Министерство охраны здоровья Украины

**Луганский государственный медицинский университет**

**Кафедра «Фармацевтической химии и фармакогнозии»**

**КУРСОВАЯ РАБОТА**

### На тему: «Фармацевтический анализ антибиотиков пенициллинового ряда »

**Студентки IV курса 54 гр.**

**Фармацевтического факультета**

**Новохацкая Е. Ю.**

**Руководитель:**

**Проф. Трескач В.Й.**

## Луганск 2006

**СОДЕРЖАНИЕ**

1. Введение

II. Общая характеристика лекарственных препаратов пени-

циллинов.

2.1 Роль пеницилллинов в современной клинической практике

III. Фармацевтический анализ препаратов пенициллинов

3.1 Идентификация препаратов пенициллинов

3.2 Методы количественного определения препаратов пенициллинового ряда

IV. Приложение

V. Выводы.

Список используемой литературы

Введение

Антибактериальная терапия является важнейшим компонентом современной клинической медицины.

Сегодня среди возбудителей тяжёлых инфекций преобладают грамположительные микроорганизмы. В начале 80-х годов прошлого века в этиологии инфекций на их долю приходилось около 40% случаев заболеваний, спустя 10 лет – свыше 50% , в настоящее время – 55-60% .

Первые антибиотики, в частности пенициллины, были активны главным образом, в отношении грамположитеьных микроорганизмов – стафилококков и стрептококков. Эффективное лечение заболеваний вызванных грамположительными бактериями повлекло за собой изменение этиологической структуры ряда инфекций. В частности, стала возрастать роль микроорганизмов, обладающих природной устойчивостью или способных быстро формировать приобретённую резистентность к доступным антибиотикам. Как правило, это были грамотрицательные бактерии. Надо отметить интересную особенность: в отличие от стафилококков, пиогенные стрептококки за 60 лет использования пенициллина так и не приобрели к нему устойчивости, они по сей день высокочувствительны к этому антибиотику.

Наиболее актуальными антибиотиками для лечения инфекций респираторного тракта являются препараты 3-х групп: аминопенициллины, цефалоспорины 2-го поколения и макролиды. Так как к ампициллину и амоксициллину у ряда микроорганизмов выработалась устойчивость, для лечения осложнений используют ингибитор защищённые аминопенициллины: клавуланаты ( аугментин, амоксиклав).

Общая характеристика лекарственных препаратов пенициллинов.

Открытие английским микробиологом О.Флемингом пени-циллина стало началом эры антибиотиков.

**Пенициллины** – группа антибиотиков, производные

6- аминопенициллановой кислоты.

Пенициллины первого поколения – это природные пенициллины. К ним относятся бензилпенициллин – натрий, бензилпенициллин – калий, бенизилпенициллин – новокаин, бицилин-1, бицилин-5, феноксиметилпеницилин.

*Пенициллины первого поколения* теперь не вводят в медицинскую практику, так как они легко инактивируются пенициллиназой и малоактивны.

Значительным достижением современной химиотерапии является создание полусинтетических пенициллинов второго и третьего поколения – важных противомикробных средств.

Пенициллины второго поколения – это полусинтетические антибиотики, молекулы которых содержат аминопенициллятную кислоту, ацилированную синтетическими кислотами, которые не встречаются в природе. Полусинтетические пенициллины – это лекарственные средства с широким спектром антибактериального действия, однако некоторые и них разрушаются под действием пенициллиназы.

Создание пенициллинов третьего поколения является важным событием в медицине и фармации. Основной особенностью этих антибиотиков является взаимодействие с бактериальными β-лак- тамазами и блокирования их. Вследствие этого антимикробная активность намного увеличивается. Они состоят из двух веществ – полусинтетического антибиотика и ингибитора β-лактамаз. К антибиотикам третьего поколения принадлежат аммоксиклав, сультамициллин, тиментин.

Лекарственные средства природных и полусинтетических пенициллинов – это белые кристаллические вещества без запаха, горькие на вкус. Пенициллины – нестойкие вещества, они легко поддаются инактивации под действием воды. Натриевая и калиевая соль бензилпенициллина гигроскопичны и легко растворяются в воде. Новокаиновая соль бензилпенициллина, феноксиметилпенициллин и ампициллин малорастворимы в воде.

