



## РАЗРАБОТКА МЕТОДИКИ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПРЕПАРАТА ЦЕФЕПИМ МЕТОДОМ УБ- СПЕКТРОФОТОМЕТРИИ

Н.С.Нормахаматов,<sup>1</sup> М.М.Хошимбаева<sup>2</sup>

<sup>1-2</sup>Ташкентский Фармацевтический институт

<https://doi.org/10.5281/zenodo.6727019>

### ARTICLE INFO

Received: 28<sup>th</sup> May 2022

Accepted: 02<sup>nd</sup> June 2022

Online: 05<sup>th</sup> June 2022

### KEY WORDS

цефепим, антибиотик,  
цефалоспорин,  
спектрофотометрия,  
обеспечение качества,  
цефепим гидрохлорид.

### ABSTRACT

*В данной статье представлен количественный анализ препарата цефепим. Определение проводилось методом абсорбционной спектрофотометрии в ультрафиолетовой и видимой областях. В нормативном документе для количественного анализа цефепима предусмотрен метод ВЭЖХ, а для количественного анализа цефепима впервые используется метод СФ.*

**Введение.** С момента внедрения цефалоспоринов в 1960-х годах, они считаются ключевыми препаратами в антибактериальных лекарственных средствах. Модификации основной структуры цефепима привели к развитию нескольких поколений цефалоспоринов. Цефепим относится к цефалоспорины «четвертого поколения», введенного в клиническую практику в 1994 году. Это прототип цефалоспорины, связанный с расширенным спектром синтеза активности в лабораторных условиях против грамотрицательных и грамположительных патогенов при ингибировании бактериальной оболочки клетки. Он был одобрен для лечения инфекций от средней степени тяжести до тяжелых. [3]

Если проанализировать государственную регистрацию препарата Цефепим, то его производит

компания «Радикс», а также фармацевтические компании из таких стран, как Индия, Россия и Украина, которые являются лидерами на мировом фармацевтическом рынке, видно, что препарат Цефепим, выпускается предприятиями, прошла государственную регистрацию.

Цефепим — действует бактерицидно, нарушая синтез клеточной стенки микроорганизмов. Обладает широким спектром действия в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий, штаммов, резистентных к аминогликозидам и/или цефалоспориновым антибиотикам III поколения. Высокоустойчив к гидролизу большинства бета-лактамаз и быстро проникает в грамотрицательные бактериальные клетки. Внутри бактериальной клетки молекулярной



мишенью является пенициллинсвязывающие белки. Активен *in vivo* и *in vitro* в отношении грамположительных аэробов: *Staphylococcus aureus* (только метициллиночувствительные штаммы), *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus pyogenes* (группа А), *Streptococcus viridans*; грамотрицательных аэробов: *Enterobacter* spp., *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*. *in vitro* активен (но клиническая значимость неизвестна) в отношении грамположительных аэробов: *Staphylococcus epidermidis* (только метициллиночувствительные штаммы), *Staphylococcus saprophyticus*, *Streptococcus agalactiae* (группа В); грамотрицательных аэробов: *Acinetobacter calcoaceticus* subsp. Iwoff, *Citrobacter diversus*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter agglomerans*, *Haemophilus influenzae* (включая штаммы, продуцирующие бета-лактамазу), *Hafnia alvei*, *Klebsiella oxytoca*, *Moraxella catarrhalis* (включая штаммы, продуцирующие бета-лактамазы), *Morganella morganii*, *Proteus vulgaris*, *Providencia rettgeri*, *Providencia stuartii*, *Serratia marcescens*. Большинство штаммов *Enterococci*, в том числе *Enterococcus faecalis*, метициллинорезистентные стафилококки, *Stenotrophomonas* (ранее известный как *Xanthomonas maltophilia* и *Pseudomonas maltophilia*), *Clostridium difficile* не

чувствительны к цефепиму. Препарат Цефепим используется при лечении пневмонии (среднетяжёлая и тяжёлая), вызванной *Streptococcus pneumoniae* (в том числе случаи ассоциации с сопутствующей бактериемией), *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae* или *Enterobacter* spp. Фебрильная нейтропения (эмпирическая терапия). Осложнённые и неосложнённые инфекции мочевыводящих путей (включая пиелонефрит), вызванные *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*. Неосложнённые инфекции кожи и мягких тканей, вызванные *Staphylococcus aureus* (только метициллиночувствительные штаммы), *Streptococcus pyogenes*. Осложнённые интраабдоминальные инфекции (в комбинации с метронидазолом), вызванные *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter* spp., *Bacteroides fragilis*. [3]

Учитывая большую потребность в антибактериальных лекарственных средствах в виде инъекционного раствора, разработка отечественного препарата с содержанием цефепим и оценка его качества являются актуальными.

