-

ний натрій карбонат. Згідно з методиками контролю якості в досліджуваних лікарських препаратах натрій карбонат входить до складу буферованої стерильної суміші з цефтазидимом у співвідношенні 9:1. Результати дослідження впливу різних надлишків допоміжної речовини на кількісне визначення цефтазидиму з резорцином та 2-метилфенолом (рис. 11) показали, що навіть 18-кратний надлишок натрій карбонату не заважає кількісному визначенню даного антибіотика. Критерієм селективності визначення було обрано незмінність величини світлопоглинання розчинів отриманих продуктів реакції у межах 10%.

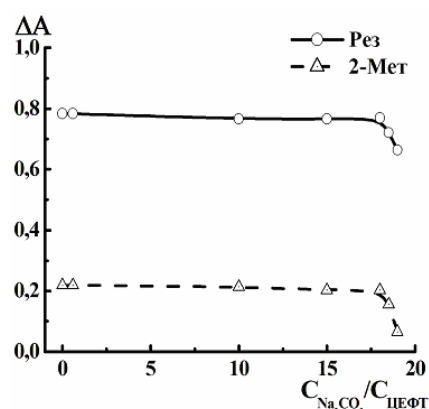


Рис. 11. Вплив надлишку натрій карбонату на світлопоглинання продуктів азосполучення діазотованого цефтазидиму із резорцином та 2-метилфенолом.  $C_{HCl}=12$  М;  $C_{Pez}=1,0 \cdot 10^{-3}$  М;  $C_{NaNO_2}=1,0 \cdot 10^{-3}$  М;  $C_{CK}=1,5 \cdot 10^{-3}$  М;  $C_{NaOH}=0,16$  М;  $\lambda_{Pez}=519$  нм;  $\lambda_{2-Мет}=516$  нм;  $l=1$  см

Згідно з методами контролю якості для досліджуваних лікарських форм вміст цефтазидиму

Таблиця 5

**Результати спектрофотометричного визначення ЦЕФТ з Рез та 2-Мет у лікарських препаратах (порошках для приготування розчинів для ін'єкцій).**  $n=5$ ;  $P=0,95$ ;  $C_{HCl}=12$  М;  $C_{NaNO_2}=1,0 \cdot 10^{-3}$  М;  $C_{Pez}=1,0 \cdot 10^{-3}$  М;  $C_{2-Мет}=7,0 \cdot 10^{-4}$  М;  $C_{CK}=1,5 \cdot 10^{-3}$  М;  $\lambda_{Pez}=519$  нм;  $\lambda_{2-Мет}=516$  нм;  $l=1$  см

Цефтазидим (регламентований вміст у препараті – 1 г/флакон)	Встановлений вміст $\bar{x} \pm \frac{S \cdot t_{\alpha}}{\sqrt{n}}$ , ( $S_r$ )		
	хроматографічно згідно з аналітичною документацією	спектрофотометрично з Рез	спектрофотометрично з 2-Мет
<b>"Цефтазидим" Свісс Перентерале Пвт. Лтд, Індія (допоміжна речовина – натрій карбонат безводний)</b>			
Цефтазидим 90–120% (0,90–1,20 г/флакон)	99,38±0,37 (0,994±0,0037) (0,003)	97,20±4,10 (0,972±0,041) (0,04)	99,12±1,23 (0,991±0,012) (0,01)
<b>"Денізид" Свісс Перентерале Пвт. Лтд, Індія (допоміжна речовина – натрій карбонат безводний)</b>			
Цефтазидим 90–120% (0,90–1,20 г/флакон)	100,77±0,25 (1,008±0,025) (0,001)	111,00±8,28 (1,110±0,083) (0,06)	100,31±1,24 (1,003±0,012) (0,01)



у досліджуваних препаратах визначають методом високоефективної рідинної хроматографії, і він має знаходитись у межах 90–120% від номінального вмісту впродовж терміну придатності.

Як видно з даних табл. 5, результати визначення ЦЕФТ у порошок для розчину для ін'єкцій "Цефтазидим" та "Денізид", одержані за розробленими методиками з Рез та 2-Мет добре корелюють із результатами отриманими методом ВЕРХ, який є рекомендованим для кількісного визначення цефтазидиму згідно з фармакопеею Сполучених Штатів Америки (United States Pharmacopoeia 30 and National Formulary 25: the official compendia of standards. United States Pharmacopoeial Convention, 2007, P.1402-1407) і є в межах допустимих вмістів ЦЕФТ. Отже, на підставі отриманих результатів ми можемо пропонувати розроблені методики для контролю вмісту ЦЕФТ у лікарських засобах. Значення  $S_r$  не перевищують типових значень для спектрофотометрії.