Несмотря на появление новых групп противомикробных средств, антибиотические препараты пенициллинового ряда продолжает занимать значительное место в терапии инфекционных заболеваний. В частности, среди отечественных препаратов пенициллинов большого распространения приобрели стойкие к гидролизу полусинтетические препараты «Ампициллин» и «Оксациллин». Так, ампициллин, благодаря дополнительной активности по отношению к граммотрицательной флоре, на которую не действует препарат природного происхождения «Бензилпенициллин», считается антибиотиком широкого спектра действия, пригодный для употребления *per os* при заболеваниях, вызванных смешанной инфекцией. Стоит отметить, что среди парентеральных форм препаратов пенициллинового ряда бензилпенициллин и теперь часто применяется в медицинской практике. Что касается оксациллина, то по спектру противомикробной активности он в общем подобен бензилпенициллину, но превосходит его по гидролитической стойкости и поэтому, в отличии от последнего, как и ампициллин, пригоден к пероральному употреблению.

Специфичность биологической активности пенициллина прежде всего обусловлено наличием в его молекуле тиазолидинового и β- лактамного циклов.

Расщепление одного из них приводит к полной потери препаратом активности относительно бактерий, которые не являются продуцентами фермента β-лактамазы пенициллинов.

Четырёхчленный лактамный цикл характеризуется большой лабильностью к действию разных по характеру химических факторов.

Гидролитическая стойкость пенициллинов главным образом зависит от нуклеофильности атома кислорода экзоциклической амидной структуры и существенно повышается при введении в молекулу електроакцепторных заместителей.

Введение в молекулу 6-АПК остатков аминофенилуксусной и 5–метил–3–фенилизоксазо–4-карбоновой кислот позволило получить относительно стойкие к гидролитическому расщеплению препараты «Ампициллин» и «Оксациллин».

Их продуцируют в виде солей – натрия или калия (бензилпенициллин), новокаина или N, N–дибензилэтилендиаминовой соли (бензилпеницилин) – бициллина–1, кислоты или тригидрата (ампициллин) разного дозирования в виде быстрорастворимого стерильного порошка во флаконах или таблеток (ампициллин, оксациллин), гранул для изготовления суспензий (ампициллин) и др.

 Особенно широкое применение находят комбинированные препараты, которые состоят из смеси натриевой соли ампициллина и оксациллина в соотношении 2 : 1 ( «Ампиокс-натрий », в Украине – «Ампициллин – оксациллин» ) и ампициллина тригидрата и оксациллина натриевой соли , взятых в соотношении 1 : 1 ( ампиокс ) , которые выпускаются во флаконах по 100 , 200 или 500 мг и капсулах по 0.25 мг препарата ( сумма ампициллина тригидрата и оксациллина натриевой соли ) соответственно.

*Хранение.*Препараты пенициллинов хранят в сухом месте, при комнатной температуре.

*Форма выпуска.* Флаконы, герметически закрыты резиновыми пробками, обжатые алюминиевыми колпачками. Калиевая и натриевая соли бензилпенициллина содержат в каждом флаконе по 125000, 250000, 500000 и 1000000 ЕД; новокаиновая соль бензилпенициллина – по 300000, 600000, 1200000 ЕД.

*Применение*. Для лечения пневмонии, гонорее, сифилиса, раневых и гнойных инфекций, перитонита, дифтерии, скарлатины, ангин различной этиологии и инфекционных заболеваний, вызванных чувствительными к пенициллину микроорганизмами.

В результате гидролиза пенициллинов раскрывается

β-лактамное кольцо и образуется относительно стойкая пенициллоиновая кислота, которая отвечает за аллергические реакции на пенициллин. При благоприятных условиях, например в

присутствии щелочей, кислот или нагревания, наблюдается дальнейшее расщепление пеницилоиновой кислоты. Продуктами гидролитического расщепления пенициллинов являются, главным образом, два соединения: пеницилламин и пенилоальдегид, однако они образуются не сразу, а через ряд промежуточных продуктов. Рассмотренные процессы изображены на схемах 1 и 2.

***Роль пенициллинов в современной клинической практике***

В настоящее время в качестве основных средств стартовой терапии внебольничных респираторных инфекций в амбулаторной практике обычно применяют аминопенициллины (амоксицилин, ампицилин), защищённые аминопеницилины (амоксицилин, потенциированный клавулановой кислотой), цефалоспорины II поколения для перорального приёма (цефуроксим аксетил), макролиды (эритромицин, кларитромицин, азитромицин), фторхинолоны II поколения (левофоксацилин, моксифлоксацилин). Клиническая эффективность всех этих препаратов примерно одинакова.