**Цель исследования.** Целью данного исследования является разработка доступной и простой в исполнении методики УФ-спектрофотометрии для подтверждения подлинности и количественного содержания цефепима гидрохлорида в составе лекарственного средства цефепим порошок для приготовления инъекционного раствора 1 г.

Цефепим-порошок белого или белого с желтоватом оттенком цвета. Легко растворим в воде, растворим в 0,9% изотоническом растворе натрия хлорида, 5 % растворе глюкозы. [2]

Цефепим (цефепим гидрохлорид) представляет собой (6R,7R)-7-[[[(2Z)-(2-

амино-4-тиазолил)

(метоксимино)ацетил]амино]-3-[(1-метилпиролидино)метил]-8-оксо-5-тиа-1-азабицикло[4.2.0]окт-2-эн-2-

карбоксилат

дигидрохлорид

моногидрат.[2]

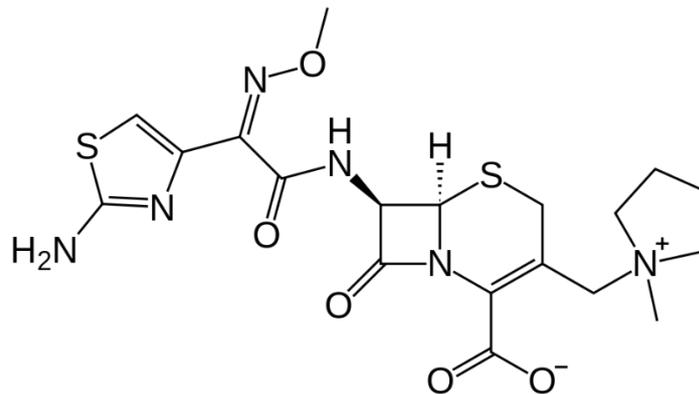


Рис. 1. Структурная формула цефепима.

**Материалы и методы.** Для осуществления метода использовали УБ-спектрофотометр марки UV-1800 японской фирмы Shimadzu и кюветы толщиной слоя 10мм.

**Экспериментальная часть.**

Приготовление раствора испытуемого образца: около 30,0 мг (т. н.) испытуемого препарата помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, добавляют 15 мл 0,1 М раствора соляной кислоты, перемешивают, доводят до метки тем же растворителем. Отбирают 1 мл из полученного раствора в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят до метки тем же растворителем, перемешивают. Приготовление раствора стандартного образца: около 40,0 мг (т. н.) стандартного образца цефепима гидрохлорида (USP RS) помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, добавляют 35 мл 0,1 М раствора

соляной кислоты, перемешивают, доводят до метки тем же растворителем. Отбирают 1 мл из полученного раствора в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят до метки тем же растворителем, перемешивают. В качестве раствора сравнения используют 0,1 М раствор соляной кислоты. Измеряют оптическую плотность стандартного и испытуемого образцов на спектрофотометре при длине волны 264 нм, в кювете с толщиной слоя 10 мм. [4] Содержание цефепима гидрохлорида в одном флаконе в мкг, рассчитывают по формуле:

$$x = \frac{D_1 * a_0 * 25 * 1 * 50 * P * b}{D_0 * a_1 * 50 * 1 * 50 * 100}$$

Где:

$D_1$  – оптическая плотность раствора испытуемого образца;

$D_0$  - оптическая плотность раствора стандартного образца;

$a_1$  - масса навески испытуемого препарата, в миллиграммах;

$a_0$  - масса навески стандартного образца, в миллиграммах;

$P$  - содержание основного вещества в цефепим гидрохлориде, в процентах;

$b$  - средняя масса флаконов, в миллиграммах.

