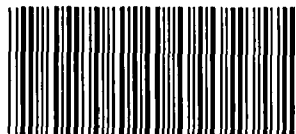


На правах рукописи



ЛЕБЕДЕВА НАТАЛЬЯ НИКОЛАЕВНА



4846221

**РАЗРАБОТКА КОМПЛЕКСНОГО ПОДХОДА К ОБНАРУЖЕНИЮ
ФАЛЬСИФИЦИРОВАННЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ ГРУППЫ
ЦЕФАЛОСПОРИНОВ**

14.04.02 – фармацевтическая химия, фармакогнозия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата фармацевтических наук

1 2 МАЙ 2011

Москва – 2011

Работа выполнена в ГОУ ВПО Первый Московский Государственный
Медицинский Университет имени И.М.Сеченова.

Научный руководитель: доктор фармацевтических наук, профессор
Дорофеев Владимир Львович

Официальные оппоненты: доктор фармацевтических наук
Боковикова Татьяна Николаевна
доктор фармацевтических наук
профессор
Черкасова Ольга Гавриловна

Ведущая организация: Учреждение Российской Академии
Медицинских Наук Научно-
исследовательский институт
фармакологии имени В.В.Закусова РАМН

Защита состоится: « _____ » _____ 2011 г. в _____ часов на заседании
Диссертационного Совета Д 208.040.09 при Первом Московском
Государственном Медицинском Университете имени И.М.Сеченова, по адресу:
119019, г.Москва, Никитский бульвар, д.13.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Первого МГМУ имени
И.М.Сеченова (117998, г. Москва, Нахимовский проспект, д.49).

Автореферат разослан « _____ » _____ 2011 г.

Ученый секретарь
Диссертационного Совета Д.208.040.09.
доктор фармацевтических наук,
профессор



Садчикова Наталья Петровна

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ.

Актуальность темы. Последние несколько десятилетий лекарственные средства группы цефалоспоринов находят все более широкое применение в медицинской практике. Данные препараты имеют широкий антибактериальный спектр и высокую эффективность при парентеральном и, в ряде случаев, пероральном введении.

В настоящее время остро стоит проблема проникновения на рынок фальсифицированных лекарственных средств. Наиболее часто фальсифицируются противомикробные лекарственные средства, в частности цефалоспорины.

Как показывает практика, чаще всего фальсифицированные лекарственные средства выявляются в процессе контроля их качества на соответствие требованиям нормативных документов по показателю "Подлинность". Наибольшее применение для установления подлинности имеют спектрофотометрические методы и тонкослойная хроматография. Метод ТСХ является наиболее простым и доступным с точки зрения стоимости анализа. В то же время, этот метод позволяет проводить полуколичественный и количественный анализ, что особенно важно при выявлении фальсифицированного лекарственного средства, содержащего активные ингредиенты в количествах, не соответствующих указанным на этикетке.

В ведущих зарубежных фармакопях для анализа цефалоспоринов используются сложные по составу подвижные фазы или дорогостоящие реагенты. Методики анализа, описанные в зарубежных фармакопях, более адаптированы для использования ТСХ-пластин зарубежного изготовления. Не все цефалоспорины описаны в зарубежных фармакопях. В Государственную фармакопею XII издания цефалоспорины не включены. В то же время в РФ также производится ТСХ-оборудование, имеющее значительно более низкую стоимость и хорошее качество. Методы ИК- и УФ-спектрофотометрии также имеют большое значение при обнаружении фальсифицированных

лекарственных средств. Использование готовой коллекции спектров значительно упрощает такой анализ.

Поэтому актуальной задачей является разработка методик экспресс-анализа лекарственных средств группы цефалоспоринов с использованием метода ТСХ и методов ИК- и УФ-спектрофотометрии с применением оборудования отечественного производства, позволяющих выявлять фальсифицированные лекарственные средства.

Цель и задачи исследования. Цель работы: разработка комплексного подхода к обнаружению фальсифицированных лекарственных средств группы цефалоспоринов с использованием современных аналитических методов.

Для достижения поставленной цели решались следующие задачи:

- разработка унифицированной методики анализа субстанций и препаратов лекарственных средств группы цефалоспоринов методом УФ-спектроскопии;
- разработка унифицированной методики анализа субстанций и препаратов лекарственных средств группы цефалоспоринов методом ИК-спектроскопии;
- разработка экспресс-методик установления подлинности лекарственных средств группы цефалоспоринов методом ТСХ с использованием оборудования российского производства;
- составление атласа ИК- и УФ-спектров лекарственных средств группы цефалоспоринов;
- разработка комплексного аналитического подхода к выявлению фальсифицированных лекарственных средств группы цефалоспоринов, не содержащих действующие вещества, указанные на этикетке.

Научная новизна исследования.

Впервые разработаны экспресс-методики установления подлинности цефалоспоринов методами спектроскопии и ТСХ. Разработаны методики пробоподготовки субстанций и лекарственных препаратов цефалоспоринов для анализа методами ТСХ и ИК-спектроскопии. Изучено влияние подвижных фаз

различного состава на хроматографические характеристики цефалоспоринов при их анализе методом ТСХ. Разработан комплексный подход к обнаружению фальсифицированных лекарственных средств группы цефалоспоринов методами ТСХ, УФ- и ИК-спектроскопии.

Составлены атласы ИК и УФ спектров лекарственных средств группы цефалоспоринов.

Практическая значимость результатов исследования.

Методики установления подлинности субстанций и препаратов цефалоспоринов методами ИК-спектроскопии и ТСХ включены в издание «Экспресс-анализ с целью выявления фальсифицированных лекарственных средств. Практическое руководство. Фторхинолоны и цефалоспорины». Данное руководство входит в состав тестового набора «Сорбполимер-Минилаб» (ЗАО «Сорбполимер», г.Краснодар).