***Главное правильный выбор*.** Для лечения внебольничных инфекций нижних и верхних дыхательных путей широко применяют неащищённые аминопенициллины. Препараты данной группы характеризуются высокой природной активностью в отношении ***S. pneumoniae, M. pneumoniae, C. pneumoniae,*** а также ***H. influenzae***. Несмотря на проблему пенициллинрезистентности, амоксициллин в дозе 2-3г в сутки сохраняет клиническую эффективность в отношении как устойчивых штампов пневмоккока, так и штампов с промежуточной чувствительностью. Аминопенициллины являются препаратами выбора при нетяжёлом течении хронического бронхита у больных молодого и среднего возраста, не уступая по клинической эффективности защищённым пенициллинам и цефалоспоринам II поколения. Это объясняется достаточно высокой активностью препаратов в отношении основных возбудителей бронхита в этой группе больных – пневмококка и гемофильной палочки. Кроме того, незащищённые амоксициллины (наряду с макролидами) являются препаратами первого выбора при лечении пациентов с нетяжёлым течением негоспитальной пневмании (приказ МЗ Украины № 499 от 28.10.2003 «Про затвердження інструкції щодо надання допомоги хворим на туберкульоз і неспецифічні захворювання легенів»). Применение защищённых пенициллинов не всегда безопасно, поэтому при отсутствии сопутствующей патологии и других модифицирующих факторов предпочтение отдаётся полусинтетическим амоксициллинам, проявляющим антибактериаль- ную активность в отношении основных возбудителей заболевания. Только нетяжёлые формы пневмонии лечатся амбулаторно, а препаратом выбора в данном случае, согласно приказу, является незащищённый амоксициллин.

Следует помнить, что при эмпирическом выборе стартовой антибактерицидной терапии инфекционных заболеваний дыхательных путей следует учитывать не только характер вероятных возбудителей, но и их потенциальную чувствительность к наиболее часто назначаемым антимикробным средствам. Например, при выборе стартовой этиотропной терапии при остром синусите и среднем отите следует учитывать, что наиболее частыми возбудителями этих заболеваний являются пневмококк, гемофильная палочка и моракселла. Это определяет выбор для стартовой этиотропной терапии антибиотиков более широкого спектра действия – незащищённых аминопенициллинов. Например, если острый синусит (отит) развивается впервые или ранее при лечении не использовались β-лактамные антибиотики, препаратом выбора считают амоксицилин.

Если же имеет место рецидив заболевания либо ранее уже применялись природные или полусинтетические незащищённые пенициллины, то терапию целесообразно начинать с антибиотиков, устойчивых к бактериальным β-лактамазам, например амоксициллина/ клавулановой кисоты, цефалоспоринов II или III поколения.

Во многих странах мира наиболее часто используют Флемоксин Солютаб ( амоксициллина тригидрат) – полусинтетический пенициллин третьего поколения, выпускаемый известной фармацевтической компанией «Яманучи Юроп. Б.В.». Эффективность препарата по сравнению с другими представителями этой группы обусловлена его высокой биодоступностью и лучшей всасываемостью. После перорального приёма амоксициллин всасывается быстро и практически полностью (93%).

*Флемоксин Солютаб* – препарат первого выбора в амбулаторной практике при лечении острых инфекционно-воспаительных заболеваний ЛОР – органов ( остром негнойном отите и синусите, тонзиллите, ангине) и нижних дыхательных путей (бронхите и бронхопневмонии). Помимо этого, показаниями к его применению являются бактериальные инфекции, вызванные чувствительными к препарату микроорганизмами, - инфекции органов мочеполовой системы и пищеварительного тракта, а также инфекционные поражения кожи и мягких тканей.

***Уникальная лекарственная форма .***

Флемоксин Солютаб отличается не только широким спектром антибактериального действия, оптимальными фармакокинетическими и фармакодинамическими свойствами, но и уникальной лекарственной формой. Таблетку препарата можно растворять в любой жидкости, включая соки и даже молоко. Кроме того, на эффективность препарата не оказывает влияния способ его применения – растворимую таблетку можно глотать, толочь и жевать.

Растворимая таблетка препарата Флемоксин Солютаб – это возможность быстро, эффективно и безопасно победить болезнь в домашних условиях.

***Методы количественного определения препаратов пенициллинового ряда.***

Для количественного определения препаратов пени- циллинового ряда рекомендованы методы высокоэффективной жидкостной хроматографии, спектрофотометрии, потенциомет- рического титрования, йодометрии; для определения ампициллина также успешно применяют метод потенциаметрии с использованием ионно-селективных электродов, различные варианты вольтамперометрии, ампераметрии, полярографического анализа, кинетики.

