



Республика Таджикистан

(19) **TJ** ⁽¹¹⁾ 1561
(51) **МПК** : G01N33/16

ГОСУДАРСТВЕННОЕ ПАТЕНТНОЕ
ВЕДОМСТВО

(12) **Описание изобретения** К МАЛОМУ ПАТЕНТУ

1

(21) 2401935
(22) 12.03.2024
(46) Бюл. 213, 2024
(71) Юсуфи Саломудин Джаббор (TJ); Султонов Юлдошджон Каххорович (TJ); Султонов Алишер Юлдошджонович (TJ)
(72) Юсуфи Саломудин Джаббор (TJ); Султонов Юлдошджон Каххорович (TJ); Султонов Алишер Юлдошджонович (TJ)
(73) Юсуфи Саломудин Джаббор (TJ); Султонов Юлдошджон Каххорович (TJ); Султонов Алишер Юлдошджонович (TJ)
(54) СПОСОБ СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ АМОКСИЦИЛЛИНА В ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМАХ

Изобретение относится к аналитической химии и может быть использовано для определения концентрации амоксицилина. например, в составе порошка и гранул для приготовления суспензии с целью регулирования введения оптимальных доз антибиотиков при лечении различных инфекционных заболеваний, при исследовании фармакокинетики и др.

2

Задачей изобретения является создание чувствительного способа количественного определения амоксицилина в составе порошков и гранул для приготовления суспензии.

Поставленная задача решается способом спектрофотометрического определения амоксицилина в лекарственных формах, включающем спектрофотометрический анализ раствора амоксицилина, причем предварительно амоксициллин растворяют 0,1М раствором натрия гидроксида в соотношении 1:2000 (для порошков и гранул для приготовления суспензии с дозировкой 125 мг/5мл) и 1:4000 (для порошков и гранул для приготовления суспензии с дозировкой 250 мг/5мл), затем измеряют оптическую плотность в диапазоне волн $\lambda=220-300$ нм, причем предел обнаружения и количественного определения амоксицилина достигается при концентрации 0,00125% и длине волны 247 (± 2) нм.

Изобретение относится к аналитической химии и может быть использовано для определения концентрации амоксицилина. например, в составе порошка и гранул для приготовления суспензии с целью регулирования введения оптимальных доз антибиотиков при лечении различных инфекционных заболеваний, при исследовании фармакокинетики и др.

Из уровня техники известны различные способы количественного определения антибиотиков: микробиологические, спектрофотометрические, флуориметрические, хемилюминесцентные, различные варианты хроматографических методов, в т.ч. высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ), хроматомасспектрометрия, инверсионная вольтамперометрия, электроаналитическое определение с модифицированными электродами. Однако для определения β -лактамных антибиотиков предпочтительным является использование спектроскопических способов, основанных на использовании определенных свойств антибиотиков: собственное поглощение, цветные реакции, появление или исчезновение характерных полос в УФ, видимой или ИК-областях спектра под воздействием различных реагентов.

Прототипом заявленного способа является спектрофотометрический способ определения ампициллина, амоксициллина и карбенициллина с применением фенольного реактива Фолина-Чокальтеу [Ахмад А.С., Рахман Н., Ислам Ф. Спектрофотометрическое определение ампициллина, амоксициллина и карбенициллина с применением фенольного реактива Фолина-Чокальтеу // Журн. аналит. химии, 2004. - Т.12. - №2. - С.138-142.]. Смесь определяемых пенициллинов с реактивом при pH 2,25 нагревают в термостатируемой водяной бане при $95 \pm 2^\circ\text{C}$ и возникающую синюю окраску образующихся гетерополисоединений измеряют спектрофотометрически при $\lambda = 750$ нм для ампициллина и карбенициллина и при $\lambda = 770$ нм для амоксициллина. Однако обычно применяемые наполнители фармацевтических композиций (например, сахар) влияют на результат определения, поэтому такие наполнители должны быть удалены из анализируемых материалов перед определением пенициллинов в капсулах и таблетках. Метод предложен для определения антибиотиков в модельных растворах. Данный способ характеризуется также длительностью процесса, требует операции нагрева, которая отрицательно сказывается на состоянии антибиотика и, следовательно, на метрологических параметрах методики определения.

Задачей изобретения является создание чувствительного способа количественного определения и подлинности амоксицилина в составе порошков и гранул для приготовления суспензии.

