



Бета-лактамыды (природные и полусинтетические пенициллины и цефалоспорины)



Цель лекции:

Изучить физико-химические и фармакологические свойства, методы оценки качества лекарственных средств указанной группы во взаимосвязи со структурой.

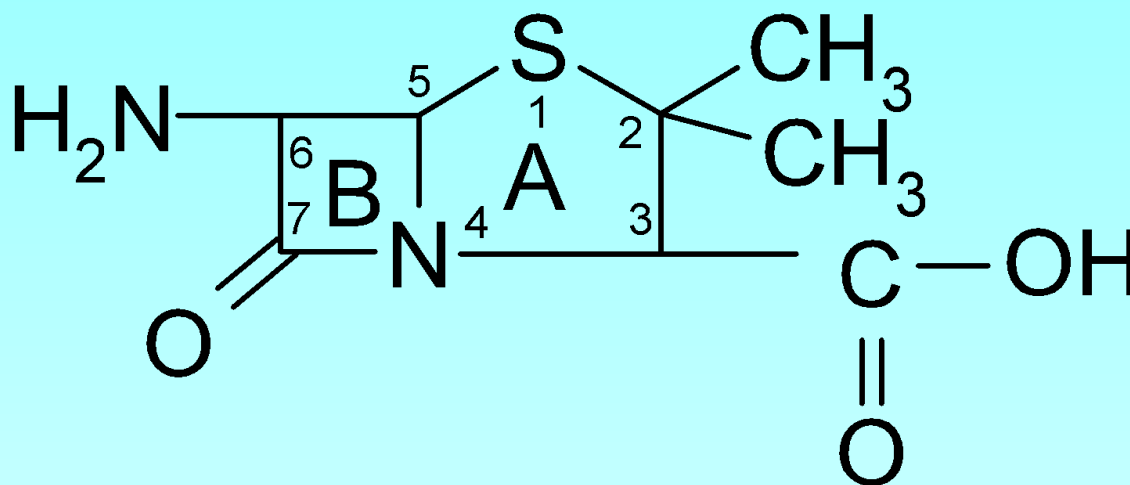


План лекции:

План излагаемой лекции
соответствует всем разделам
фармакопейной статьи.

Пенициллины

- Структурной основой природных и синтетических пенициллинов является 6-аминопенициллановая кислота, состоящая из тиазолидинового цикла (А) и лактамного цикла (В):



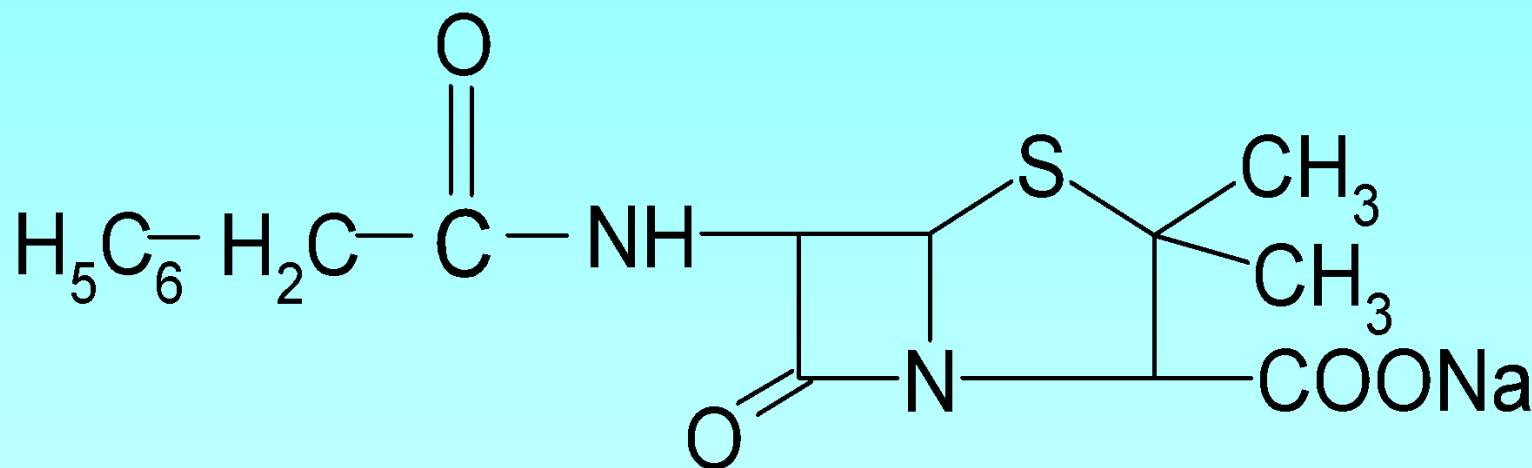
- 
- Специфическая биологическая активность обусловлена наличием тиазолидинового и лактамного колец, а также заместителем в 6-ом положении.
 - Биосинтез природных пенициллинов осуществляется отобранными промышленными штаммами плесени, инкубированными в питательной среде, содержащей аминокислоты, углеводы, жиры и обязательно предшественников для формирования радикала в 6-ом положении.

- Для выделения и очистки пенициллинов используют хроматографию, ионообменную сорбцию.
- Природные пенициллины имеют серьезный недостаток – они легко разрушаются под действием фермента пенициллиназы (β -лактамазы). Это послужило предпосылкой для синтеза полусинтетических пенициллинов на основе 6-амино-пенициллановой кислоты (6-АПК), которую чаще всего ацилируют по аминогруппе в 6-ом положении.

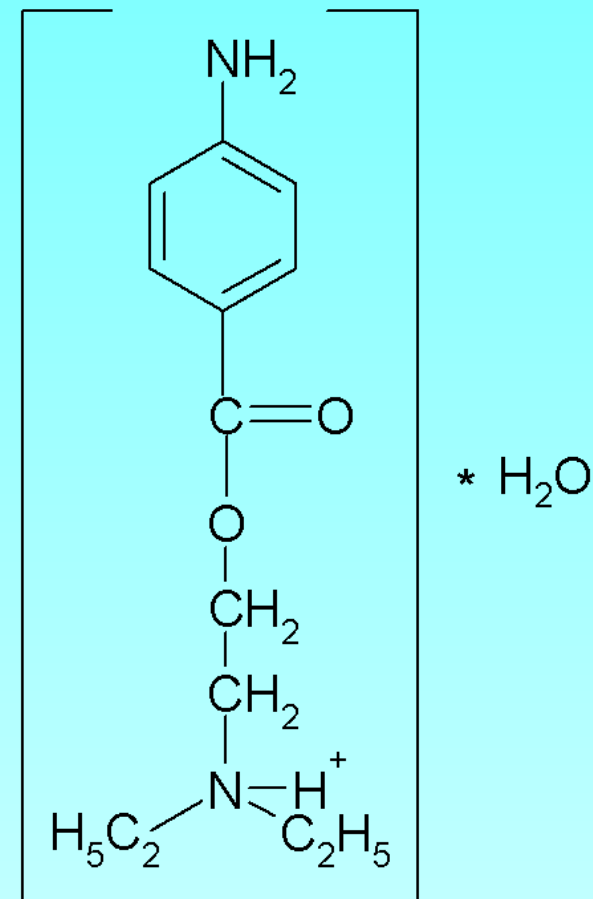
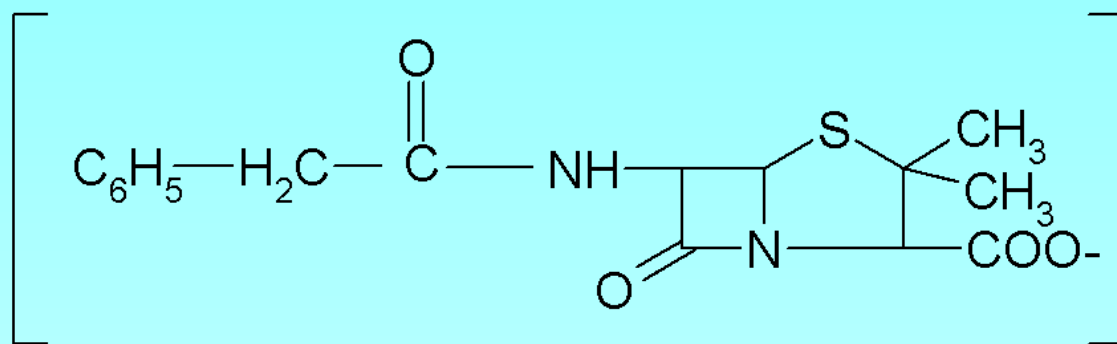
Природные пенициллины

Структурные формулы

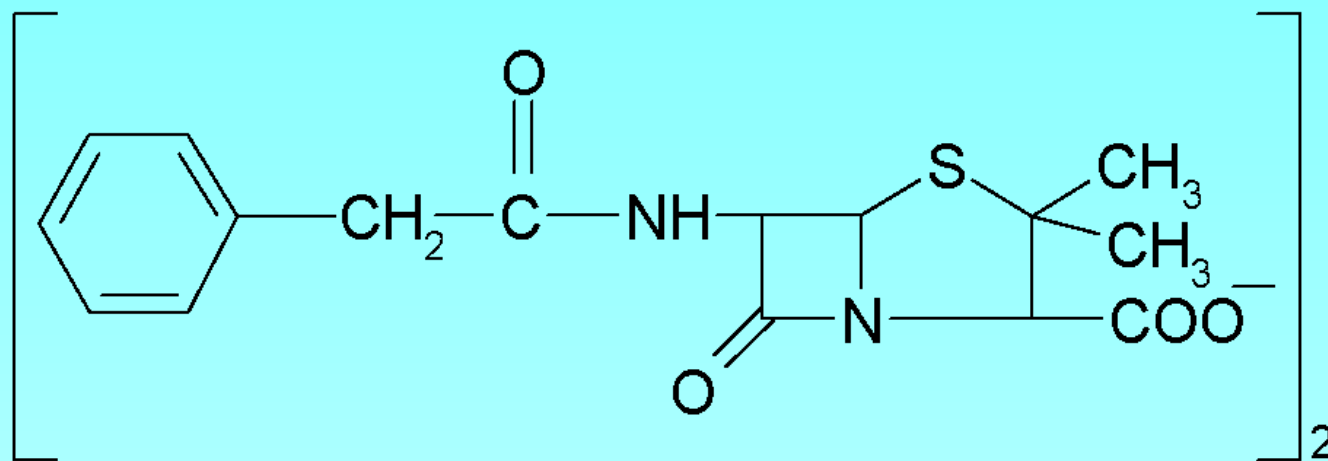
1. Бензилпенициллина натриевая (калиевая) соль
Benzylpenicillinum natrium (kalium)



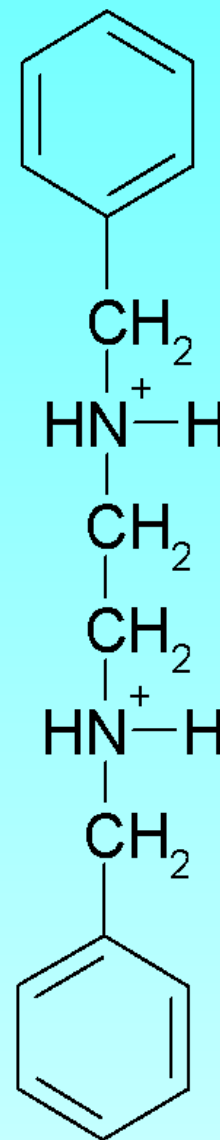
2. Бензилпенициллина новокаиновая соль Benzylpenicillinum novocainum