Полученные ИК-спектры могут быть использованы при стандартизации и контроле качества по разделу «Подлинность» соответствующей нормативной документации и для выявления фальсифицированных средств. Методики установления подлинности методом ТСХ предлагаются для стандартизации и контроля качества субстанций и препаратов цефалоспоринов с последующим их включением в соответствующие разделы нормативной документации, а также для выявления фальсифицированной продукции. Разработанные методики апробированы и используются в испытательной лаборатории Московского областного центра сертификации и контроля качества лекарственных средств.

Апробация работы.

Апробация работы проведена на межкафедральной конференции кафедры фармацевтической и токсикологической химии фармацевтического факультета ГОУ ВПО Первый МГМУ имени И.М.Сеченова (Москва, 20 января 2011г). Основные результаты работы доложены на:

- межрегиональной научно-методической конференции Фармообразование, Воронеж, 2003 г.
- всероссийской научно-методической конференции в Воронеже 2007 г.
- всероссийской научно-методической конференции в Воронеже 2010 г.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 8 печатных работ.

Связь задач исследования с проблемным планом фармацевтических наук. Диссертационная работа выполнена в рамках комплексной темы кафедры фармацевтической и токсикологической химии фармацевтического факультета Первого МГМУ имени И.М.Сеченова «Совершенствование контроля качества лекарственных средств» (номер госрегистрации 01.200.110545).

Положения, выдвигаемые на защиту:

- результаты исследования лекарственных средств группы цефалоспоринов методами ИК- и УФ-спектрофотометрии;
- результаты изучения хроматографических характеристик лекарственных средств группы цефалоспоринов;
- унифицированные методики установления подлинности лекарственных средств группы цефалоспоринов методом ТСХ;
- комплексный подход к выявлению фальсифицированных лекарственных средств группы цефалоспоринов.

Структура и объем диссертации.

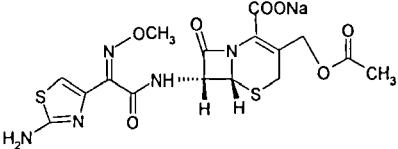
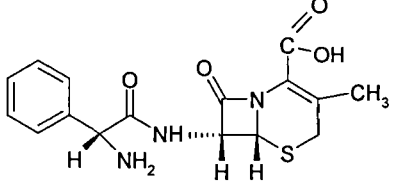
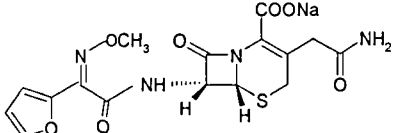
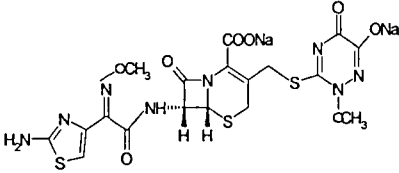
Диссертационная работа состоит из введения, 6 глав, выводов, списка литературы и приложений. Изложена на 104 стр. машинописного текста, содержит 7 таблиц, 19 рисунков. Библиографический материал включает 114 источников, в т.ч. 24 на иностранных языках.

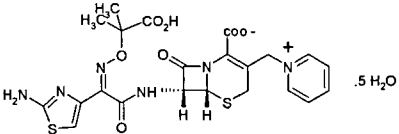
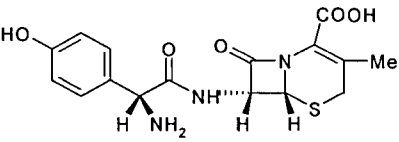
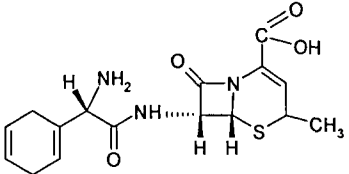
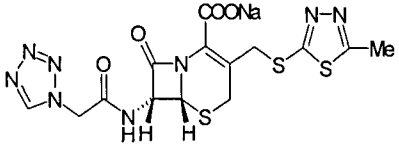
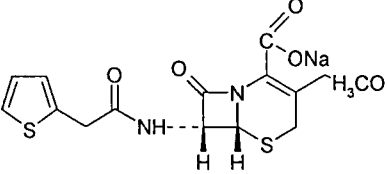
ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ.

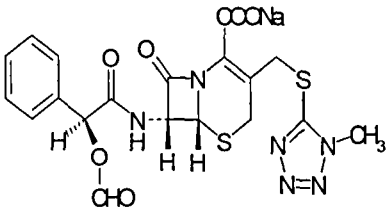
1. ОБЪЕКТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.

Объектами исследования являлись субстанции и лекарственные препараты группы цефалоспоринов. (табл.1).

Табл. 1. Изучаемые лекарственные средства группы цефалоспоринов.

Название лекарственного вещества	Структурная формула	Химическое название, примечание
Цефотаксима натрия соль		(6R,7R)-3-[[[(Z)-2-(2-аминотиазол-4-ил)-2-(метоксиимино)ацетил]амино]-8-оксо-5-тиа-1-азабицикло[4.2.0]-окт-2-ен-2-карбоновой кислоты натрия соль
Цефалексин		7(D-α-Аминофенил-ацетида)-3-метил-3-цефем-4-карбоновой кислоты моногидрат
Цефуроксима натрия соль		(1R,5S)-1-[[[ацетил]окси]этил(6R,7R)-3-[[[карбамоилокси]метил]-7-[[[(Z)-2-(фуран-2-ил)-2-(метоксиимино)ацетил]амино]-8-оксо-5-тиа-1-азабицикло[4.2.0]-окт-2-ен-2-карбоксилат натрия
Цефтриаксона натрия соль		(Z)-(6R,7R)-7-[2-(2-амино-1,3-тиазол-4-ил)-2-(метоксиимино)ацетида]-8-оксо-3-[[[2,5-дигидро-2-метил-6-оксидо-5-оксо-1,2,4-тиазин-3-ил]тиометил]-5-тиа-1-азабицикло[4.2.0] окт-2-ен-2-карбоксилат натрия