Техническим результатом является сокращение времени определения при снижении предела обнаружения амоксицилина и оптимизации метрологических характеристик способа (увеличение точности определения, снижение погрешности определения результата).

Поставленная задача решается способом спектрофотометрического определения амоксициллина в

лекарственных формах, включающем спектрофотометрический анализ раствора амоксициллина, причем предварительно амоксициллин растворяют 0,1М раствором натрия гидроксида в соотношении 1:2000 (для порошков и гранул для приготовления суспензии с дозировкой 125 мг/5мл) и 1:4000 (для порошков и гранул для приготовления суспензии с дозировкой 250 мг/5мл), затем измеряют оптическую плотность в диапазоне волн $\lambda = 220-300$ нм, причем предел обнаружения и количественного определения амоксицилина достигается при концентрации 0,00125% и длине волны 247 (± 2) нм.

Специфичность методики обусловлена с тем, что спектр 0,00125% раствора амоксициллина в 0,1М растворе натрия гидроксида в ультрафиолетовой области, в отличие от спектров других присутствующих вспомогательных веществ, имеет максимум оптической плотности (поглощения) при длине волны 247 нм. А спектры других веществ либо вообще не имеют максимумы поглощения в ультрафиолетовой области спектра (сахароза, камедь ксантановая и др. углеводы), либо имеют незначительную оптическую плотность с максимумом в далёком, от максимума поглощения спектра амоксициллина, диапазоне. (см. рисунок 1).

Предел обнаружения и предел количественного определения связаны с высоким удельным показателем поглощения раствора амоксициллина, который позволяет минимальную оптимальную концентрацию в пределах от 0,00125% до 0,00150%, как указано выше, использовать для спектрофотометрического определения подлинности и количественного содержания. Это достигается путем разбавления содержания амоксициллина в приготовленной суспензии 0,1М раствором натрия гидроксида в соотношении 1:2000 (для порошков и гранул для приготовления суспензии с дозировкой 125 мг/5мл) и 1:4000 (для порошков и гранул для приготовления суспензии с дозировкой 250 мг/5мл). В результате такого разбавления оптическая плотность других веществ (например, натрия бензоата), содержащихся в малых количествах, будет ничтожной.

Таким образом, можно смело утверждать, что пределы обнаружения и наименьшее количество (концентрация) амоксициллина в образце (предел количественного определения) составляет 0,00125%, что соответствует 0,125 ppm.

Заявленный способ можно применять в интервале от 80 до 120 % от номинального значения определяемой аналитической характеристики, причем допустимые отклонения количественного содержания от номинального должны быть в пределах от 90 до 110%.

Для изучения линейной зависимости были приготовлены растворы амоксициллина с концентрациями: 0,0005%; 0,001%; 0,0015%; 0,002%; 0,0025% и 0,003%. Были сняты спектры этих растворов в одинаковых условиях, которые представлены на рисунке 2.

Как видно из таблицы и рис.3 максимумы оптической плотности в спектрах растворов амоксициллина имеют линейную зависимость от их концентраций, что соответствует закону Бугера-Ламберта-Бера.

Для подтверждения осуществимости заявленного изобретения были изучены модельные смеси с известным содержанием (концентрацией) определяемого вещества, путем сравнения результатов заявленным способом.

Прецизионность способа установлена по результатам трех определений оптической плотности для каждого из трех уровней концентраций (нижнего, среднего и верхнего), лежащих в пределах аналитической области методики. Для этого приготовили растворы амоксициллина в следующих трёх концентрациях: 0,0010%, 0,0015% и 0,0020%. В одинаковых условиях измеряли оптическую плотность каждого из этих растворов по три раза. Результаты измерений представлены на рисунке 4.

Как видно из таблицы 2, средняя величина отклонений в результатах измерений находится в пределах от 0,003% до 0,007%. Поскольку, величина показателя оптической плотности находится в прямой линейной зависимости от концентрации, что подтверждается повторяемостью (сходностью) измерений, проводимых по заявленному способу.

Заявленный способ подтверждается следующими примерами.

Пример 1.

Приготовили рабочий стандартный образец (PCO): отвесив 1,435 г (точная навеска) амоксициллина тригидрата стандартного образца поместили в мерную колбу объемом 100 мл долив 0,1 М раствора натрия гидроксида, доведя объем до 100 мл. Затем 1 мл полученного раствора поместили в мерную колбу объемом 100 мл и разбавили 0,1 М раствором натрия гидроксида до 100 мл. 10 мл полученного раствора внесли в 100 мл мерную колбу и разбавили 0,1 М раствором натрия гидроксида до 100 мл.