3. Бензатин-бензилпенициллин Benzathinum Benzylpenicillinum

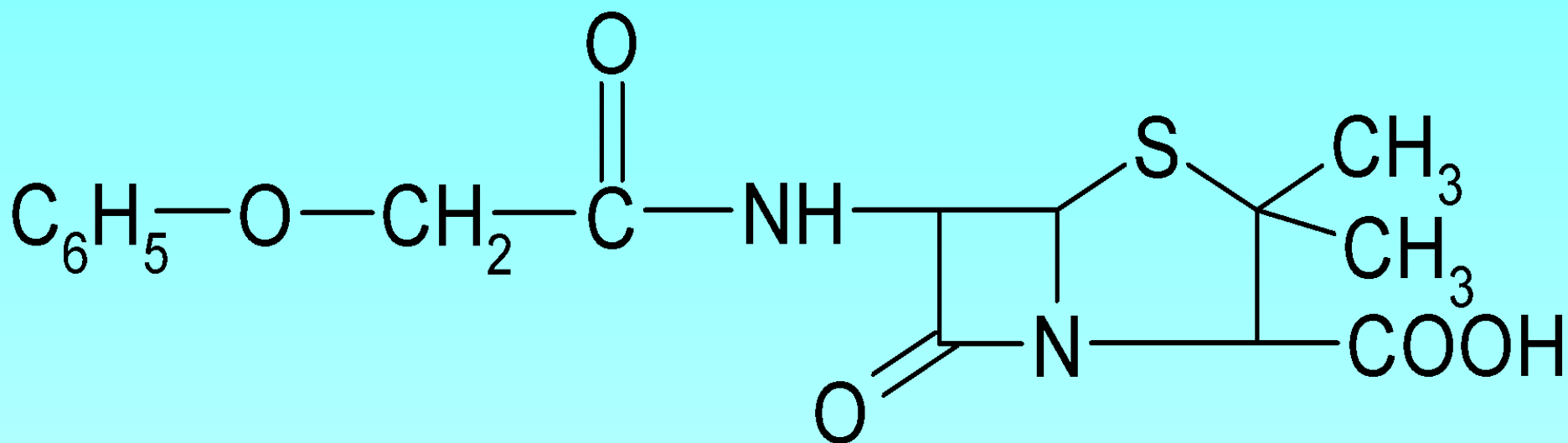


*



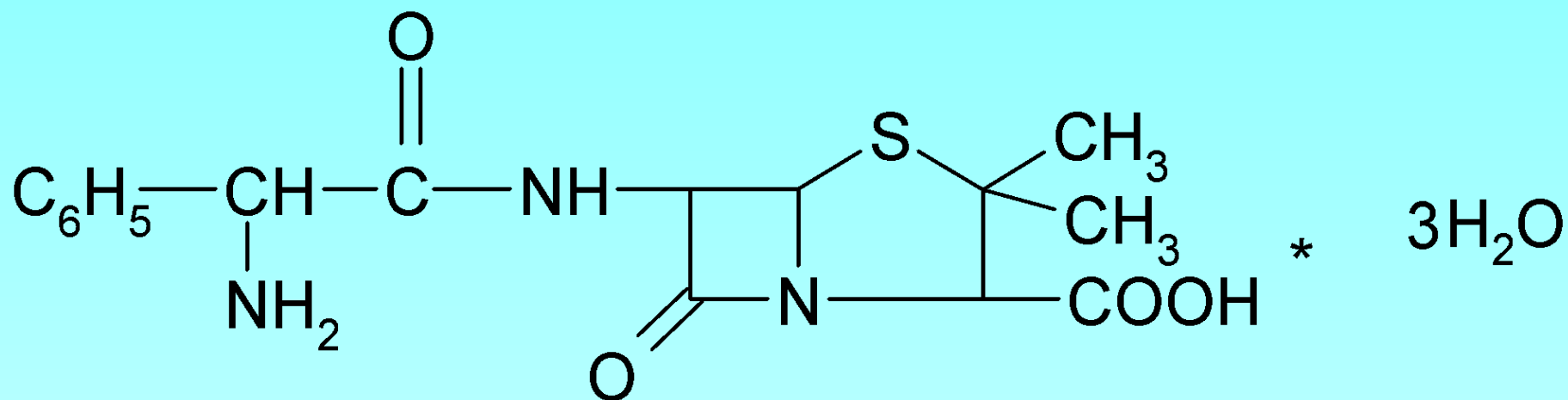
N,N' - дибензилэтилендиаминовая
соль бензилпенициллина

4. Феноксиметилпенициллин Phenoxymethylpenicillinum



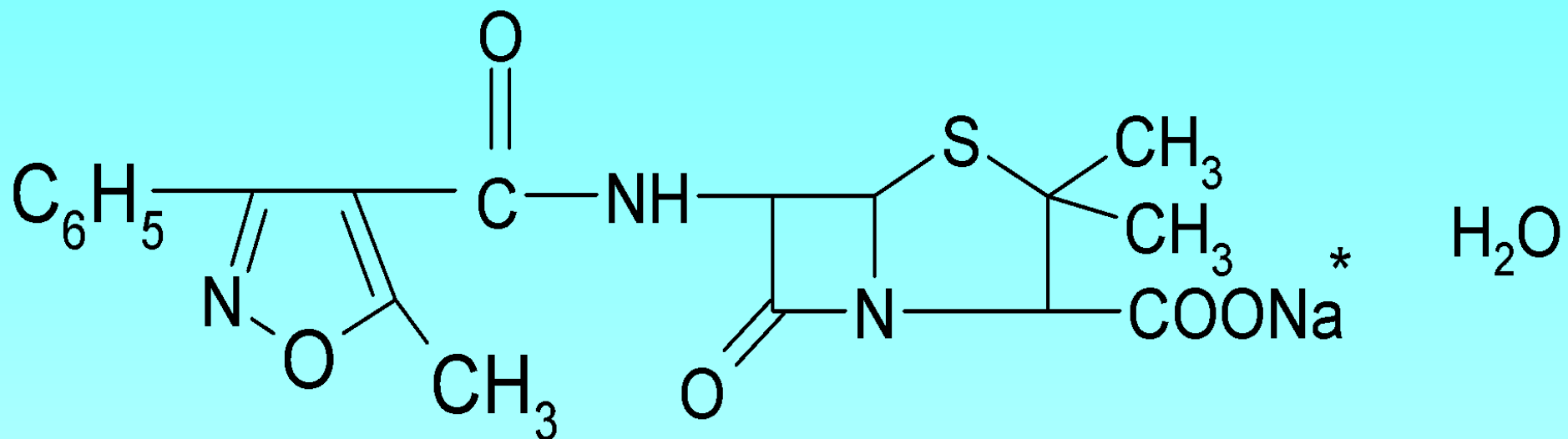
Полусинтетические пенициллины

1. Ампицилина тригидрат
Ampicillinum trihydricum



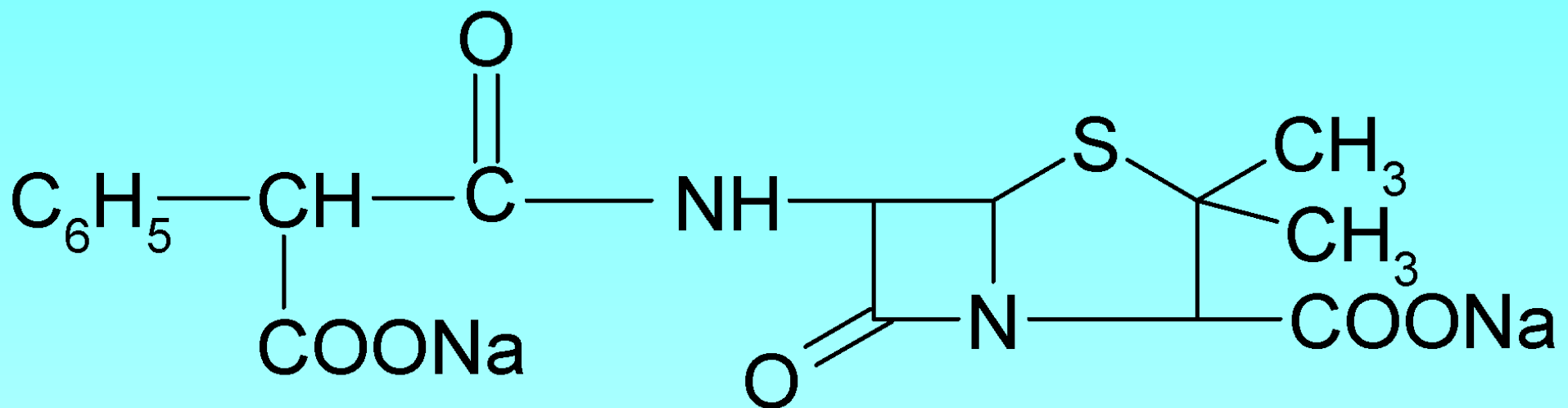
α-аминобензилпенициллин

2.Оксациллина натриевая соль Oxacillinum natrium



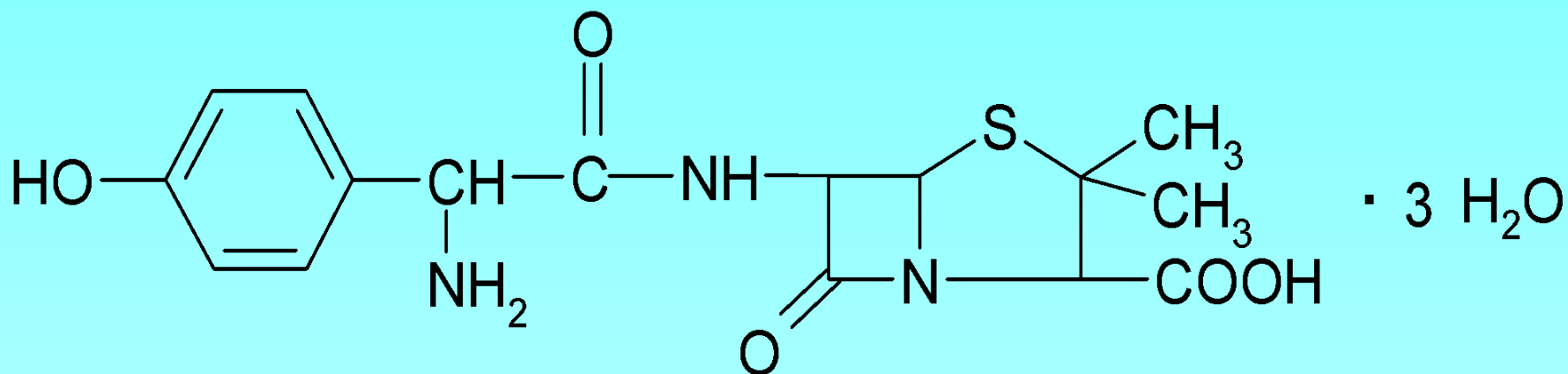
натриевой соли 3-фенил-5-метил-4-
изоксазолилпенициллина моногидрат

3. Карбенициллина динатриевая соль Carbenicillinum dinatrium



динатриевая соль 6-(α -карбокси
фенилацетамидо)пенициллановой кислоты

4. Амоксициллин Amoxicillinum trihydratum



α-амино-п-оксибензилпенициллин

Физические свойства

- Препараты – белые кристаллические порошки, без запаха. Натриевые и калиевые соли слегка гигроскопичны, карбенициллина динатриевая соль – гигроскопична.

Растворимость пенициллинов

препарат	вода	спирт	хлороформ
Na,K-соли бензилпенициллина	легко	растворим	практически нерастворим
Динатриевая соль карбенициллина	легко	медленно растворим	-
Бензилпенициллина новокаиновая соль	мало	мало	умеренно растворим
Бензатин- бензилпенициллин	мало	-	практически нерастворим
Феноксиметил- пенициллин	мало	растворим	растворим

Растворимость пенициллинов

препарат	вода	спирт	хлороформ
Ампициллин	мало	практически нерастворим	практически нерастворим
Оксациллина Na- соль	легко	трудно растворим	-
Амоксициллин	мало	-	практически нерастворим

Определение подлинности

1. УФ – спектроскопия:

соли бензилпенициллина

$\lambda = 280-286$ нм.