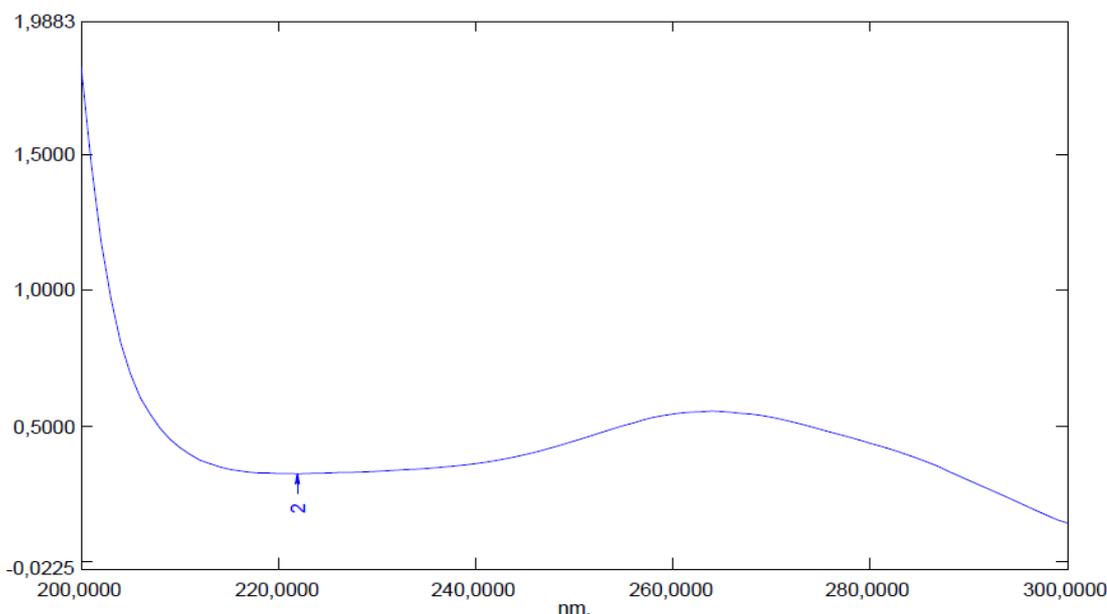
Содержание цефепима в одном флаконе должно быть от 990 мкг до 1150 мкг, в

Результаты анализа показаны на рисунке 2 и 3.

пересчете на среднюю массу одного флакона.

Тестовые и стандартные образцы готовили в указанной выше последовательности и измеряли оптическую плотность стандартного и испытуемого образцов на спектрофотометре при длине волны 254 нм, в кювете с толщиной слоя 10 мм.

**Результаты исследования.**

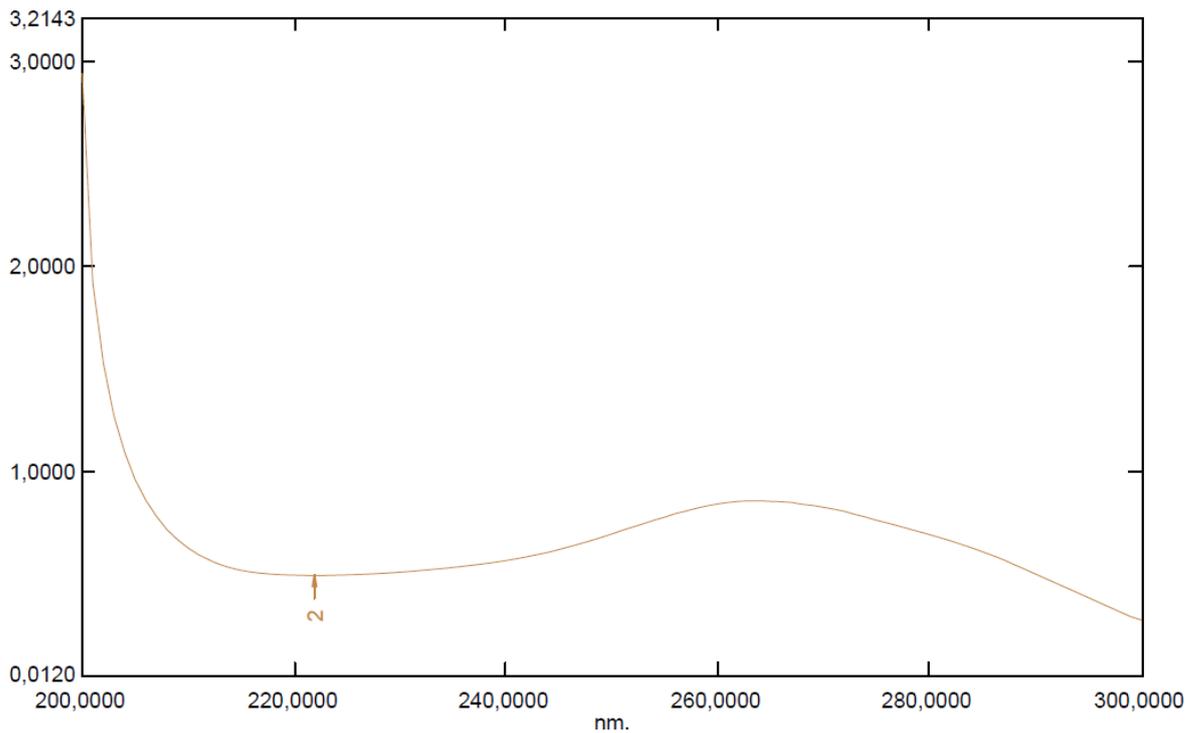


**Рис.2. Спектр поглощения испытуемого раствора. (при длине волны 254 нм)**

**Таблица 1**

**Метрологические характеристики результатов метода количественного определения препарата “Цефепим” (при длине волны 254 нм); (n=5; P=95%; t(p,f)=2,78)**