Затем определили содержания амоксициллина в 5 мл суспензии с объемом 60 мл и с дозировкой 125 мг/5мл, приготовленный из гранул с общей массой 20,00 г.

Для приготовления испытуемого образца содержимое из 10 бутылок (весом 20 г) испытуемого препарата, хорошо перемешали, и 20,00 г которого добавили в мерную колбу (50 мл) с 15 мл 0,1 М раствором натрия гидроксида. Хорошо перемешали и довели объем до метки с тем же растворителем, используя для полного растворения ультразвуковую ванну.

Затем раствор перенесли в коническую колбу на 100 мл. Внутреннюю поверхность мерной колбы на

Пример 2.

Определили содержания амоксициллина в 5 мл суспензии с объемом 100 мл и с дозировкой 250 мг/5мл приготовленной из гранул с общей массой

50 мл промыли 10 миллилитрами 0,1 М раствора натрия гидроксида, отмеренной пипеткой 1- класса точности и этот раствор добавили к основному объему в конической колбе.

В мерную колбу объемом 100 мл внесли 10 мл полученного раствора и довели объем с этим же растворителем до метки.

В мерную колбу объемом 100 мл отмерили 5 мл полученного раствора и довели объем 0,1 М раствором натрия гидроксида до метки.

Для осуществления измерения в кювету для холостой пробы (№0) внесли компенсационный растворитель – 0,1 М раствор натрия гидроксида. В кювету №1 внесли PCO. В кювету №2 - испытуемый образец. Толщина кювет – 1 см. Допустимые отклонения в толщине слоя используемых не более $\pm 0,005$ см. Кюветы, предназначенные для PCO и испытуемого раствора, имели одинаковые пропускания (оптическую плотность).

Измерения провели в оптическом диапазоне волн от 220 нм до 300 нм (± 2 нм), при $20 \pm 1^\circ\text{C}$. Максимум оптической плотности при длине волны 247 (± 2) нм.

Количество амоксициллина в мг в 5 мл исследуемого образца приготовленной суспензии (С,мг) рассчитали по следующей формуле:

$$C, \text{ мг} = \frac{A \times C_0 \times 10 \times 10 \times 20 \times 1000 \times P}{A_0 \times 1,148 \times 1000 \times 20 \times 100} = \frac{A \times C_0 \times 10 \times P}{A_0 \times 1,148 \times 10},$$

где:

С, мг – количество амоксициллина в 5 мл исследуемого образца суспензии, в мг;

C_0 – количество навески амоксициллина тригидрата, взятой для приготовления PCO, в гр;

1,148 – отношение молекулярной массы амоксициллина тригидрата к молекулярной массе амоксициллина.

A – оптическая плотность испытуемого образца; A_0 – оптическая плотность PCO;

P – содержание амоксициллина тригидрата в образце субстанции.

Содержание амоксициллина в 5 мл образца приготовленной суспензии содержалась в пределах от 112,50 мг до 137,50 мг (от 90% до 110 % от заявленного).

Совпадение максимумов в спектрах рабочего стандартного и испытуемого образцов доказала подлинность амоксициллина в испытуемом образце.

40,00 г.

Для приготовления испытуемого образца содержимое из 10 бутылок (весом ...) испытуемого препарата хорошо перемешав 40,00 г поместили в

мерную колбу объемом 100 мл, содержащий растворитель - 50 мл 0,1 М раствор натрия гидроксида. Хорошо перемешали и довели объём этим же растворителем до метки, используя для полного растворения ультразвуковую ванну.

В мерную колбу объемом 100 мл внесли 10 мл полученного раствора и довели объём этим же растворителем до метки. В мерную колбу на 100 мл внесли 5 мл полученного раствора и довели объём растворителем до метки. В мерную колбу (100 мл) отмерили 5 мл полученного раствора и довели растворителем до метки.

Для измерения в кювету для холостой пробы (№0) внесли компенсационный растворитель – 0,1 М раствор натрия гидроксида. В кювету №1 внесли РСО. В кювету №2 внесли испытуемый образец, где толщина кювета – 1 см. Допустимые отклонения в толщине слоя используемых кювет не превышало $\pm 0,005$ см. Кюветы, предназначенные для РСО и испытуемого раствора, имели одинаковое пропускание (или оптическую плотность).