феноксиметилпенициллин

$\lambda_{\max} = 268-274$ нм, $\lambda_{\min} = 272$ нм;

ампициллин

$\lambda_{\max} = 256, 261, 267,$

$\lambda_{\min} = 255, 260, 266$ нм

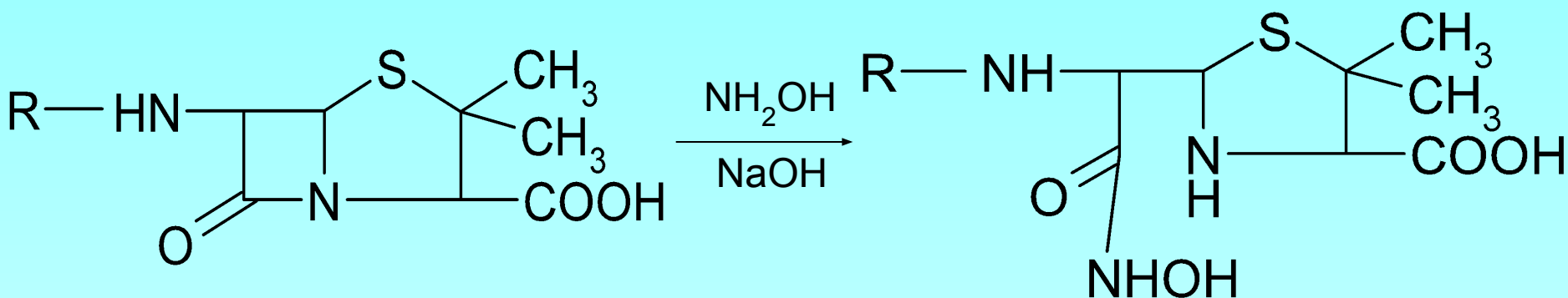


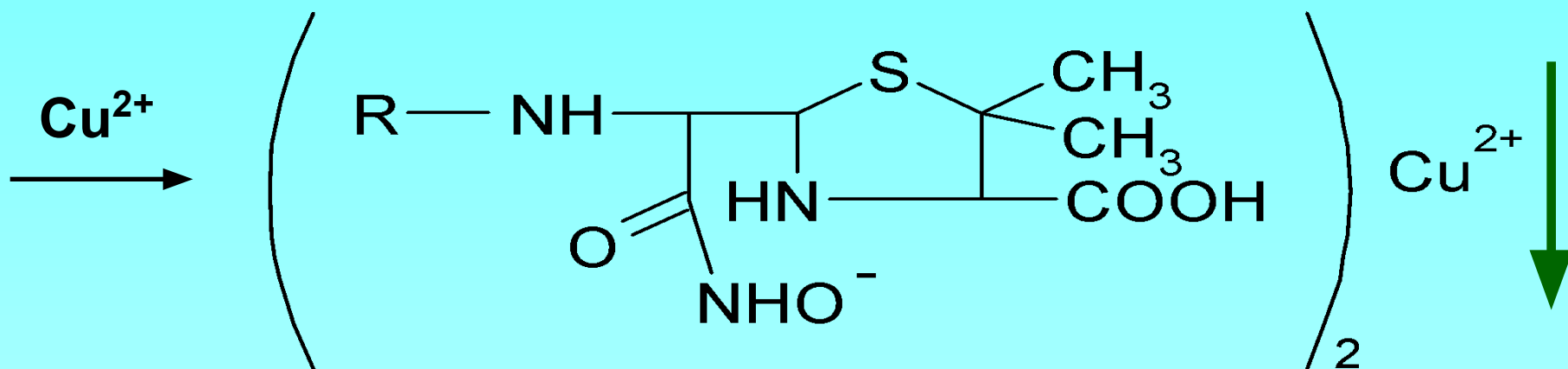
Определение подлинности

- 2. ИК - спектроскопия
- 3. Удельное вращение
- 4. ВЭЖХ
- 5. ТСХ

Общие реакции для группы β - лактамидов

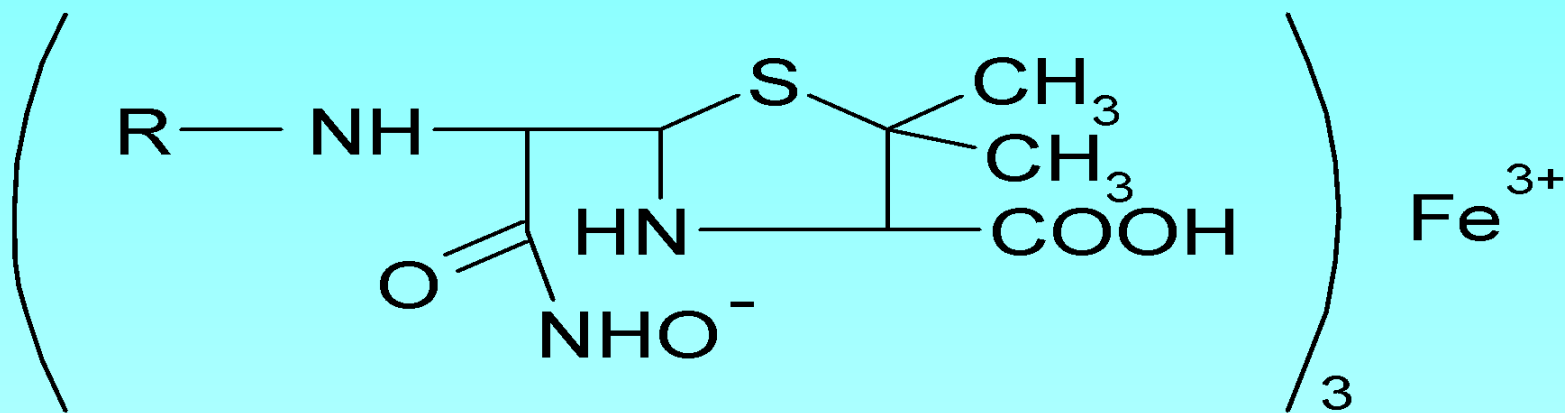
Разрыв β -лактамного кольца – образование медной соли гидроксамовой кислоты – осадок зеленого цвета.





Зеленый осадок

С FeCl_3 – образуется комплексная
соль красного цвета





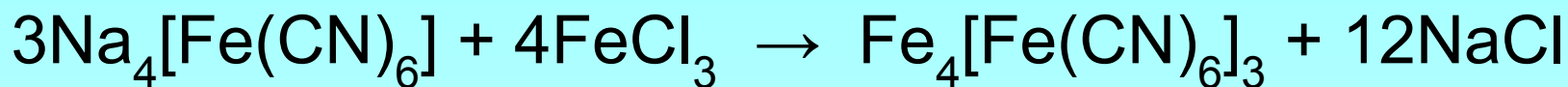
Обнаружение азотистого основания

- а) с насыщенным раствором йода
– коричневый осадок;
- б) с реактивом Майера – белый
осадок.

Проба Лассеня для обнаружения N и S

Препарат прокаливают с солями Na, фильтруют:

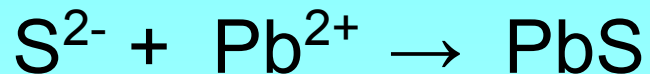
а) к части фильтрата добавляют FeSO_4 , затем при подкислении приливают FeCl_3 . Образуется синий осадок – берлинская лазурь.



б) часть фильтрата нагревают с соляной кислотой, образуется H_2S , который обнаруживается по почернению бумаги пропитанной $\text{Pb}(\text{CH}_3\text{COO})_2$.

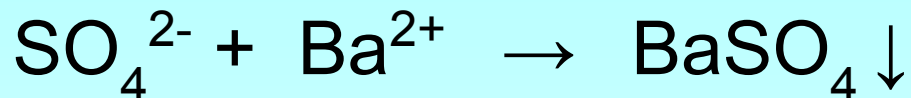
Окислительная минерализация

а) сплавление со щелочью с образованием S^{2-} иона:



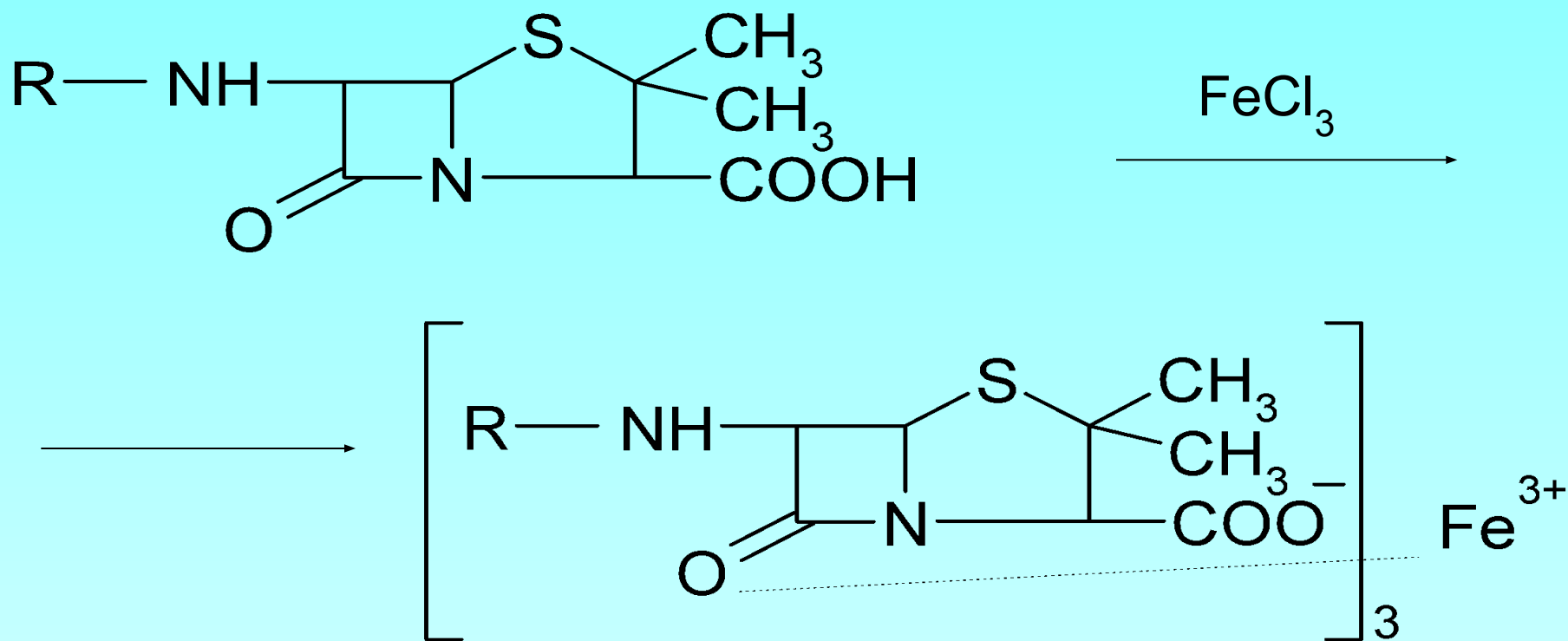
или с нитропруссидом Na – красно-фиолетовое окрашивание $Na_4[Fe(CN)_5NOS]$

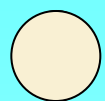
б) минерализация в концентрированной азотной кислоте (HNO_3) до сульфат – иона:



Реакция на COOH – группу:

- образование комплексных солей с FeCl_3





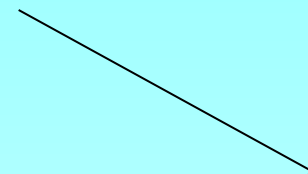
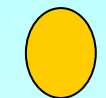
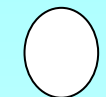
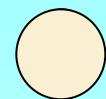
- ампициллин – желтое окрашивание;



- бензилпенициллин (Na, K) – желтый осадок;

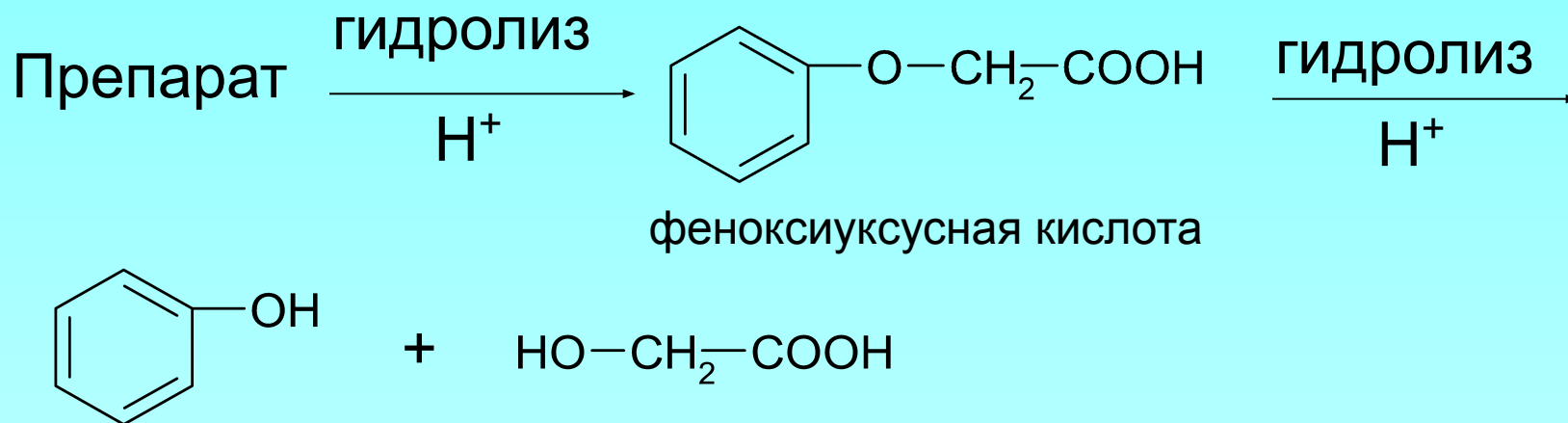


- феноксиметилпенициллин – желто-зеленый осадок.