Известны также спектрофотометрические методики, которые основываются на реакциях окисления продуктов гидролитического расщепления пенициллинов с солями феррума (III), молибдата и ванадата аммония, взаимодействия их с солями меди (II), дегидроаскорбиновой кислотой и др. Эти методики позволяют определить пенициллины в лекарственных препаратах, которые содержат кроме пенициллинов разные добавки и наполнители.

Однако вопрос количественного определения пенициллинов не теряет своей актуальности. Существующие фармакопейные методики определения препаратов этого ряда сложные, занимают много времени на подготовку и требуют использования сложной аппаратуры. Большинство известных методик количественного определения пенициллинов сводится к определению конечных продуктов их гидролитического расщепления, которые получают на предыдущей стадии анализа, длительные и требуют нагревания.

Интерес вызывают кинетические методы анализа, в основе которых лежат реакции модификации молекулы определяемого пенициллина: благодаря хромофорным свойствам образуемых продуктов их можно использовать в спектрофотометрическом варианте кинетического определения пенициллинов в присутствии имеющихся продуктов их гидролиза.

В литературе описываются реакции химической модификации ампициллина для спектрофотометрического определения его в лекарственных смесях. Как индикаторная предложена реакция образования интенсивно окрашенного жёлтого продукта в результате взаимодействия со щёлочью окисленного производного ампициллина, полученного в начальной стадии анализа по реакции исследуемого ампициллина с азотной кислотой в присутствии воды.

Разработанные методики определения пенициллинов имеют ряд преимуществ перед уже известными: позволяют определить различные по природе пенициллины (ампициллин, оксоцилин, бензилпенициллин и др.) в значительно меньших количествах, чем фармакопейным методом йодометрии; пригодные для того же интервала определяемых концентраций, что и в методе фотометрии продуктов гидролиза, но при этом не требуют длительного нагревания реакционной смеси, проще методик хромотографического анализа и быстрее.

Предложенные методики заключаются в окислении ампицилина (натриевой соли или тригидрата), оксациллина или бензилпенициллина избытком дипероксидикарбоновой кислоты с последующим определением продукта окисления в щелочной среде спектрофотометрически кинетическим методом. Кроме того, комбинация метода непрямого йодометрического определения суммарного содержания пенициллинов по расходованию пероксикислоты с кинетическим методом определения быстро реагирующего компонента смеси позволяет осуществлять полный анализ бинарной смеси близких по химическим свойствам пенициллинов – ампициллинов и оксацилина при совместном присутствии.

*Выводы:*

Для идентификации лекарственных препаратов пенициллинов используют следующие методы:

1. Сопоставляют ИК – спектры поглощения исследуемых пенициллинов и стандартных образцов (ГФУ).
2. Методом тонкослойной хроматографии (ГФУ).
3. Реакция с формальдегидом в присутствии кислоты серной концентрированной (ГФУ). Это реакция отличительная, так как каждый пенициллин даёт при этом продукт характерной окраски (бензилпенициллины – кроасновато-коричневого окрашивания, амоксициллин – тёмно-жёлтого и тд).
4. Специфические реакции на катионы натрия, калия и новокаин.
5. Методом УФ- спектрофотометрии.
6. Реакция образования гидроксоматов меди (II) (зелёного) или железа (III) (красного цвета) после гидроксиламинолиза β-лактамного цикла.
7. Реакция конденсации с фенолами (кислота хромотроповая, резорцин, β-нафтол) в присутствии кислоты серной концентрированной – образуются окрашенные продукты.
8. Определение органически связанной серы, после превращения её в сульфид-ион при сплавлении с гидроксидами.
9. Определяют температуру плавления N- этилпиперидиновой соли бензилпенициллина (для природных пенициллинов).
10. Реакция на алифатическую аминогруппу (ампициллин, амоксициллин) – при нагревании с раствором нингидрина наблюдается фиолетовое окрашивание.

Государственная Фармакопея Украины регламентирует чистоту лекарственных препаратов. При определении чистоты лекарственных препаратов пенициллинов измеряют оптическую плотность растворов природных пенициллинов при длинах волн 264, 280 и 325 нм. Специфические примеси (производные пенициллоиновой, аминопеницилановой, перилловой, пенилоиновой кислот и др.) определяют методом жидкостной хроматографии; остаточные количества органических растворителей (диметиланилин в амоксициллине) – методом газовой хроматографии. Определяют также пирогены, аномальную токсичность и стерильность.