#### **Висновки**

Розроблено дві спектрофотометричні методики визначення антибіотика цефалоспоринового ряду цефтазидиму. Методики кількісного визначення ЦЕФТ ґрунтуються на попередньому діазотуванні антибіотика у середовищі концентрованої хлоридної кислоти та подальшому азосполученні з резорцином та 2-метилфенолом у середовищі 0,16 М NaOH. Розроблені методики володіють низкою значних переваг у порівнянні з іншими відомими спектрофотометричними методиками, зокрема, не потребують використання органічних розчинників, льодяної та водяної бань, а також є швидкими у виконанні, простими та чутливими.

#### **СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ**

1. *Abounassif M.A., Mian N.A., Mian M.S.* Analytical profile of ceftazidime // *Anal. Profile Drug Subst.* – 1990. – Vol.19. – P.95-121.
2. *Hassouna M.E.M., Mohamed M.A.* Stability Indicating Rp-HPLC method for simultaneous estimation of ceftazidime pentahydrate and its impurity product pyridine in powder used for making solution in vial for IM & Iv injections // *Ann. Rev. Res.* – 2018. – Vol.1. – No. 3. – Article No. 555561.
3. *Voltammetric* and theoretical studies of the electrochemical behavior of cephalosporins at a mercury electrode / *Nikolic K., Aleksic M.M., Kapetanovic V., Agbaba D.* // *J. Serb. Chem. Soc.* – 2015. – Vol.80. – No. 8. – P.1035-1049.
4. *Electrophoretic* stacking for sensitive determination of antibiotic ceftazidime in human blood and microdialysates from diabetic foot / *Tuma P., Jacek M., Fejfarova V., Polak J.* // *Anal. Chim. Acta.* – 2016. – Vol.942. – P.139-145.
5. *Analysis* of cephalosporin antibiotics / *El-Shaboury S.R., Saleh G.A., Mohamed F.A., Rageh A.H.* // *J. Pharm. Biomed. Anal.* – 2007. – Vol.45. – No. 1. – P.1-19.
6. *Roopa K.P., Jayanna B.K.* Spectrophotometric determination of some cephalosporins in bulk and in pharmaceutical formulations // *Anal. Chem. Lett.* – 2016. – Vol.6. – No. 2. – P.143-152.
7. *Adegoke O.A., Quadri M.O.* Novel spectrophotometric determinations of some cephalosporins following azodye formation with *p*-dimethylaminobenzaldehyde // *Arabian J. Chem.* – 2016. – Vol.9. – No. 2. – P.S1272-S1282.
8. *Development* of spectrophotometric method for determination of Ceftazidime with the Bratton-Marshall reagent in pharmaceutical preparation / *Dung N.T., Dao D.T., Hoat G.D., Son N.A.* // *J. Sci. Technol.* – 2017. – Vol.55. – No. 2. – P.220-228.
9. *Hiremath B., Mruthyunjayaswamy B.H.* Development and validation of spectrophotometric methods for determination of ceftazidime in pharmaceutical dosage forms // *Acta. Pharm.* – 2008. – Vol.58. – P.275-285.
10. *Spectrophotometric* estimation of ceftazidime in pure and pharmaceutical forms / *Mruthyunjayaswamy B.H.M., Hiremath B., Malipatani S.M., Raju S.A.* // *Asian J. Chem.* – 2007. – Vol.19. – No. 5. – P.3770-3774.
11. *Mechanism* of base-catalyzed resorcinol formaldehyde and phenol-resorcinol-formaldehyde condensation reactions: a theoretical study / *Li T. Cao M., Liang J., Xie X. Du G.* // *Polymers.* – 2017. – Vol.9. – Article No. 426.
12. *Zheng Y., Kuo C.H.* Kinetics and mechanism of the reaction between ozone and *o*-cresol in aqueous solutions // *Chem. Eng. Comm.* – 1996. – Vol.145. – P.33-51.
13. *Resorcinol-formaldehyde* resin-based porous carbon spheres with high CO<sub>2</sub> capture capacities / *Wang X., Zhou J., Xing W., Liu B., Zhang J., Lin H., Cui H., Zhuo S.* // *J. Energy Chem.* – 2017. – Vol.26. – No. 5. – P.1007-1013.
14. *Uri V.J., Jain T.C.* Colorimetric detection and spectrophotometric determination of the aminothiazolylalkoxyimino  $\beta$ -lactams // *J. Antibiot.* – 1986. – Vol.39. – No. 5. – P.669-675.