Взаимодействие с реактивом Марки (формальдегид в концентрированной серной кислоте).

- Феноксиметилпенициллин + р-в Марки - **красно-коричневое окрашивание** (ауриновый краситель).



- Реакция идет без нагревания только для феноксиметилпенициллина.

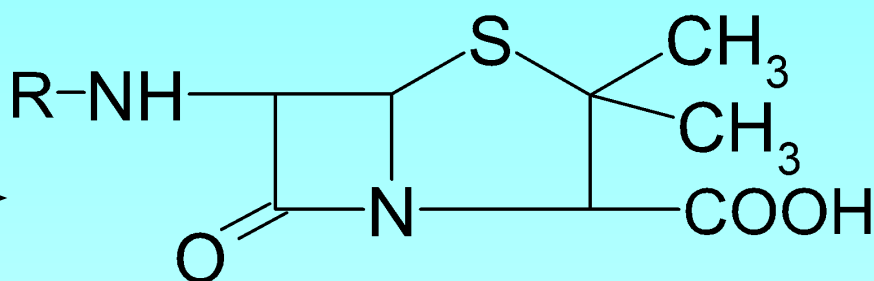
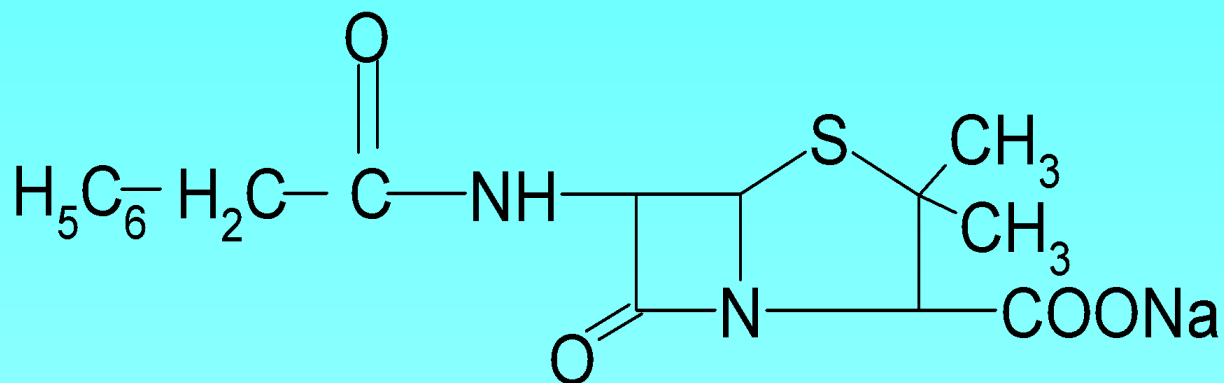
Взаимодействие с реактивом Марки (формальдегид в концентрированной серной кислоте).

- Соли бензилпенициллина + р-в Марки - **красно-коричневое окрашивание**
- Ампициллин + р-в Марки - **темно-желтое окрашивание**
- Амоксициллин + р-в Марки - **темно-желтое окрашивание**

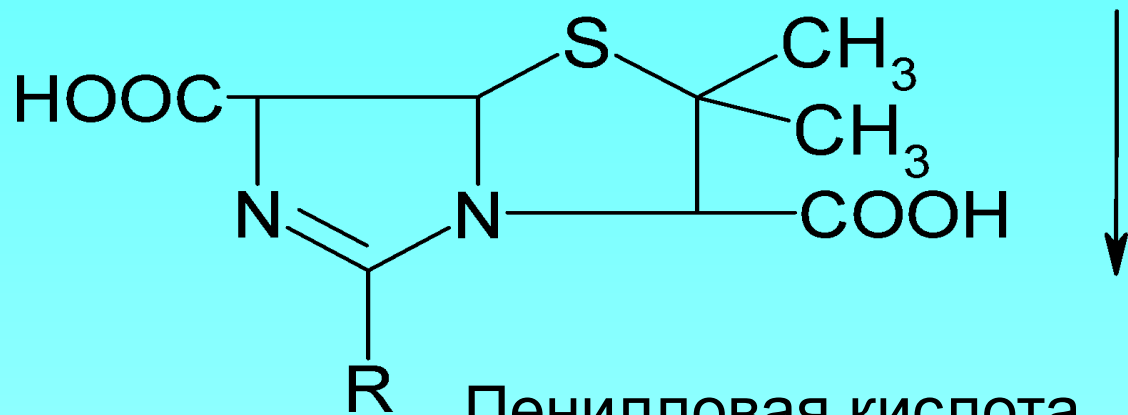
Частные реакции

1. Бензилпенициллина Na и K соли

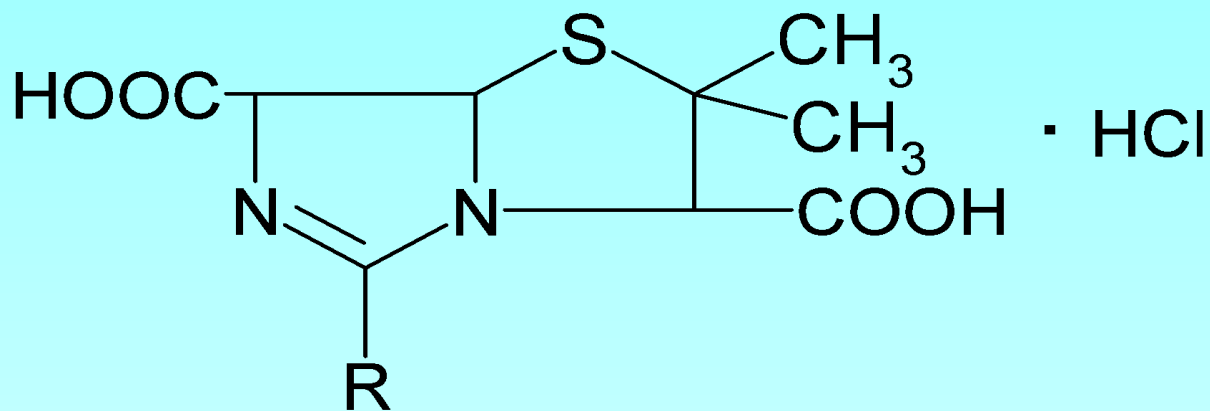
- Осаждение свободной кислоты при добавлении соляной кислоты – белый осадок, растворимый в избытке кислоты.



гидролитическое
расщепление,
изомеризация



Пенилловая кислота



Обнаружение катионов Na и K

- 1) окраска пламени
- 2) с кобальтинитритом Na на K^+ -
оранжево-желтый осадок.

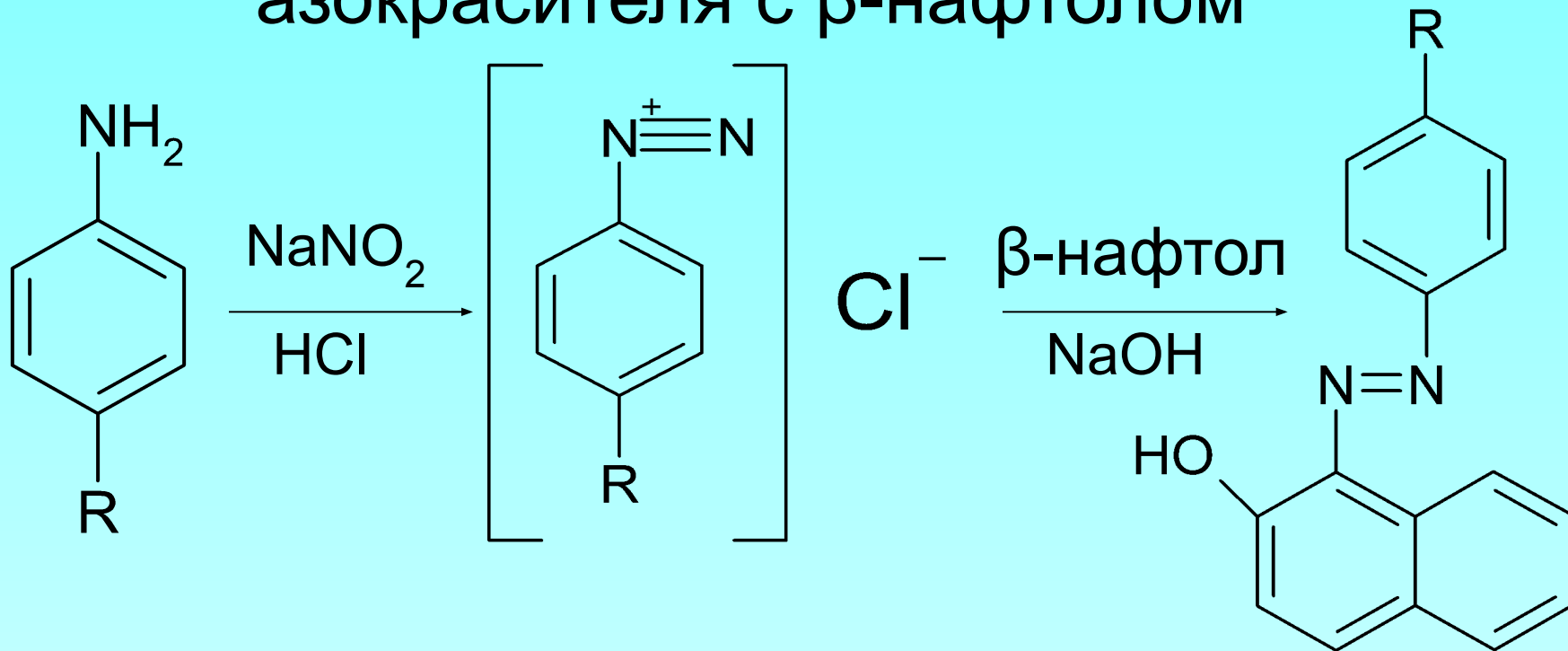
Реакция Витали-Морена:

- Препарат выпаривают в смеси с дымящей HNO_3 , а затем прибавляют спиртовый раствор KOH и ацетон – **фиолетовое окрашивание.**

- Выделение фенилуксусной кислоты после кипячения в 4% NaOH и последующего добавления избытка разбавленной H_2SO_4 (по запаху)

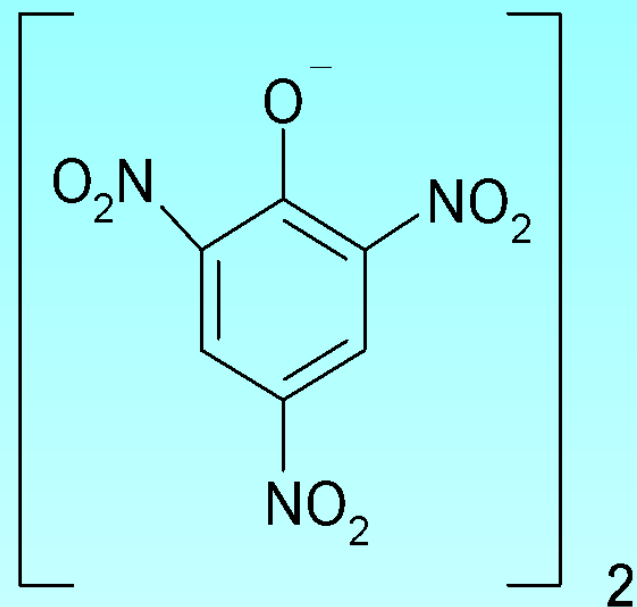
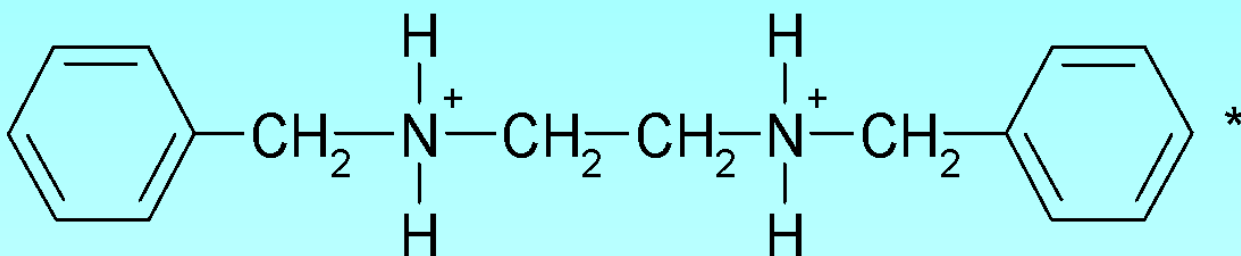
2. Бензилпенициллина новокаиновая соль:

На новокаин – образование
азокрасителя с β -нафтолом



3. Бициллин-I (бензатин-бензилпенициллин):

Обнаружение N,N – дибензилэтилендиамина.
После добавления NaOH и извлечения эфиром реакция с пикриновой кислотой – **желтые кристаллы.**



Определяют $t_{пл}$

Окислительное разложение:



- Препарат + NaOH + KMnO_4 –

зеленое окрашивание



- При нагревании появляется запах бензальдегида.