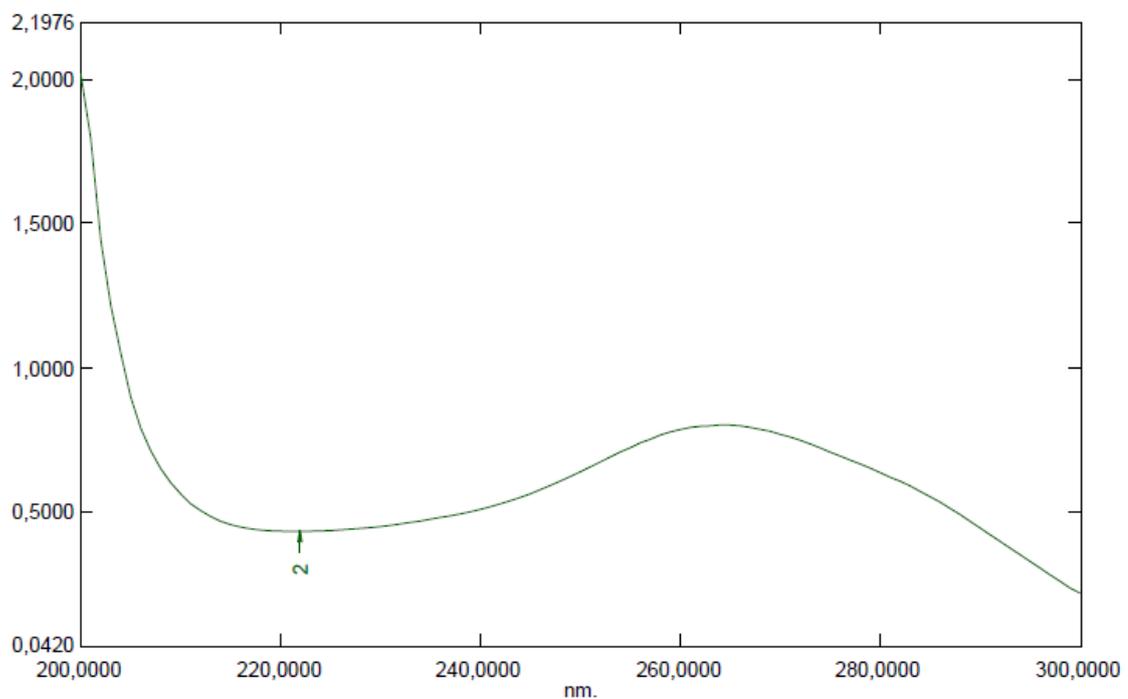
$X_1$	$\bar{X}$	$f$	$S^2$	$S$	$S_x$	$E\%$
998 мкг	997	4	0,25	0,5	0,224	0,14
995 мкг						
997 мкг						
996 мкг						
999 мкг						



**Рис.3. Спектр поглощения стандартного раствора. (при длине волны 254 нм)**

Тестовые и стандартные образцы готовили в указанной выше последовательности и измеряли оптическую плотность стандартного и испытываемого образцов на

спектрофотометре при длине волны 264 нм, в кювете с толщиной слоя 10 мм. Результаты анализа показаны на рисунке 4 и 5.