Надійшла до редакції 08.09.2020

**SPECTROPHOTOMETRIC DETERMINATION OF CEFTAZIDIME IN PHARMACEUTICALS USING RESORCINOL AND 2-METHYLPHENOL**

*O. Kostiv*\*, *O. Korkuna*, *M. Sheredko*

Ivan Franko National University of Lviv, Lviv, Ukraine

\* e-mail: oksana.kostiv@lnu.edu.ua

We developed two fast, simple and sensitive spectrophotometric methods for the determination of ceftazidime in drugs by using phenolic reagents resorcinol and 2-methylphenol. The methods are based on a previous antibiotic diazotization in the medium of hydrochloric acid ( $C_{HCl}=12\text{ M}$ ) and its following azo coupling with reagents in an alkaline medium with the formation of effective analytical forms that allow determining ceftazidime and have maximum absorbance at 519 nm and 516 nm for resorcinol and 2- methylphenol, respectively. The azo coupling products of diazotized ceftazidime exhibit effective molar absorptivity in the range of  $(6.31-6.84)\cdot 10^3\text{ M}^{-1}\text{ cm}^{-1}$ . Stoichiometric ratios of the azo compounds components were established using continuous variations methods and they were the same in both cases (1:1). The developed methods allow determining from 2.75 to 185.5  $\mu\text{g mL}^{-1}$  of ceftazidime with resorcinol (LOQ=2.54  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ) and 0.32-191.3  $\mu\text{g mL}^{-1}$  of ceftazidime with 2-methylphenol (LOQ=0.28  $\mu\text{g mL}^{-1}$ ). The developed methods have been successfully tested in the analyses of one-component preparations (powders for injection solutions).

**Keywords:** ceftazidime; resorcinol; 2-methylphenol; diazotization; azocoupling; spectrophotometry; drugs.

**REFERENCES**

1. Abounassif MA, Mian NA, Mian MS. Analytical profile of ceftazidime. *Anal Profiles Drug Subst.* 1990; 19: 95-121.
2. Hassouna ME, Mohamed MA. Stability indicating Rp-HPLC method for simultaneous estimation of ceftazidime pentahydrate and its impurity product pyridine in powder used for making solution in vial for IM & Iv injections. *Ann Rev Res.* 2018; 1(3): 555561.
3. Nikolic K, Aleksic MM, Kapetanovic V, Agbaba D. Voltammetric and theoretical studies of the electrochemical behavior of cephalosporins at a mercury electrode. *J Serb Chem Soc.* 2015; 80(8): 1035-1049.
4. Tuma P, Jacek M, Fejfarova V, Polak J. Electrophoretic stacking for sensitive determination of antibiotic ceftazidime in human blood and microdialysates from diabetic foot. *Anal Chim Acta.* 2016; 942: 139-145.
5. El-Shaboury SR, Saleh GA, Mohamed FA, Rageh AH. Analysis of cephalosporin antibiotics. *J Pharm Biomed Anal.* 2007; 45(1): 1-19.
6. Roopa KP, Jayanna BK. Spectrophotometric determination of some cephalosporins in bulk and in pharmaceutical formulations. *Anal Chem Lett.* 2016; 6(2): 143-152.
7. Adegoke OA, Quadri MO. Novel spectrophotometric determinations of some cephalosporins following azodye formation with p-dimethylaminobenzaldehyde. *Arabian J Chem.* 2016; 9(2): S1272-S1282.
8. Dung NT, Dao DT, Hoat GD, Son NA. Development of spectrophotometric method for determination of ceftazidime with the Bratton-Marshall reagent in pharmaceutical preparation. *J Sci Technol.* 2017; 55(2): 220-228.
9. Hiremath B, Mruthyunjayaswamy HM. Development and validation of spectrophotometric methods for determination of ceftazidime in pharmaceutical dosage forms. *Acta Pharm.* 2008; 58: 275-285.
10. Mruthyunjayaswamy BH, Hiremath B, Malipatal SM, Raju SA. Spectrophotometric estimation of ceftazidime in pure and pharmaceutical forms. *Asian J Chem.* 2007; 19(5): 3770-3774.
11. Li T, Cao M, Liang J, Xie X, Du G. Mechanism of base-catalyzed resorcinol-formaldehyde and phenol-resorcinol-formaldehyde condensation reactions: a theoretical study. *Polymers.* 2017; 9(9): 426.
12. Zheng Y, Kuo CH. Kinetics and mechanism of the reaction between ozone and o-cresol in aqueous solutions. *Chem Eng Commun.* 1996; 145: 33-51.
13. Wang X, Zhou J, Xing W, Liu B, Zhang J, Lin H, et al. Resorcinol-formaldehyde resin-based porous carbon spheres with high CO<sub>2</sub> capture capacities. *J Energy Chem.* 2017; (26)5: 1007-1013.
14. Uri VJ, Jain TC. Colorimetric detection and spectrophotometric determination of the aminothiazolyl-alkoxyimino  $\beta$ -lactams. *J Antibiot.* 1986; 39(5): 669-675.