Измерение провели в оптическом диапазоне волн 220 нм - 300 нм (± 2 нм), при $20 \pm 1^\circ\text{C}$. Максимальная оптическая плотность при длине волны 247 (± 2) нм.

Количество амоксициллина в мг в 5 мл исследуемого образца приготавливаемой суспензии (С, мг) рассчитывали по следующей формуле:

$$C, \text{ мг} = \frac{A \times C_0 \times 10 \times 20 \times 20 \times 1000 \times P}{A_0 \times 1,148 \times 1000 \times 20 \times 100} = \frac{A \times C_0 \times 10 \times 20 \times P}{A_0 \times 1,148 \times 100},$$

где:

С, мг – количество амоксициллина в 5 мл исследуемого образца суспензии, в мг;

C_0 – количество навески амоксициллина тригидрата, взятой для приготовления РСО, в гр.;

1,148 – отношение молекулярной массы амоксициллина тригидрата к молекулярной массе амоксициллина.

А – оптическая плотность испытуемого образца; A_0 – оптическая плотность РСО;

Р – содержание амоксициллина тригидрата в образце субстанции.

Содержание амоксициллина в 5 мл образце приготовленной суспензии составляет в пределах от 225 мг до 275 мг (от 90% до 110 % от заявленного).

Совпадение максимумов в спектрах рабочего стандартного и испытуемого образцов подтверждает подлинность амоксициллина в испытуемом образце.

Формула изобретения

Способ спектрофотометрического определения амоксициллина в лекарственных формах, включающий спектрофотометрический анализ раствора амоксициллина, отличающийся тем, что предварительно амоксициллин растворяют 0,1М раствором натрия гидроксида в соотношении 1:2000 (для порошков и гранул для приготовления суспензии с дозировкой 125 мг/5мл) и 1:4000 (для порошков и

гранул для приготовления суспензии с дозировкой 250 мг/5мл), затем измеряют оптическую плотность в диапазоне волн $\lambda=220-300$ нм, причем предел обнаружения и количественного определения амоксициллина достигается при концентрации 0,00125% и длине волны 247 (± 2) нм.