<p>Цефгазидим</p>		<p>(6R,7R)-7-[[<i>(Z)</i>]-2-(2-аминотиазол-4-ил)-2-[[1-пиридиnio) метил]-5-тиа-1-азабикло[4.2.0]окт-2-ен-2-карбоксилата пентагидрат</p>
<p>Цефадроксил</p>		<p>(6R,7R)-7-[[<i>(R)</i>]-2-амино-2-(4-гидроксифенил)ацетамидо]-3-метил-8-оксо-5-тиа-1-азабикло [4.2.0]окт-2-ен-2-карбоновой кислоты.</p>
<p>Цефрадин</p>		<p>(6R,7R)-7-[[<i>(R)</i>]-2-амино-2-(циклогекса-1,4диенил)ацетамидо]-3-метил-8-оксо-5-тиа-1-азабикло[4.2.0]окт-2-ен-2-карбоновой кислоты.</p>
<p>Цефазолина натриевая соль</p>		<p>(6R,7R)-[3-(5-Метил-1,3,4-тиадиазол-2-ил)тиометил]-8-оксо-7-(2-1-тетразол-1-ил-ацетамидо)-5-тиа-1-азабикло[4.2.0] окт-2-ен-2-карбоксилат натрия.</p>
<p>Цефалотина натриевая соль</p>		<p>(6R,7R)-3-ацетилоксиметил-8-оксо-7-[[2-(тиофен-2-ил)-ацетил]амино]-5-тиа-1-азабикло[4.2.0]-окт-2-ен-2-карбоксилат натрия</p>

Цефамандола нафат		(6R,7R)-7-[[[(2R)-2-(формилокси)-2-фенилацетил]амино]-3-[[[(1-метил-1H-тетразол-5-ил)сульфанил]-метил]-8-оксо-5-тиа-1-азабиицикло[4.2.0]окт-2-ен-2-карбоксилат.
----------------------	---	---

2. ОБОРУДОВАНИЕ И УСЛОВИЯ ИСПЫТАНИЙ.

2.1. УФ-спектрофотометрия

В работе использовали двухлучевой спектрофотометр Lambda 25 (PerkinElmer) и спектрофотометр СФ-103 (Аквилон, Россия).

Спектры получали в интервале длин волн от 200 до 760 нм. В качестве раствора сравнения использовали соответствующий растворитель.

Обработку спектров осуществляли с использованием программ «ACD/Spec Viewer», Freeware Version (Advanced Chemistry Development, Канада) и «UV WinLab» (PerkinElmer).

2.2. ИК- спектроскопия

В работе использовали однолучевой интерференционный (с обратным преобразованием Фурье) ИК - спектрофотометр Инфралюм ФТ - 02 (НПФ «ЛЮМЭКС», Россия). Параметры записи спектров: диапазон 4000 – 400 см⁻¹, разрешение 1 см⁻¹, циклическая запись с количеством сканов 20, аподизация стандартная. Фоновый спектр (воздух) получали непосредственно перед записью каждого спектра.

Управление прибором и обработку спектров осуществляли с использованием программы «Спектралюм» (НПФ «ЛЮМЭКС», Россия) и программы «ACD/SpecViewer», Freeware Version (Advanced Chemistry Development, Канада).

Пробоподготовку субстанций осуществляли в соответствии с требованиями ГФ XII. Навеску субстанции массой 15 мг измельчали в агатовой ступке и растирали с 1 – 2 каплями вазелинового масла качества «для ИК-

спектроскопии». Полученную пасту наносили между двумя пластинками из КВг и получали ИК-спектр образца.

2.3. Тонкослойная хроматография

Хроматографирование проводили на пластинах для высокоэффективной ТСХ «Сорбфил» (ТУ 26-11-17-89, ЗАО «Сорбполимер», г. Краснодар), покрытых силикагелем, с люминофорным покрытием. Пластины были представлены двумя видами, отличающимися между собой материалом подложки: ПТСХ–АФ–В–УФ (с подложкой из алюминиевой фольги) и ПТСХ–П–В–УФ (с полимерной подложкой) размером 10×10 см или 10×15 см.

На линию старта пластин с помощью микрошприца наносили 2 мкл раствора (около 8 мкг действующего вещества). Пробы наносились таким образом, чтобы расстояние от места нанесения до левого или правого края пластины, а также между пятнами составляло не менее 2 см. Сушку проб осуществляли с помощью нагревательного устройства для сушки пластин УСП-1 (ЗАО «Сорбполимер», г.Краснодар) при температуре около 70°С.

Хроматографическую камеру 150×120×80 мм использовали для пластин 10×10 см, камера 190×195×65 мм использовалась как для пластин 10×10 см, так и 10×15 см.

Пробег фронта растворителя составлял 8,5 см. Проявление пятен проводили в свете УФ-лампы (при 254 и 365нм) облучателя хроматографического УФС 254/365 (ЗАО «Сорбполимер», г.Краснодар), после высушивания хроматографической пластины на воздухе в течение 5 – 10 минут.

3. УФ - СПЕКТРОСКОПИЯ.

Проведено исследование спектральных характеристик цефалоспоринов и разработаны методики установления подлинности субстанций и лекарственных препаратов с использованием метода УФ-спектрофотометрии, составлен атлас стандартных УФ-спектров цефалоспоринов.

3.1. Разработка методик пробоподготовки.

При работе в УФ области спектра к растворителям предъявляют следующие требования:

а) он не должен поглощать в той же области спектра, что и растворенное вещество;

б) он не должен химически реагировать с растворенным веществом;

в) он должен быть не токсичным, спектроскопически чистым и относительно не дорогим.

Выбор растворителя для приготовления испытуемых растворов был основан на данных о растворимости изучаемых лекарственных веществ.

Известно, что цефалоспорины в основном представлены в виде солевых форм и поэтому хорошо растворимы в воде.

Пробоподготовку осуществляли следующим образом:

Раствор 10 мкг/мл.

Около 25 мг (точная навеска) испытуемой субстанции помещают в мерную колбу вместимостью 250 мл, прибавляют около 100 мл соответствующего растворителя, перемешивают до полного растворения, доводят объем раствора до метки тем же растворителем и перемешивают. 10 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора до метки тем же растворителем и перемешивают.