- Действуют $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ и ледяной CH_3COOH – образуется **золотисто-желтый осадок**



4. Ампициллина тригидрат:

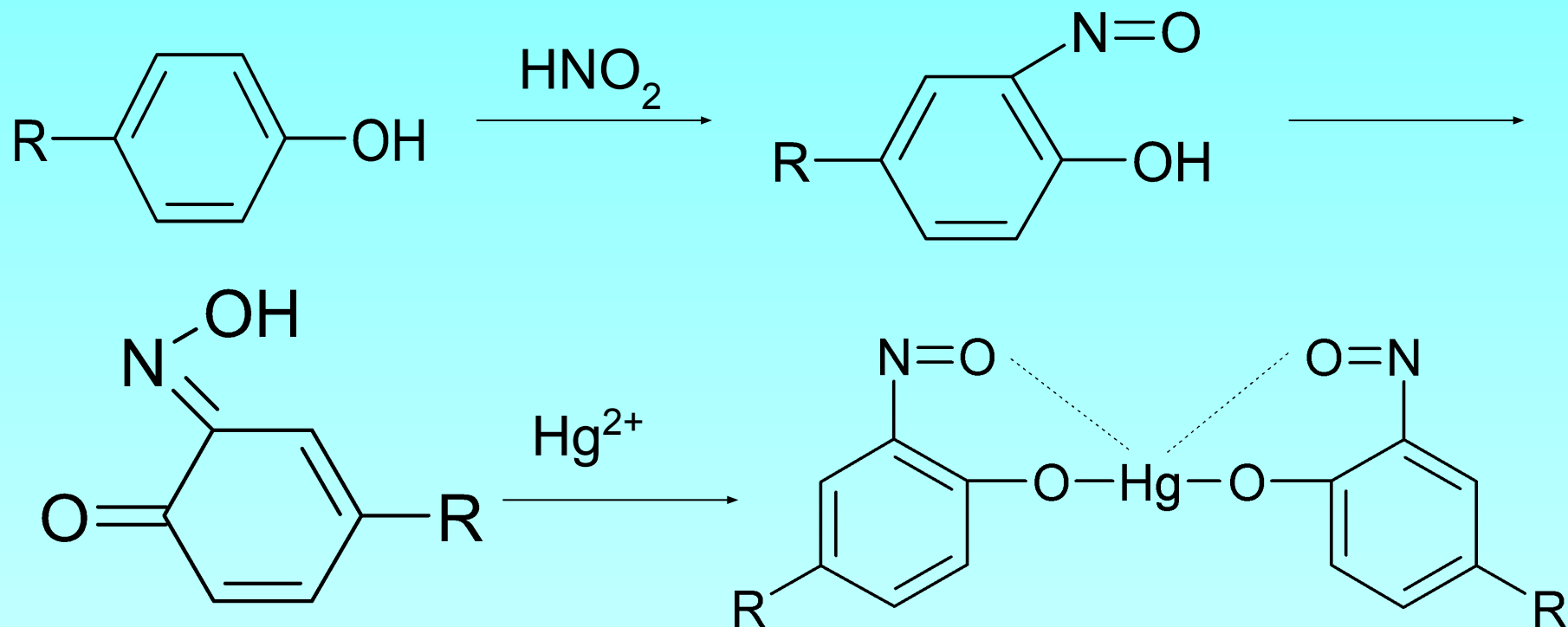
- с реактивом Фелинга – **красно-фиолетовое окрашивание** (образование медных комплексов).
- нагревание с нингидрином – **вишневое окрашивание** за счет фениламиноуксусной кислоты.

5. Карбенициллина натриевая соль:

- реакция декарбоксилирования:
добавляют Na_2CO_3 и фенолфталеин –
розовое окрашивание, нагревают –
окраска фенолфталеина исчезает.

6. Амоксициллин

Амоксициллин имеет свободный фенольный гидроксил и реагирует с реактивом Миллона:
(p-p HNO_3 , содержащий NO_2 , NO_3 , Hg^{+2} , Hg^+)



Чистота:

- кислотность или щелочность ($\text{pH} = 5,5; 7,5$);
- потеря в массе при высушивании;
- испытания на токсичность, пирогенность, стерильность;
- термостабильность – при нагревании препарата до 1,5 часов при 170°C допускается снижение содержания суммы пенициллинов не более 10%;

Чистота:

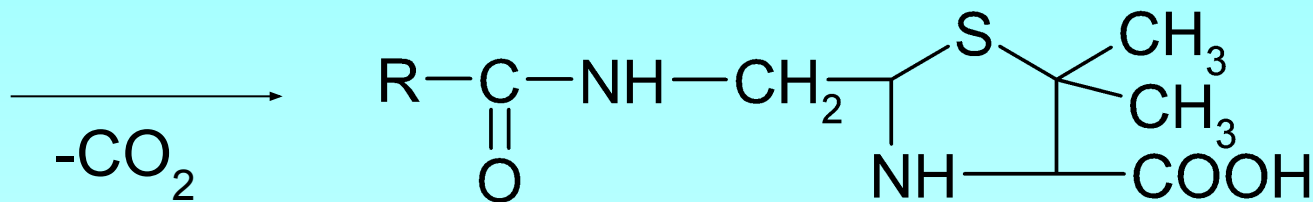
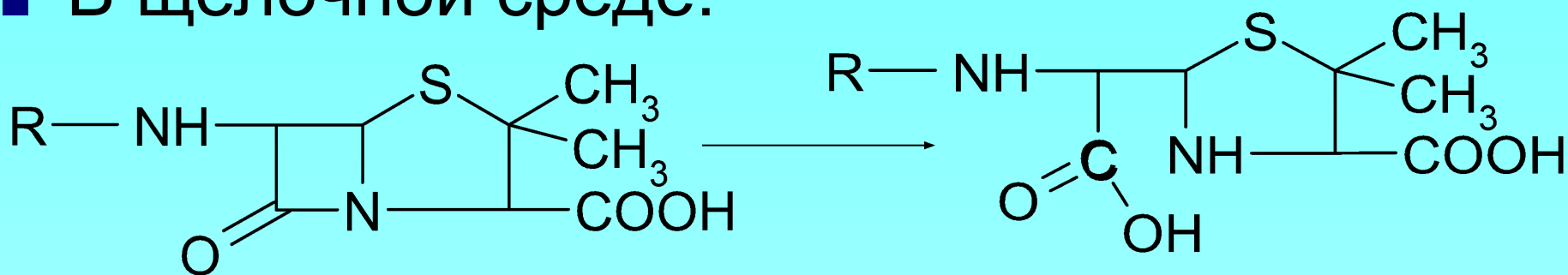
- светопоглощающие примеси;
- йодсорбирующие примеси не более 6% (обратная йодметрия);
- остаточные растворители - ГЖХ;
- триметиламин, диметиланилин (ампициллин) – ГЖХ;
- феноксиуксусная кислота (феноксиметилпенициллин) - ВЭЖХ.

Устойчивость бензилпенициллина

- устойчив на холоду только в сухом состоянии, при повышенной температуре в присутствии влаги, следов тяжелых металлов в кислой и щелочной среде разлагается. Производные полиэтиленгликоля, ПАВ и других вспомогательные вещества снижают устойчивость. Наиболее устойчив при pH 6,0-7,0.

Гидролиз и разложение:

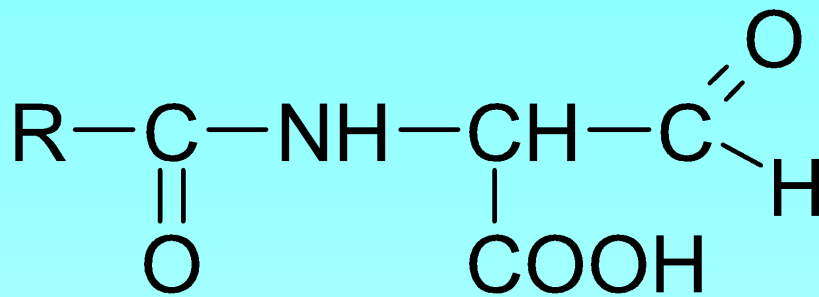
- В щелочной среде:



пениллоиновая кислота

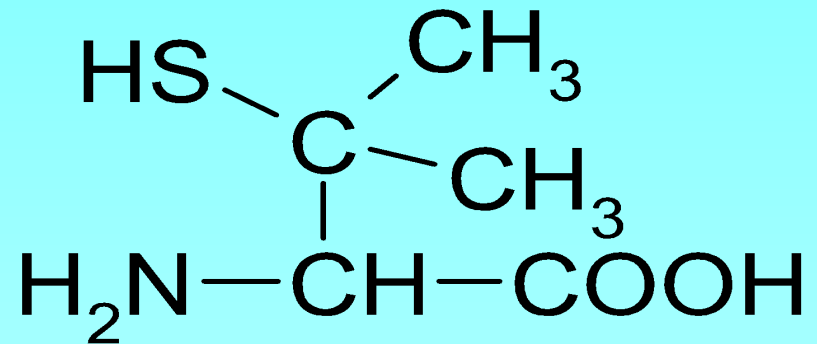
В кислой среде:

Пенициллоиновая кислота разлагается до:



пенальдиновая кислота

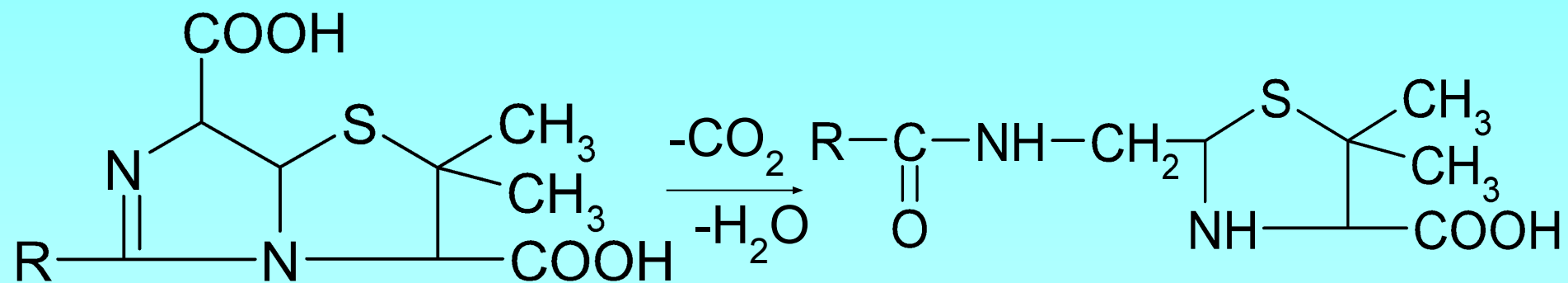
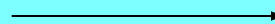
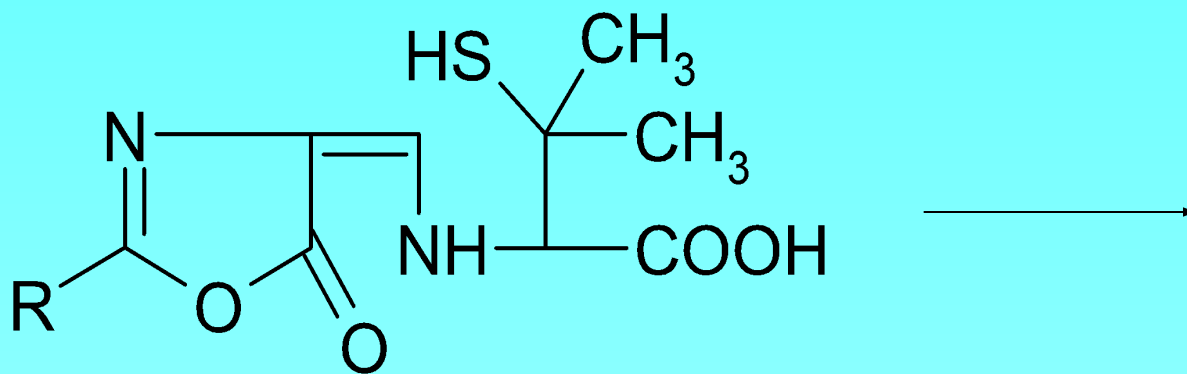
+