в 0,1М растворе натрия гидроксида

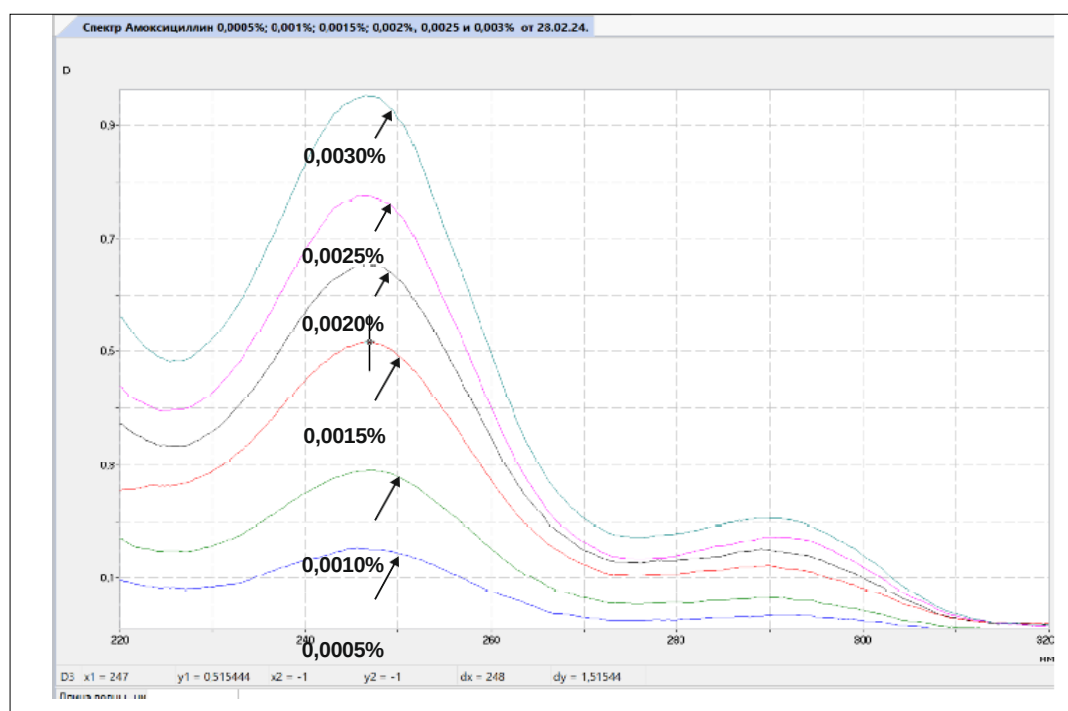
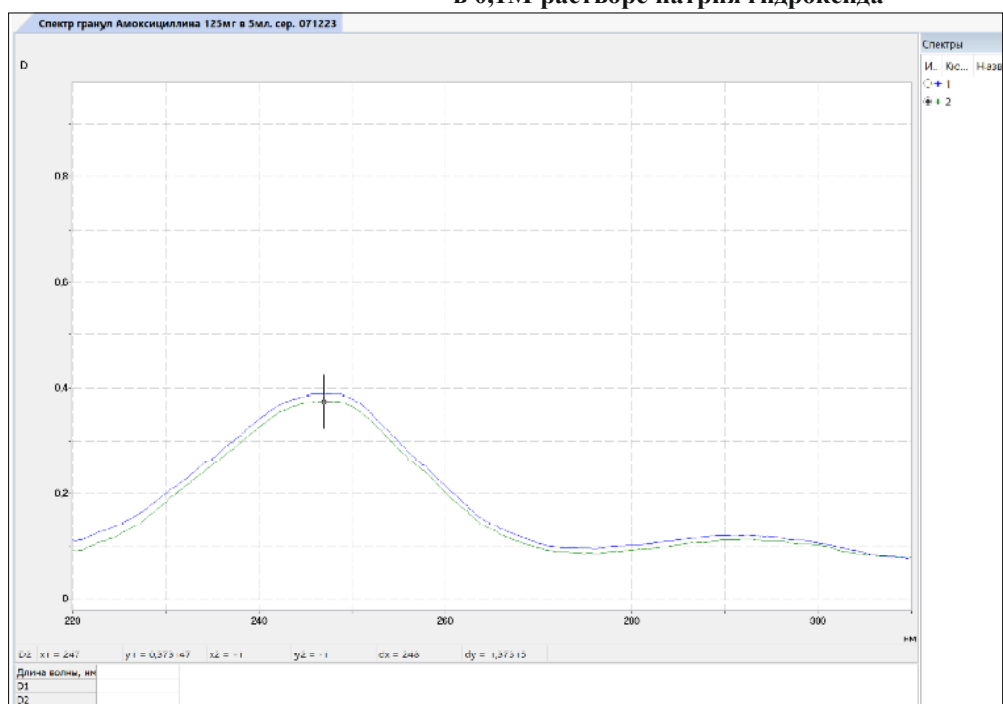