Раствор 15 мкг/мл.

Около 25 мг (точная навеска) испытуемой субстанции помещают в мерную колбу вместимостью 250 мл, прибавляют около 100 мл соответствующего растворителя, перемешивают до полного растворения, доводят объем раствора до метки тем же растворителем и перемешивают. 7,5 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят объем раствора до метки тем же растворителем и перемешивают.

Раствор 20 мкг/мл.

Около 25 мг (точная навеска) испытуемой субстанции помещают в мерную колбу вместимостью 250 мл, прибавляют около 100 мл соответствующего растворителя, перемешивают до полного растворения, доводят объем раствора до метки тем же растворителем и перемешивают. 10 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят объем раствора до метки тем же растворителем и перемешивают.

3.2. Результаты.

На рис. 1 - 3 представлены УФ-спектры лекарственного препарата (порошок для инъекций), содержащего цефазолина натриевую соль, субстанции цефазолина натрия и соответствующего стандартного образца.

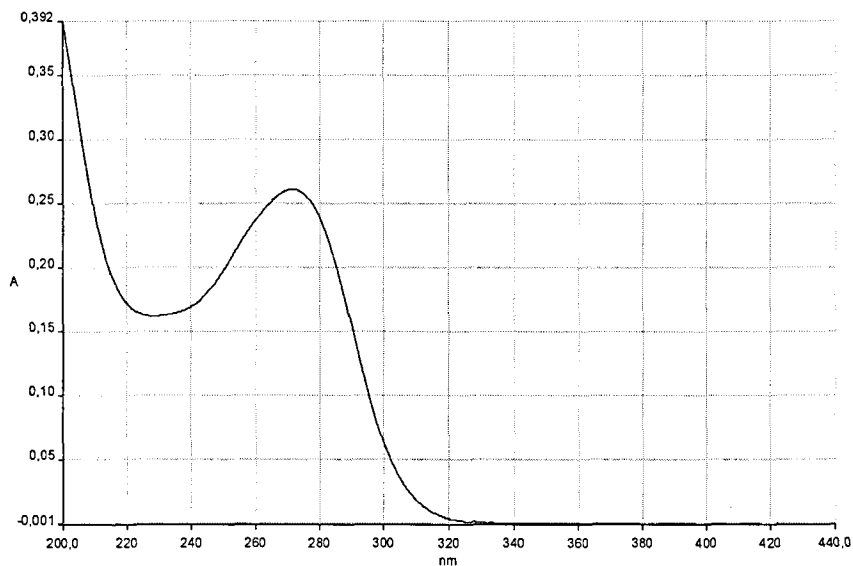


Рис.1. УФ-спектр порошка для инъекций, содержащего цефазолина натриевую соль (Курган, ОАО Синтез), водный раствор, 10 мкг/мл

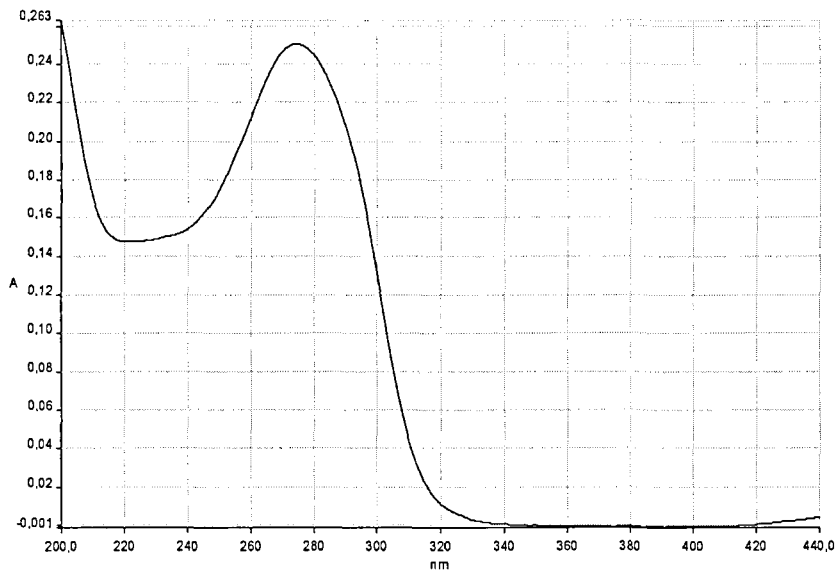


Рис.2. УФ-спектр субстанции цефазолина натриевой соли, водный раствор, 10 мкг/мл.

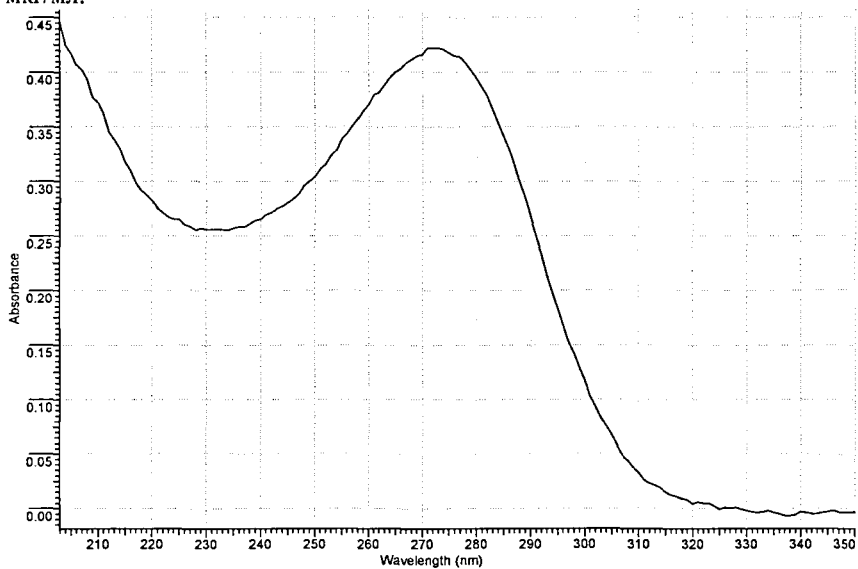


Рис.3 УФ спектр стандартного образца цефазолина натриевой соли, раствор 15 мкг/мл в воде, λ_{max} 272 нм.