Количественное определение лекарственных препаратов пенициллинов проводят такими методами:

1. Методом жидкостной хроматографии (ГФУ).
2. Микробиологическим методом дифузии в агар (воспроиводимость результатов 5-10 %).
3. Химическим методом, проводимым в два этапа:
* Определение суммы пенициллинов;
* Определение содержания соответствующего лекарственного вещества.

*Приложение:*

Таблица 1. Структурная основа лекарственных препаратов пенициллинов.

Таблица 2. Методы получения лекарственных препаратов пеницилли нов. (*Схема биосинтеза бензилпенициллина*)

Таблица 3. Методы получения лекарственных препаратов пенициллинов. (*Метод получения полусинтетических пенициллинов*).

Таблица 4. Лекарственные препараты пенициллинов.

Таблица 5. Идентификация лекарственных препаратов пенициллинов.

Таблица 6. Химический метод количественного определения лекарственных препаратов пенициллинов. (*Йодометрический м-д*).

*Фармацевтический анализ препаратов пенициллинов*

***Идентификация препаратов пенициллинов***

Подлинность препаратов пенициллинов подтверждают с помощью УФ – и ИК – спектрофотометрии. ИК – спектры препаратов пенициллина идентифицируют по совпадению с максимумами светопоглощения соответствующих стандартных образцов в области 4000 – 400 см .

Для испытания подлинности препаратов пенициллинов и их полусинтетических аналогов используют цветную реакцию основанную на разрыве β - лактамного цикла и образования медной соли гидроксамовой кислоты (осадок зелёного цвета):

В препаратах пенициллинов можно обнаружить органически связанную серу после превращения её в сульфид – ион сплавлением с едкими щелочами.

Поскольку соли бензилпенициллина очень слабо диссоциируют в растворах, для обнаружения ионов натрия или калия необходимо предварительно минерализовать препарат путём сжигания в тигле. Затем остаток растворяют в воде и фильтруют. Фильтрат испытывают на ион натрия или калия с помощью соответствующих реакций (ГФ XI ). Новокаиновую соль бензилпеициллина подвергают испытанию на первичные ароматические амины.

Препараты пенициллина отличаются друг от друга по различной окраске продуктов реакции с хромотроповой кислотой в присутствии концентрированной серной кислоты. Ампициллин, благодаря наличию в молекуле остатка фениламиноуксусной кислоты, даёт положительную реакцию с нингидрином подобно аминокислотам, а при взаимодействии с реактивом Фелинга приобретает фиолетовое окрашивание.

Феноксиметилпенициллин отличают от других пенициллинов по отрицательной реакции с концентрированной серной кислотой. Раствор остаётся бесцветным и после нагревания на водяной бане.

Реактив Марки (раствор формальдегида в концентрированной серной кислоте) используют для идентификации феноксиметилпенициллина. Наличие в его молекуле феноксиуксусной кислоты обуславливает образование красного окрашивания смеси препарата с реактивом. При нагревании на водяной бане наблюдается усиление интенсивности окраски. Другие пенициллины не образуют окрашенных продуктов при комнатной температуре, а при нагревании приобретают жёлтое или жёлто-бурое окрашивание (ампициллин) красно-коричневое окрашивание (соли бензилпеницилина).

Для идентификации и фотоколориметрического определения солей бензилпенициллина, феноксиметилпенициллина, натриевой соли оксациллина используют реакцию, основанную на образовании полиметиновых красителей. Бензилпенициллин подвергают кислотному гидролизу до бензилпеницилленовой кислоты. Она вступает в реакцию сочетания с производным глютаконового альдегида, который образуется (pH 4,9) в результате расщепления пиридинового цикла под действием тиоцианата хлора. Последний предварительно получают при взаимодействии хлорамина Б и тиоцианата аммония.

В соответствии с требованиями НТД препараты пенициллинов и их полусинтетических аналогов подвергают испытаниям на токсичность, пирогенность, стерильность, а натриевую и калиевую соли бензилпенициллина – также на термостабильность.

**Список используемой литературы:**

1. Государственная фармакопея СССР.- 11-е изд.- Вып.I, - М.: Медицина, 1987г. – 334с.
2. Фармацевтический анализ/ П.О.Безуглый, В.О.Грудько, С.Г.Леонова и др. – Х.: изд. НФАУ; Золотые страницы, 2001. – 240с.
3. Фармацевтический журнал № 5 2003.
4. Фармацевт- практик №11 2004.
5. Журнал Провизор №1 январь 2004
6. Журнал Провизор №5 март 2004
7. Журнал Провизор №1 январь 2006
8. Журнал Провизор №2 январь 2006
9. Интернет: www. provisor.com.ua