Рис.2

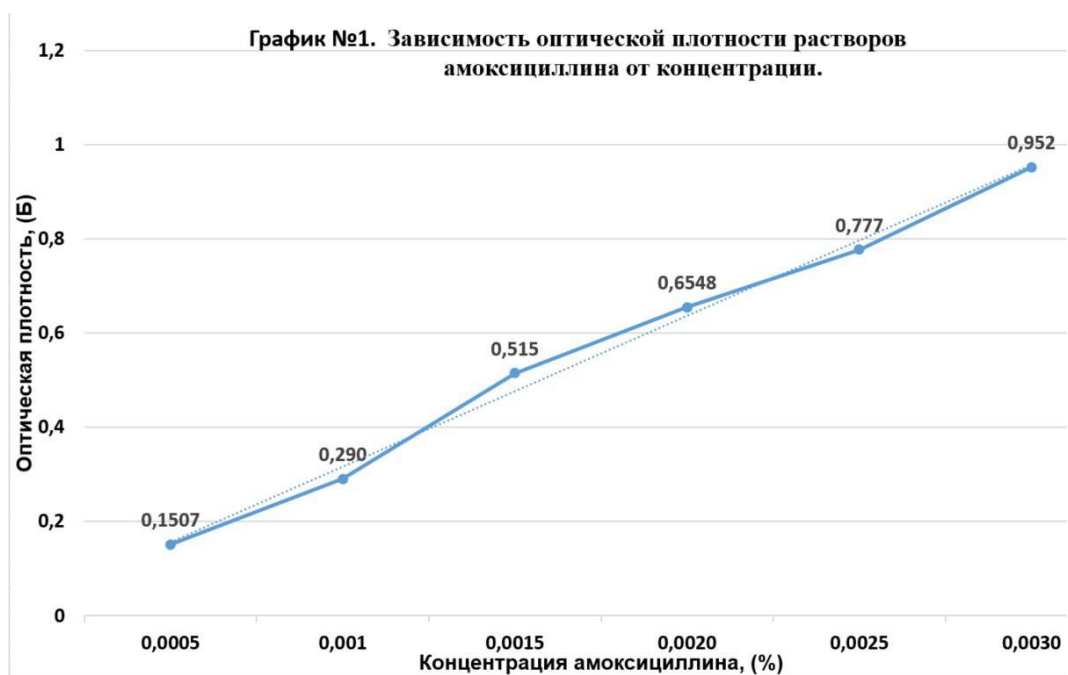


Рис.3

Спектры 0,0010%, 0,0015% и 0,0020% растворов амоксициллина (по 3 измерений каждой концентрации).

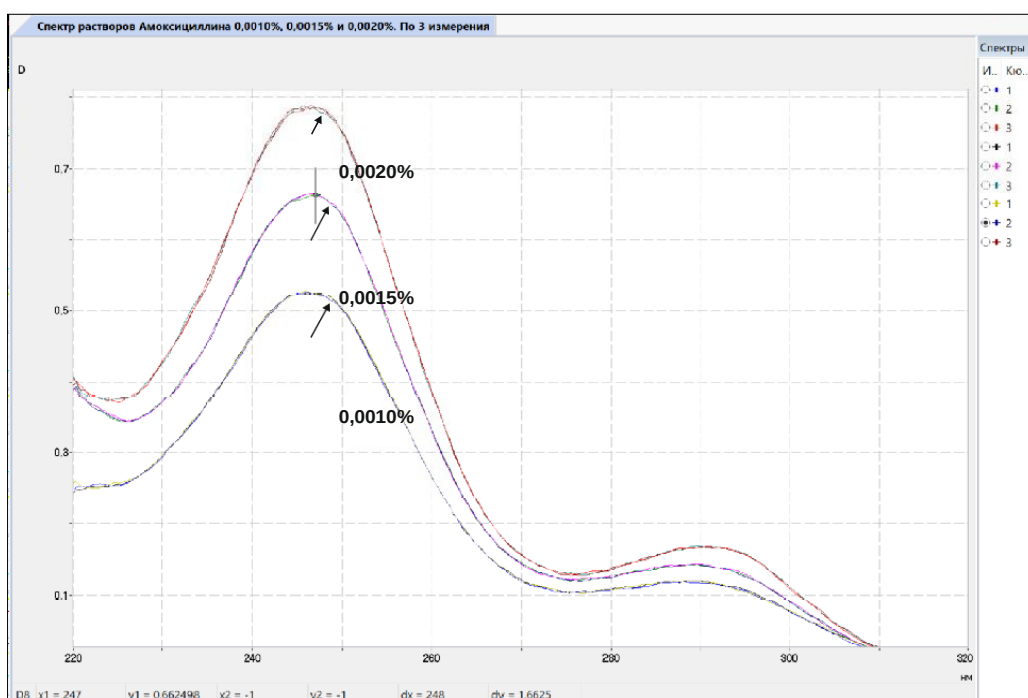


Рис.4

Таблица №1

Концентрация растворов (%)	x_1	0,0005	0,0010	0,0015	0,0020	0,0025	0,0030
Оптическая плотность (Б)	y_1	0,151	0,290	0,515	0,655	0,777	0,952

Таблица 2.

Проведенные измерения:	Уровень определяемой концентраций:		
	Нижний (0,0015%)	Средний (0,0020%)	Верхний (0,0030%)
	Оптическая плотность (Б):		
1-е измерение:	0,5238	0,6617	0,7847
2-е измерение:	0,5249	0,6623	0,7826
3-е измерение:	0,5252	0,6625	0,7852
Средняя величина оптической плотности:	0,5246	0,6622	0,7842
Отклонения от средней величины в каждом измерение, (%):			
1-е измерение:	0,15	0,08	-0,06
2-е измерение:	-0,06	-0,02	0,20
3-е измерение:	-0,11	-0,05	-0,13

Компьютерный набор: Газиев М.Х.

Заказ	Тираж	Подписное
Национальный патентно-информационный центр РТ 734042, г. Душанбе, ул. Айни, 14а		