Из полученных данных видно, что использование в качестве экстрагента воды способствует полному извлечению действующего вещества, что позволяет проводить установление подлинности методом УФ-спектрофотометрии. Спектры препарата, субстанции и стандартного образца совпадают. Аналогичная ситуация наблюдалась и для других препаратов и субстанций цефалоспоринов.

Таким образом, для исследованных лекарственных веществ вода является универсальным растворителем для установления подлинности субстанций и лекарственных препаратов цефалоспоринов.

В УФ-спектрах цефалоспоринов можно выделить 3 основные области поглощения: интенсивный главный максимум, область поглощения при низких длинах волн, выступающая в виде плеча или одного или нескольких максимумов («левое плечо»), и аналогичная область поглощения при высоких длинах волн также в виде плеча или одного или нескольких максимумов («правое плечо»), что особенно характерно для УФ-спектра цефотаксима (рис.4).



Рис.4 УФ спектр цефотаксима натриевой соли, раствор 15 мкг/мл в воде,

λ_{\max} 238 нм.

В таблице № 2 представлены полученные нами спектральные характеристики цефалоспоринов. Как видно из представленных данных, главный максимум поглощения большинства цефалоспоринов находится в области примерно от 240 нм до 270 нм.

В настоящей работе были приняты следующие условия. При получении стандартных УФ-спектров мы ориентировались на значения оптической плотности в главном максимуме от 0,2 до 0,9. Анализ спектров цефалоспоринов показал, что для получения УФ-спектров концентрация испытуемого раствора должна составлять от 10 до 20 мкг/мл. При этом условии оптическая плотность в главном максимуме находится в диапазоне от 0,4 до 0,55.

Таблица 2. Спектральные характеристики цефалоспоринов в УФ-области.

Лекарственное вещество	Максимумы поглощения, нм	Удельный показатель экстинкции	Растворитель	Рекомендуемая концентрация раствора, мкг/мл
Цефадроксил	248 347 Область 430-560	405 59 20*	0,1 М NaOH	10
Цефалотина натриевая соль	240	319	Вода	15
Цефалексин	264	203	Вода	20
Цефрадин	263	201	Вода	20
Цефазолина натриевая соль	272	279	Вода	15
Цефотаксима натриевая соль	238	351	Вода	15
Цефтриаксона натриевая соль	243 271	473 433	Вода	10

* Максимальное поглощение в области 430-560 нм.

По результатам настоящей работы составлен атлас УФ-спектров лекарственных средств из группы цефалоспоринов. При контроле качества субстанций и препаратов и при выявлении фальсифицированных цефалоспоринов можно использовать стандартные УФ-спектры для установления подлинности, что упрощает анализ и снижает его стоимость.

4. ИК – СПЕКТРОСКОПИЯ.

Было проведено исследование лекарственных средств группы цефалоспоринов с использованием метода ИК- спектроскопии. Пробоподготовку осуществляли путем диспергирования испытуемых лекарственных средств в вазелиновом масле.

На рис.5 в качестве примера представлен ИК-спектр субстанции цефотаксима натриевой соли в вазелиновом масле.

На спектрах полосы с волновыми числами около 2955, 2924, 2855 см^{-1} соответствуют валентным колебаниям С–Н вазелинового масла. Полосы с волновыми числами около 1462, 1377 и 721 см^{-1} соответствуют деформационным колебаниям С–Н вазелинового масла. Все полосы в спектрах перекрываются аналогичными полосами вазелинового масла. Набор слабых полос с волновыми числами около 2361, 2346 и 2334 см^{-1} соответствует колебаниям присутствующего в атмосфере углекислого газа и не включается в интерпретацию.

Соответствующая методика пробоподготовки может быть использована при фармакопейном анализе лекарственных средств группы цефалоспоринов и при накоплении их стандартных ИК-спектров.

Следует также добавить, что методика пробоподготовки с вазелиновым маслом является более экспрессной и удобной, чем прессование таблеток с калия бромидом.

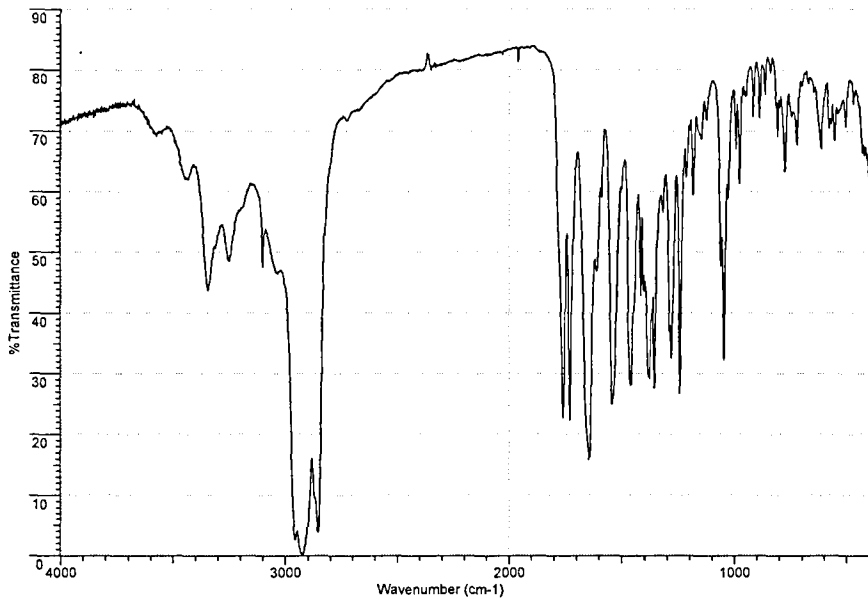


Рис.5. ИК-спектр субстанции Цефотаксима натриевой соли в вазелиновом масле.