пеницилламин

В сильно кислых растворах pH < 3,0 – разложение





пенилловая кислота

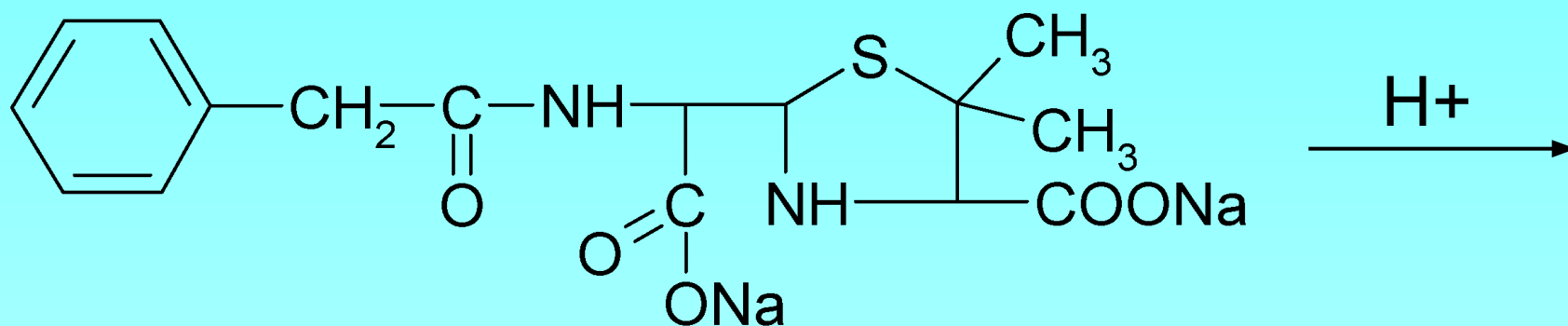
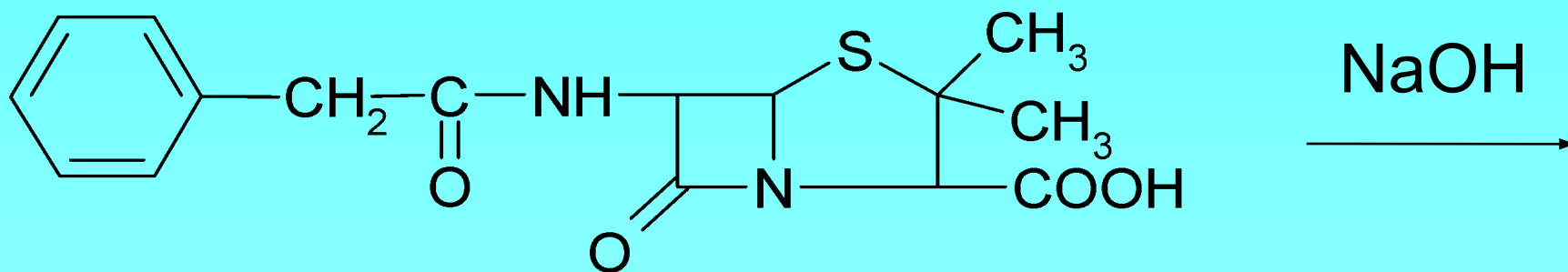
пениллоиновая кислота

Количественное определение

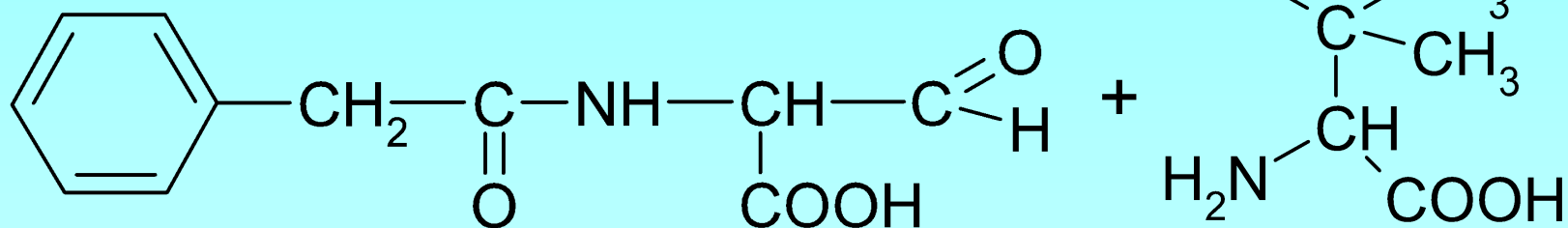
- Состоит из двух этапов: определение суммы пенициллинов и определение соответствующего препарата.

1. Обратная йодометрия (ГФХ)

продукты последовательного щелочного, а затем кислотного гидролиза окисляют избытком стандартного раствора йода J_2 при рН 4,5

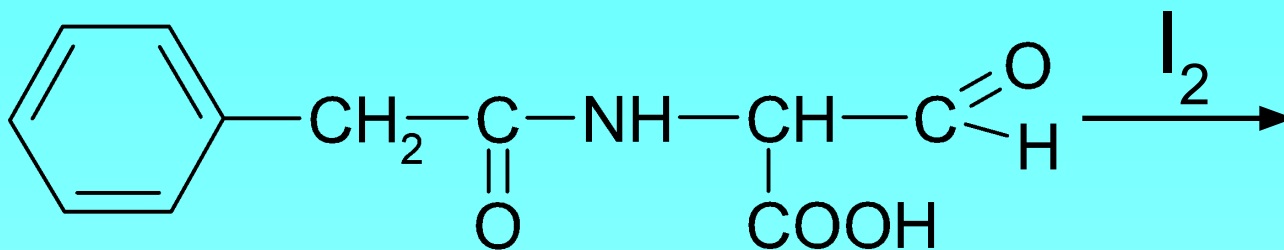


динатриевая соль пенициллоиновой кислоты

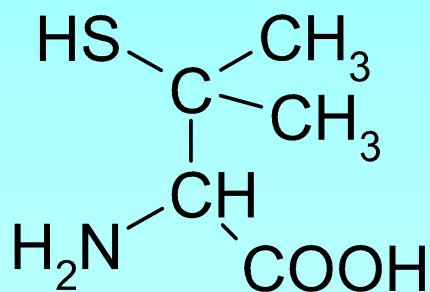


пенальдиновая кислота

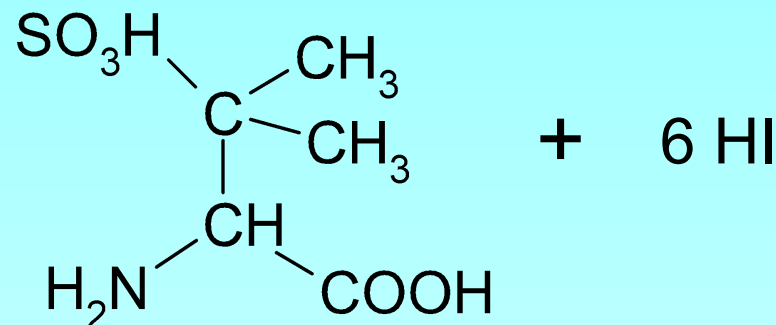
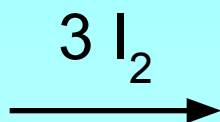
пенициламин



пенальдиновая кислота



пенициллин

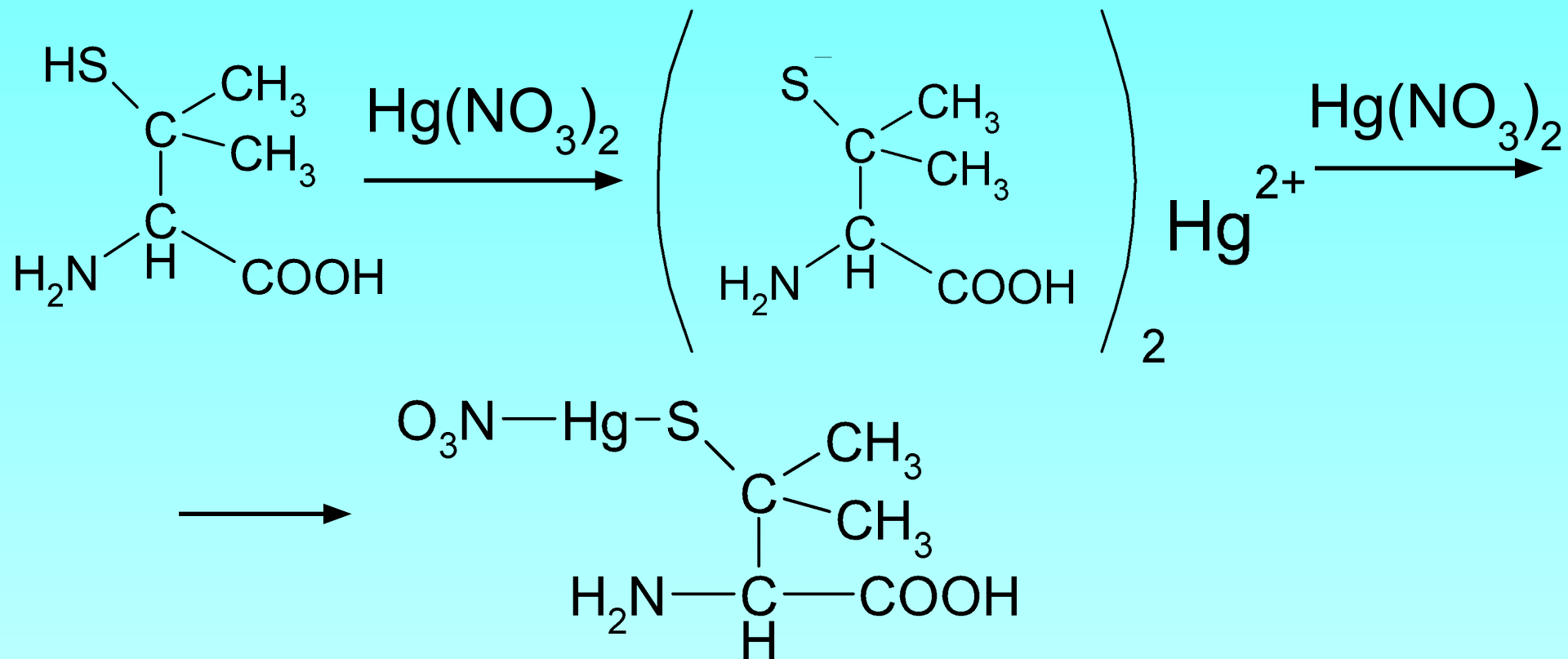


пенициллиновая кислота

Избыток I_2 оттитровывают тиосульфатом натрия $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$

2. Меркуриметрический метод

после последовательного щелочного и кислотного гидролиза титруют $\text{Hg}(\text{NO}_3)_2$

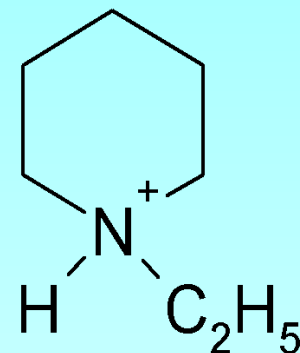
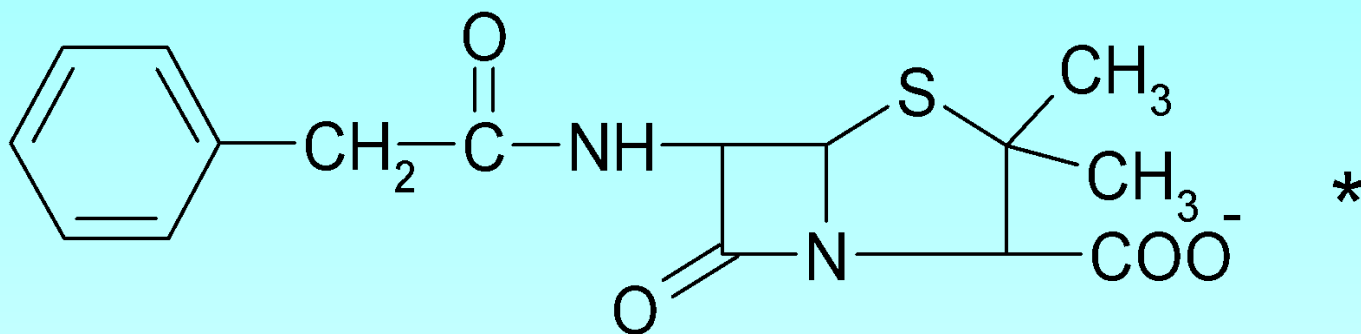