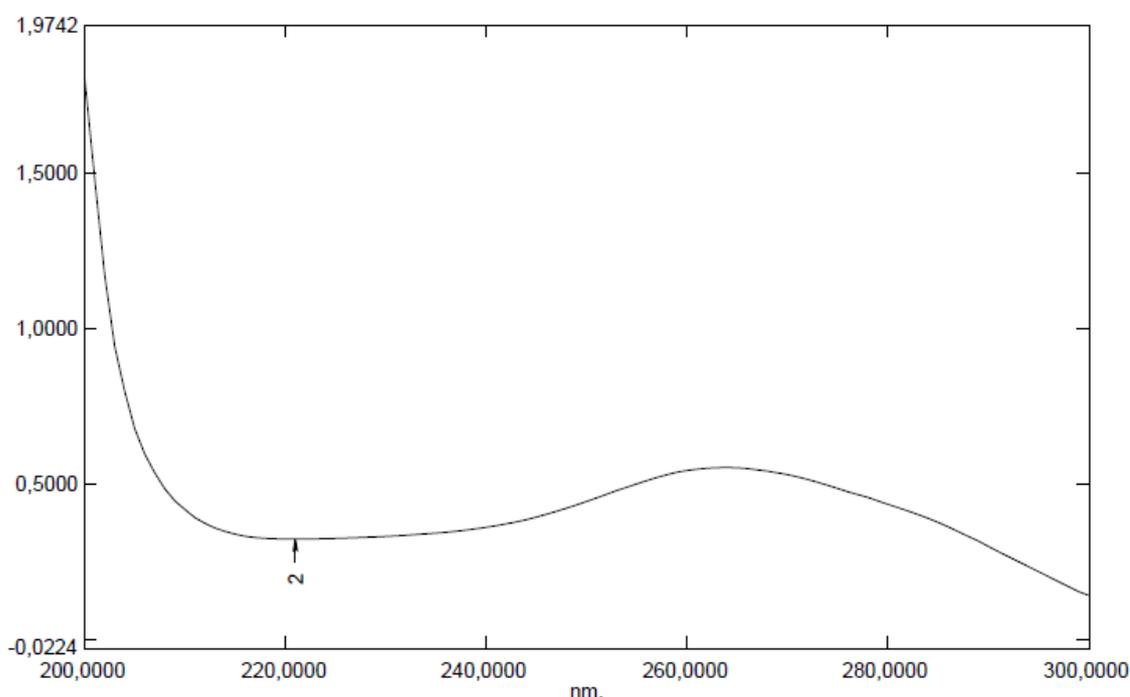


**Рис.4. Спектр поглощения испытываемого раствора. (при длине волны 264 нм)**

**Таблица 2**

**Метрологические характеристики результатов метода количественного определения препарата “Цефепим” (при длине волны 254 нм); (n=5; P=95%; t(p,f)=2,78)**

$X_1$	$\bar{X}$	f	$S^2$	S	$S_x$	E%
1142 мкг	1143	4	0,0776	0,2785	0,125	0,067
1143 мкг						
1141 мкг						
1144 мкг						
1145 мкг						



**Рис.5. Спектр поглощения испытуемого раствора. (при длине волны 264 нм)**

**Обсуждение полученных результатов.** В нормативном документе представлен метод ВЭЖХ для количественного анализа препарата Цефепим. Мы провели наш анализ методом СФ при 2 различных длинах волн 254 и 264 нм по сравнению со стандартной выборкой. По результатам анализа был произведен расчет по приведенной выше формуле и было подсчитано, что препарат Цефепим содержал 998 мкг на длине волны 254

нм и 1142 мкг на длине волны 264 нм. Полученные результаты соответствовали требованиям, изложенным в нормативных документах. Для оценки качества лекарственного препарата Цефепим нами были изучены фармакопейные показатели по общеизвестным методикам (таблица 3). [2]

**Таблица 3**

№	Наименование раздела	Спецификация (Нормы)	Методы
1	Описание	Порошок белого или белого с желтоватом оттенком цвета	Визуальный
2	Подлинность: 1. Цефепим	Время удерживания основного пика цефепима на хроматограмме испытуемого раствора препарата должно совпадать со временем удерживания основного пика на хроматограмме раствора рабочего стандартного образца (PCO)	ВЭЖХ
3	Прозрачность раствора	Раствор должен быть прозрачным или по степени мутности выдерживать сравнение с эталонным раствором I	ГФ РУз
4	Цветность раствора	Должен выдерживать сравнение с эталоном 2б	ГФ РУз
5	pH	От 4,0 до 6,0	Потенциометрически, ГФ РУз
6	Бактериальные эндотоксины	Не более 0,06 ЕЭ/мг	ОФС 42 Уз-0001-1010-2020, USP, ВР, ГФ РУз
7	Аномальная токсичность	Препарат должен быть нетоксичным	ОФС 42 Уз-0004-2339-2016, ГФ РУз
8	Количественное определение	От 90% до 110%	ВЭЖХ

**References:**

1. Склярская Н.В., Пахомова Л.А. Определение флавоноидов в траве пастушьей сумки: разработка методики и ее валидация-Фармация 2017.-Т.-66.-№4.-С. 20-24.
2. Фармакопейная статья предприятия препарата Цефепим порошок для инъекционного раствора 1 г.



3. Endimiani A, Pelez F, vonomo RA. Cefepime: areappraisal in an era of increasing antimicrobial resistance. *Expert Rev Anti infect Ther.* 2008;6(6):805-824.
4. Государственная фармакопея СССР XI выпуск 1. 1986 – 33-38 ст.