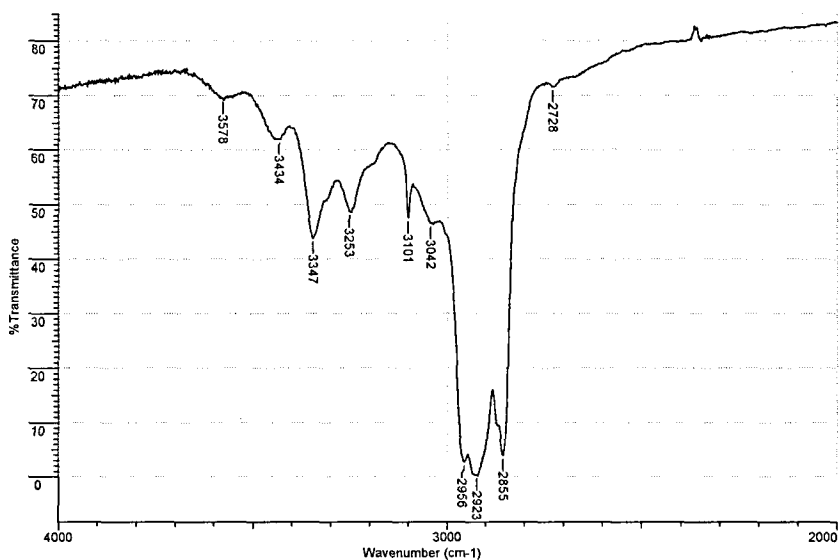


Рис.5. Продолжение. ИК-спектр субстанции Цефотаксима натриевой соли в вазелиновом масле

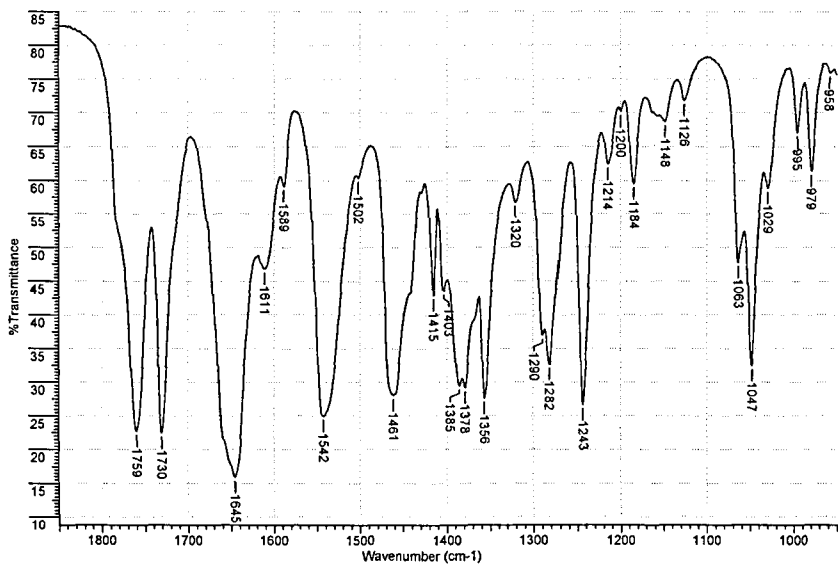


Рис.5. Продолжение. ИК-спектр субстанции Цефотаксима натриевой соли в вазелиновом масле.

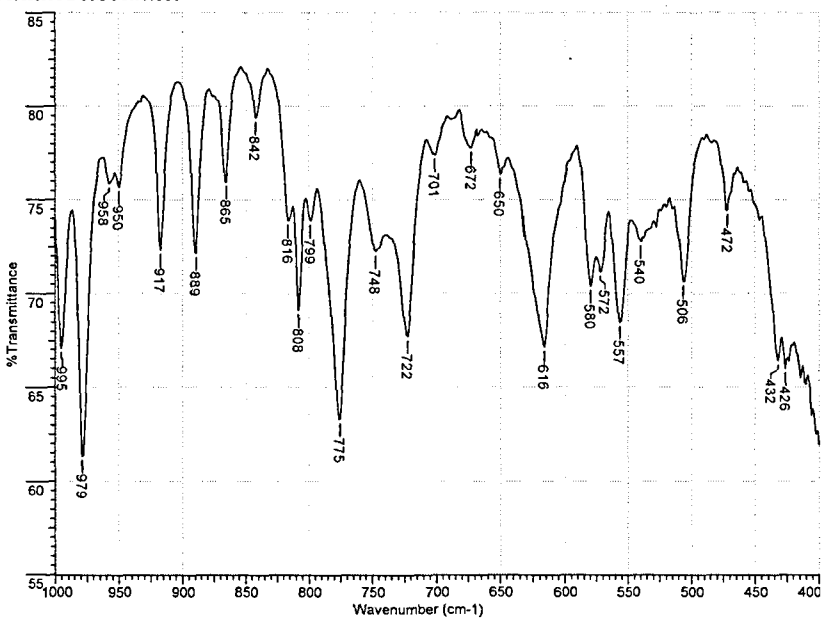


Рис.5. Продолжение. ИК-спектр субстанции Цефотаксима натриевой соли в вазелиновом масле.

В настоящей работе был составлен атлас ИК-спектров цефалоспоринов с целью их последующего использования в качестве стандартных при установлении подлинности субстанций и инъекционных препаратов цефалоспоринов и при выявлении фальсифицированных средств.

5. ТОНКОСЛОЙНАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ.

По нашему мнению, интерес могут представлять унифицированные методики установления подлинности лекарственных средств группы цефалоспоринов методом ТСХ. В последующем они могут быть включены в общий план исследований по разработке комплексного подхода к обнаружению фальсифицированных лекарственных средств.

Пробоподготовка для анализа методом ТСХ.