Точка эквивалентности регистрируется потенциометрически
НД (амоксициллин)

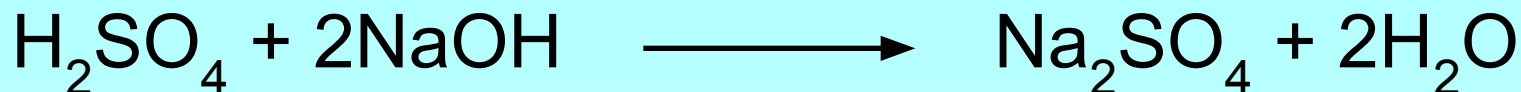
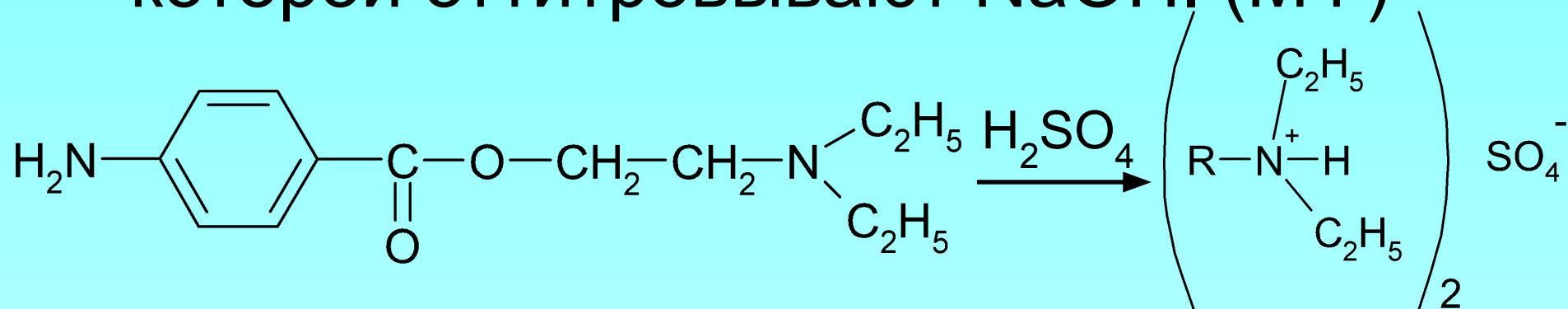
3. Гравиметрический метод

определяют Na, K, новокаиновую соли

- Бензилпенициллин извлекают амилацетатом и осаждают в виде N-этилпиперидиновой соли.

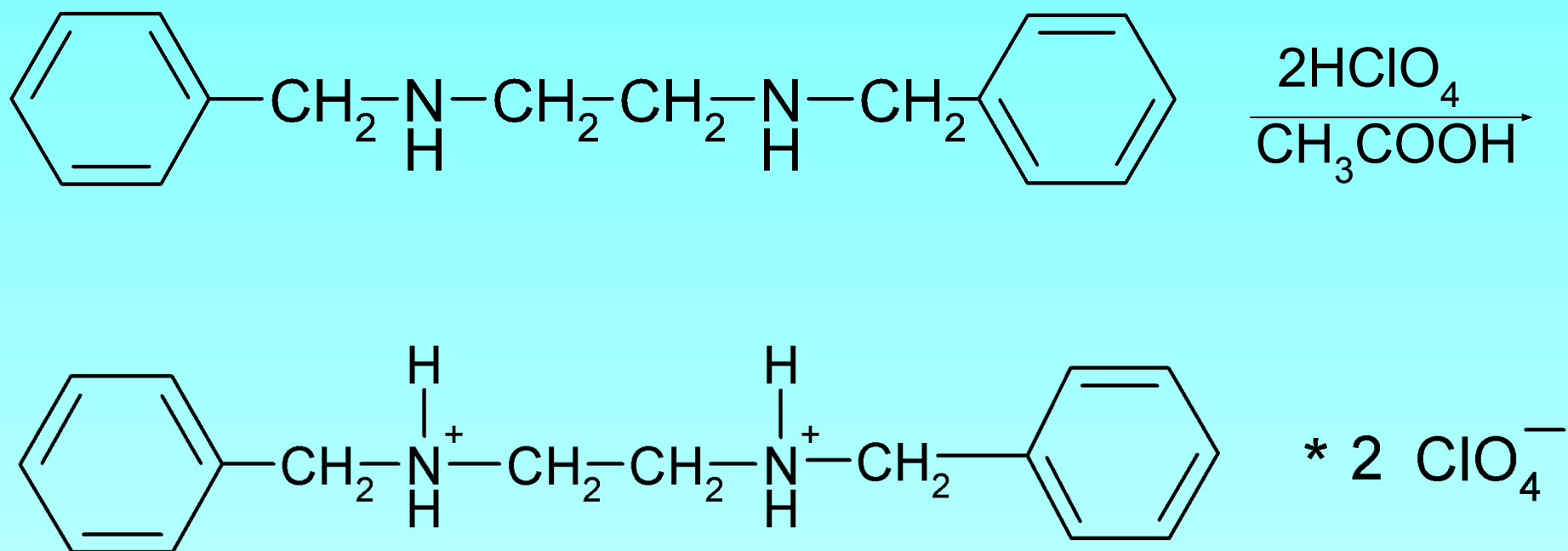


В новокаиновой соли бензилпенициллина новокаин определяют обратной нейтрализацией. Новокаин извлекают хлороформом и титруют серной кислотой, избыток которой оттитровывают NaOH. (МФ)



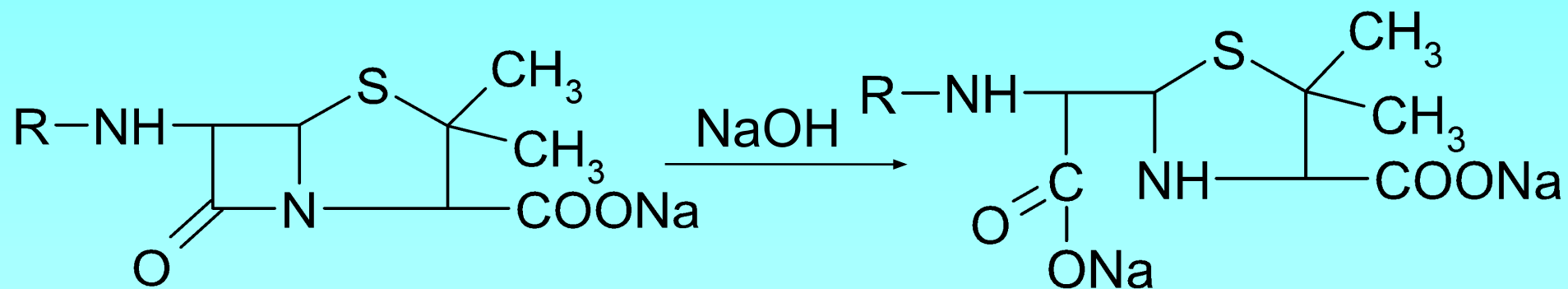
Или СФ в водно-метанольном растворе при λ 290 нм

Определение бензатина после извлечения эфиром методом неводного титрования



Растворитель – ледяная уксусная кислота,
индикатор – 1-нафтолбензеин

- Na - соль оксациллина, динатриевую соль карбенициллина определяют методом обратной нейтрализации



изб. $\text{NaOH} + \text{HCl} \rightarrow \text{NaCl} + \text{H}_2\text{O}$

индикатор - фенолфталеин

- Спектрофотометрический метод (ФС, МФ)

а) Феноксиметилпенициллин в NaOH при λ 269 нм

б) МФ – (препарат взаимодействует с раствором имидазола и HgCl_2 – образуется соль пеницилленовой кислоты R-S-HgCl) $\lambda=325$ нм

- ФЭК

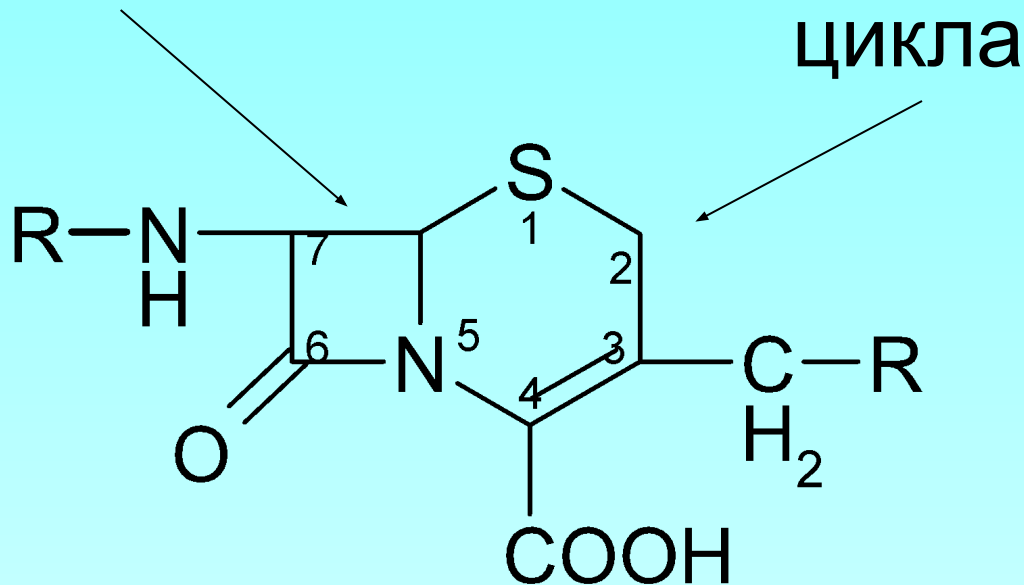
- 
- Активность пенициллинов – метод диффузии в агар
- 1 ЕД = 0,5988 мкг химически чистой
Na-соли бензилпенициллина

- 
- **Применение:** антибактериальные препараты.
 - **Совместимость:** пенициллины нельзя объединять с аминогликозидами в одном шприце, т.к. образующиеся пенициллоиновые кислоты дают соли с основными аминогликозидами
 - **Хранение:** в сухом месте при комнатной температуре, флаконы.

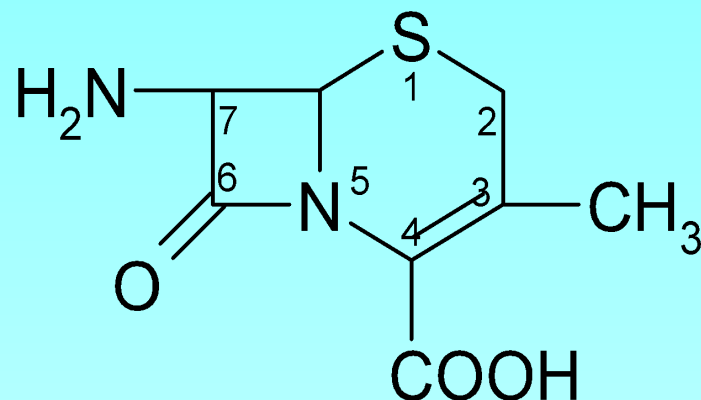
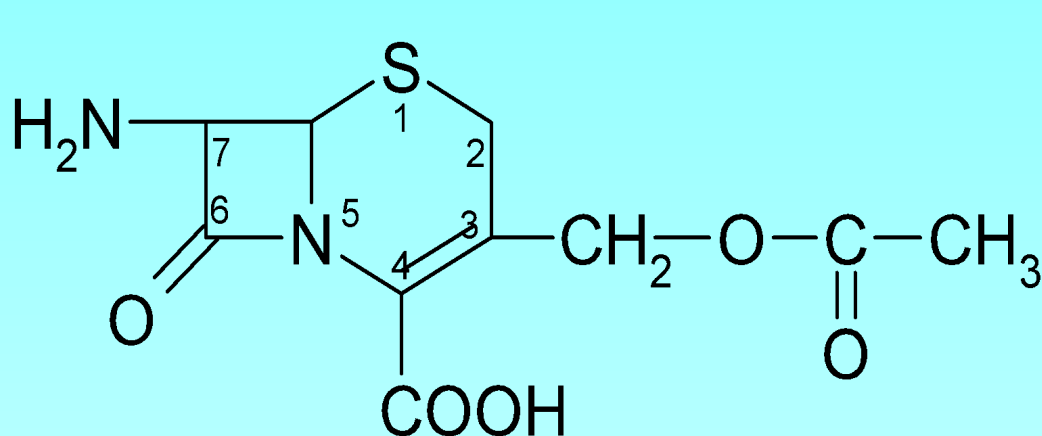
- 
- **Фармакокинетика:** выводятся с мочой 90% в неизменном виде, остальное в виде неактивных продуктов: пенициллоиновая кислота и диметилцистеин.
 - **Феноксиметилпенициллин:** 30-35% превращается в п-оксифеноксиметилпенициллин, в большей степени связывается с белками.