Вопрос выбора растворителей для пробоподготовки при анализе методом ТСХ был основан на данных о растворимости лекарственных средств группы цефалоспоринов. В итоге для проведения экспресс-анализа в качестве растворителя была выбрана смесь метанола и фосфатного буфера pH 7,0, позволяющая наиболее полно извлечь лекарственное вещество из лекарственной формы и получить впоследствии компактные хроматографические пятна.

Описание методик пробоподготовки

Субстанции. В мерной колбе вместимостью 25 мл растворяли 50 мг порошка лекарственных средств (цефазолина натриевая соль, цефалексин, цефалотина натриевая соль, цефамандола нафат, цефотаксима натриевая соль, цефтазидим натрия карбонат, цефтриаксона натриевая соль, цефуроксим, цефоперазона натриевая соль) в смеси (1:1) метанола и фосфатного буфера pH 7,0, доводили объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивали.

Порошок для приготовления раствора для инъекций. В мерной колбе вместимостью 25 мл растворяли 50 мг порошка лекарственного препарата в смеси (1:1) метанола и фосфатного буфера pH 7,0, доводили объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивали.

Капсулы

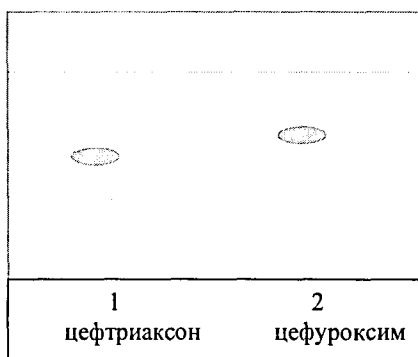
Для проведения анализа капсулу вскрывали и извлекали ее содержимое. Порошкообразное содержимое измельчать не требуется. Гранулированное содержимое растирали в порошок. В мерной колбе вместимостью 25 мл

растворяли 50 мг порошка лекарственного препарата в смеси (1:1) метанола и фосфатного буфера рН 7,0, доводили объем раствора тем же растворителем до метки и перемешивали.

Нами было исследовано влияние подвижных фаз (ПФ) различного состава на подвижность цефалоспоринов и селективность хроматографической системы. Элюирующую силу ПФ оценивали по полярности входящих в ее состав растворителей, а для оценки селективности последних использовали классификацию Снайдера. Полярность ПФ ориентировочно оценивали по диэлектрической проницаемости растворителей.

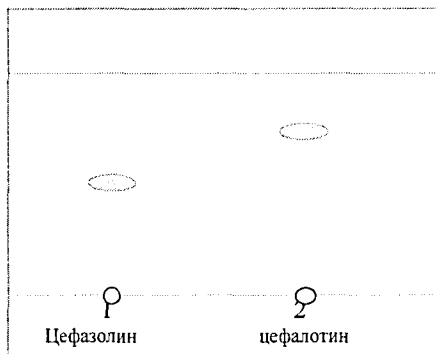
Разработанные методики установления подлинности цефалоспоринов с использованием метода ТСХ включены в практическое руководство «Экспресс-анализ с целью выявления фальсифицированных лекарственных средств» и могут использоваться для выявления фальсифицированных субстанций и препаратов, не содержащих указанные на упаковке лекарственные вещества. В работе был изучен ряд подвижных фаз с целью оптимизации хроматографических характеристик цефалоспоринов.

На рисунках 6 – 10 представлены результаты данной работы со схематичным изображением хроматограмм и описанием состава подвижных фаз. Для детектирования пятен цефалоспоринов использовали облучение УФ светом с длиной волны 254 нм.



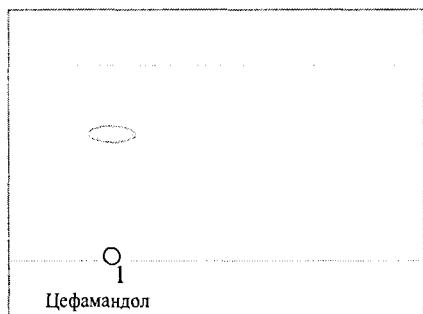
1. Цефтриаксон $R_f = 0,59$
2. Цефуроксим $R_f = 0,63$

Рис.6 ТСХ субстанций натриевой соли цефтриаксона и цефуроксима в ПФ ацетон : пропиловый спирт : 25% аммиака (6,5 : 16 : 6,5).



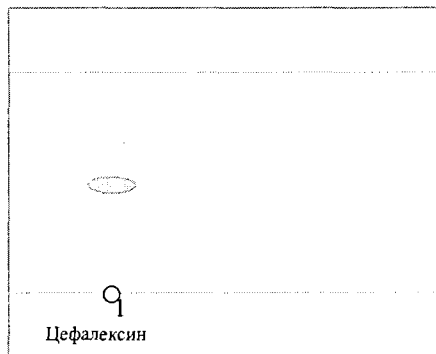
1. Цефазолин $R_f = 0,53$
2. Цефалотин $R_f = 0,78$

Рис.7 ТСХ субстанций натриевой соли цефазолина и цефалотина в ПФ этилацетат - ацетон - ледяная уксусная кислота (9 : 11 : 9).



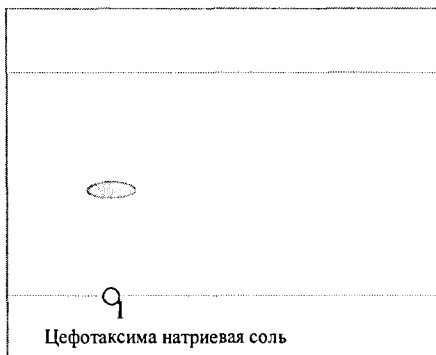
1. Цефамандол $R_f = 0,62$

Рис.8 ТСХ субстанции цефамандола в ПФ ацетон - этилацетат - ледяная уксусная кислота (12 : 8 : 10).



1. Цефалексин $R_f = 0,58$

Рис.9 ТСХ субстанции цефалексина натриевой соли в ПФ этилацетат - ацетон - ледяная уксусная кислота - формамид (10 : 5 : 10 : 5).



1. Цефотаксима натриевая соль $R_f = 0,56$

Рис.10 ТСХ субстанции цефотаксима натриевой соли в ПФ этилацетат - ацетон - ледяная уксусная кислота - вода (15 : 6 : 6 : 3).

6. ВЫЯВЛЕНИЕ ФАЛЬСИФИЦИРОВАННЫХ ЦЕФАЛОСПОРИНОВ, НЕ СОДЕРЖАЩИХ УКАЗАННЫЕ НА ЭТИКЕТКЕ ДЕЙСТВУЮЩИЕ ВЕЩЕСТВА.

Нами предлагается комплексный аналитический подход к обнаружению фальсифицированных лекарственных средств группы цефалоспоринов, не содержащих действующие вещества, указанные на этикетке.

Для детектирования такого вида подделок следует использовать простые качественные реакции (нами была выбрана гидроксамовая реакция), ТСХ, ИК- и УФ-спектроскопию. Данное сочетание методов было использовано нами при разработке практического руководства по экспресс-анализу. Руководство предполагается включать в состав соответствующего набора – минилаборатории, позволяющей в полевых условиях проводить качественные реакции и ТСХ.

Методы ИК- и УФ-спектроскопии предлагается использовать в качестве дополнительных, для чего в руководстве была включена коллекция ИК-спектров цефалоспоринов, а в приложении к данной работе также приведен атлас стандартных УФ-спектров.

Экспресс-анализ, безусловно, не заменяет полный анализ по нормативной документации и позволяет проводить только первичный скрининг лекарственных препаратов.

ВЫВОДЫ

1. Разработана унифицированная методика анализа лекарственных средств группы цефалоспоринов с использованием метода УФ-спектроскопии и составлен атлас соответствующих спектров. Показано, что для растворения целесообразно использовать воду, рекомендуемая концентрация раствора составляет от 10 мкг/мл до 20 мкг/мл.
2. Разработана унифицированная экспресс - методика анализа субстанций и препаратов лекарственных средств группы цефалоспоринов методом ИК-спектроскопии и составлен атлас соответствующих спектров, которые предлагаются для выявления фальсификатов, не содержащих указанное на упаковке действующее вещество.
3. Разработаны условия метода ТСХ и методики пробоподготовки субстанций и препаратов лекарственных средств группы цефалоспоринов. Подобраны составы подвижных фаз и методики анализа субстанций и препаратов методом ТСХ, которые предлагаются для выявления фальсификатов, не содержащих указанные на упаковке лекарственные вещества, и для включения в раздел нормативной документации «подлинность» для субстанций и лекарственных препаратов группы цефалоспоринов.
4. Полученные УФ- и ИК-спектры субстанций цефалоспоринов предлагаются для использования в качестве стандартных при анализе по разделу нормативной документации «подлинность».
5. Разработан комплексный подход к выявлению фальсифицированных лекарственных средств группы цефалоспоринов, не содержащих действующие вещества, указанные на этикетке. Для обнаружения таких подделок следует использовать простые качественные реакции и ТСХ. В качестве дополнительных методов следует использовать ИК-спектроскопию в средней области и УФ-спектроскопию.

По теме диссертации опубликованы следующие печатные работы:

1. Арзамасцев А.П., Дорофеев В.Л., Коновалов А.А., Кочин В.Ю., Лебедева Н.Н., Титов И.В. Экспресс-анализ с целью выявления фальсифицированных лекарственных средств // Пути и формы совершенствования фарм. образования: матер. Межрегион. Научно-методич. Конф. Фармообразование – 2003. – Воронеж, 2003. – С. 20 - 23.
2. Арзамасцев А.П., Дорофеев В.Л., Коновалов А.А., Кочин В.Ю., Лебедева Н.Н., Титов И.В. Экспресс-анализ с целью выявления фальсифицированных лекарственных средств. Практическое руководство, фторхинолоны и цефалоспорины // М.: Русский врач. 2003. – 132 с.
3. Арзамасцев А.П., Дорофеев В.Л., Коновалов А.А., Кочин В.Ю., Лебедева Н.Н., Титов И.В. Выявление фальсифицированных лекарственных средств с использованием современных аналитических методов // Химико-фармацевтический журнал. – 2004. - № 3. – С. 48 - 51
4. Арзамасцев А.П., Дорофеев В.Л., Коновалов А.А., Кочин В.Ю., Лебедева Н.Н., Плетень Б.А., Титов И.В. Использование современных методов анализа для выявления фальсифицированных лекарственных средств // Фармацевтический вестник Узбекистана. – 2004. - № 1. – С. 104 – 109.
5. Лебедева Н.Н., Дорофеев В.Л., Арзамасцев А.П. Выявление фальсифицированных лекарственных средств группы цефалоспоринов методом ТСХ // Пути и формы совершенствования фарм.образования. материалы 3-й всероссийской научно-методической конференции, Воронеж. - 2007. -ч. 1. - С. 203 - 204
6. Лебедева Н.Н., Дорофеев В.Л., Арзамасцев А.П. Комплексный аналитический подход к обнаружению фальсифицированных лекарственных средств группы цефалоспоринов // Пути и формы совершенствования фарм.образования. материалы 3-й всероссийской научно-методической конференции, Воронеж. - 2007. - ч.1. - С.205 – 206.
7. Лебедева Н.Н. Использование ИК-спектрофотометрии в обнаружении фальсифицированных лекарственных средств группы цефалоспоринов // Всероссийская научно-методическая конференция. Воронеж. - 2010. - С.237 – 239.
8. Лебедева Н.Н., Шохин И.Е., Кузина В.Н. Методы контроля качества субстанций цефалоспоринов // Фармация. – 2011. - №1. – С.54-56

Подписано в печать: 22.04.2011
Объем: 1,5 усл.п.л.
Тираж: 100 экз. Заказ № 765
Отпечатано в типографии «Реглет»
119526, г. Москва, Ленинградский пр-т, д.74, корп.1
(495) 790-47-77; www.reglet.ru