Цефалоспорины

- Структурная основа – конденсированная система, состоящая из β – лактамного кольца и дигидротиазинового цикла



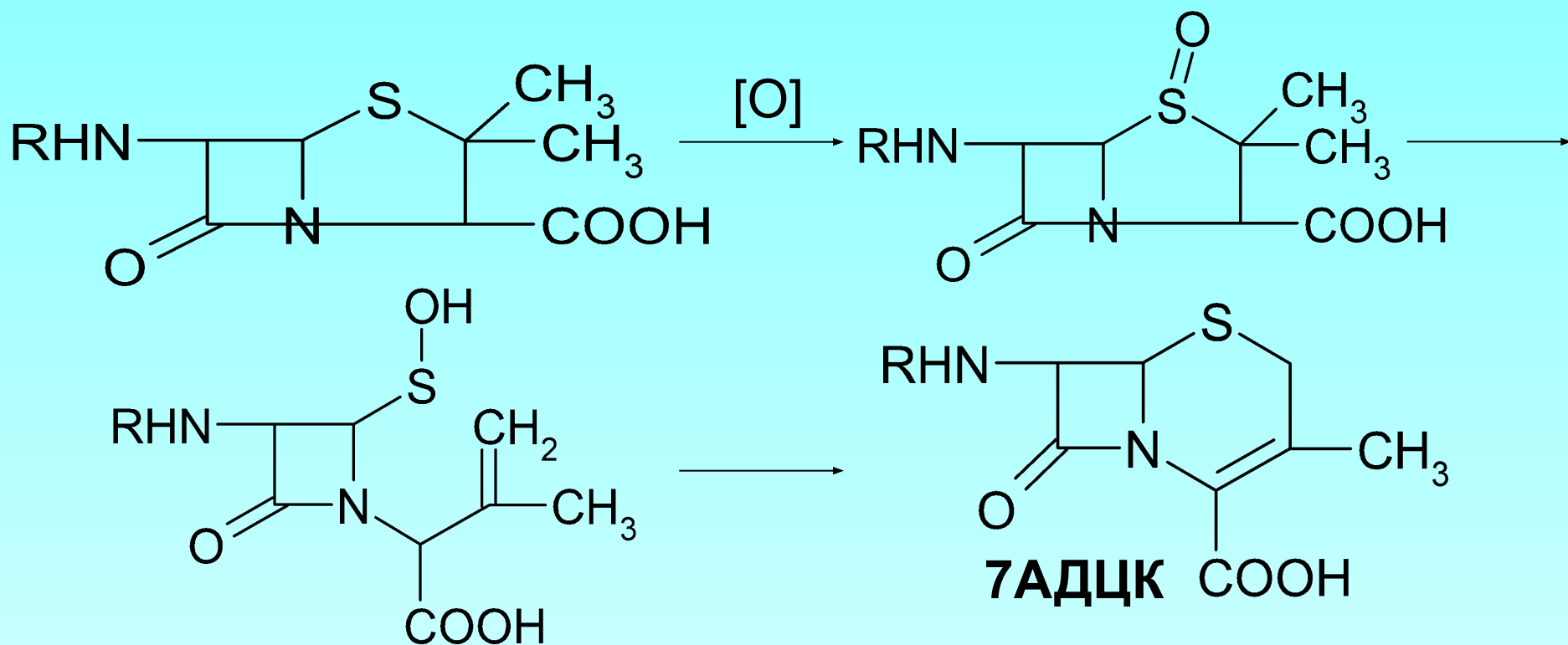
- Цефалоспорины являются производными 7-аминоцефалоспорановой кислоты и 7-аминодезацетоксицефалоспорановой кислоты.



Получение:

- природный цефалоспорин С – продукт жизнедеятельности плесневого гриба *Cephalosporium salmosynnematum*. Цефалоспорин С – токсичен и малоэффективен и является источником получения полусинтетических цефалоспоринов, а именно 7-аминоцефалоспоровановой кислоты.

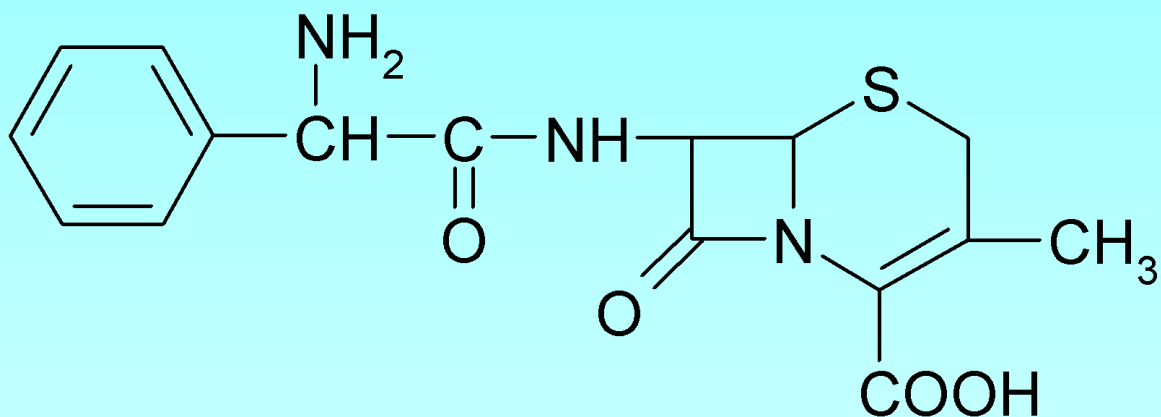
■ Из пенициллинов с помощью химической трансформации можно получить 7 – аминодезацетоксицефалоспоровую кислоту.



Цефалексин (кефлекс)

Cefalexinum

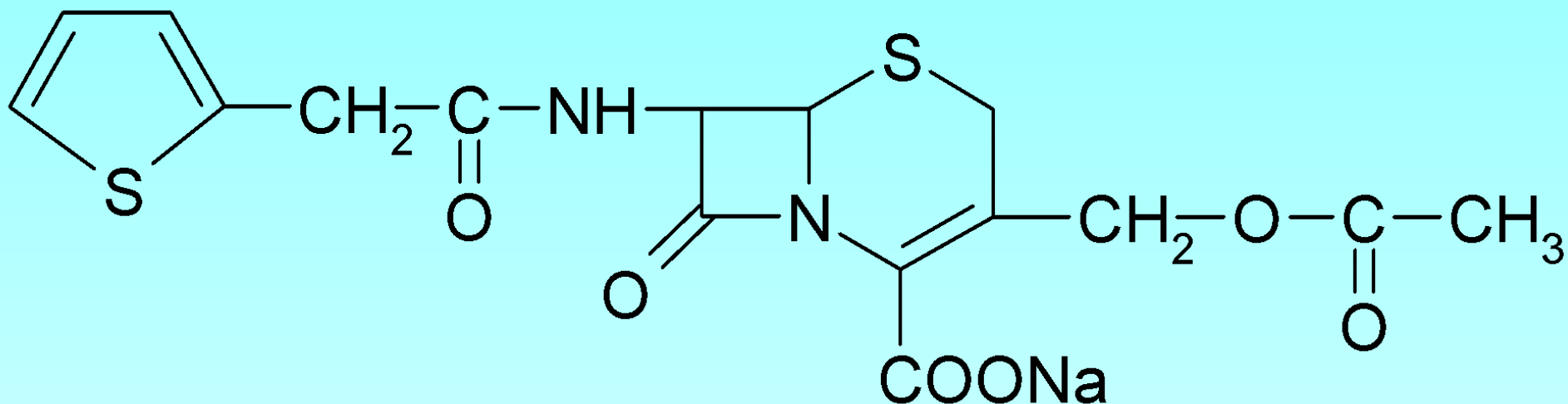
- 7(α-D-фенилглициламин) –3-метил-3-цефем-4 карбоновая кислота



Цефалотина натриевая соль

Cefalotinum natrium

- Натриевая соль –7-(тиенилацетамидо)цефалоспоровановой кислоты



- **Описание:** белые кристаллические порошки, практически не растворимы в хлороформе и эфире. Цефалотина натриевая соль – легко растворима в воде, мало растворим в этаноле. Цефалотин – трудно растворим в воде, практически не растворим в этаноле. Цефалексин – амфотерен ($-\text{NH}_2$, $-\text{COOH}$).



Идентификация

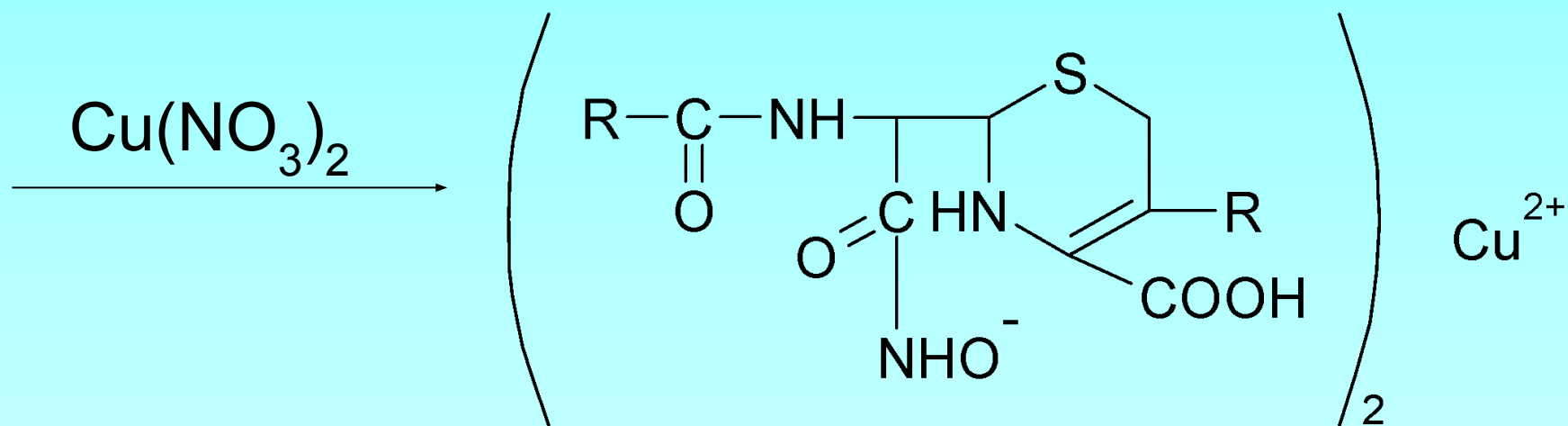
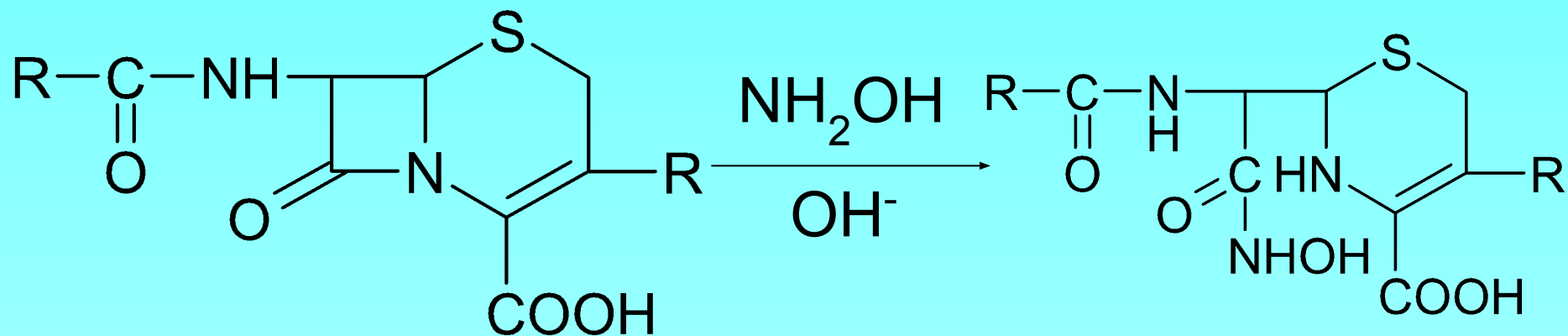
1.Спектрофотометрия в УФ и ИК областях.

$\lambda = 260 \text{ нм}$, $4000\text{-}400 \text{ см}^{-1}$, ЯМР.

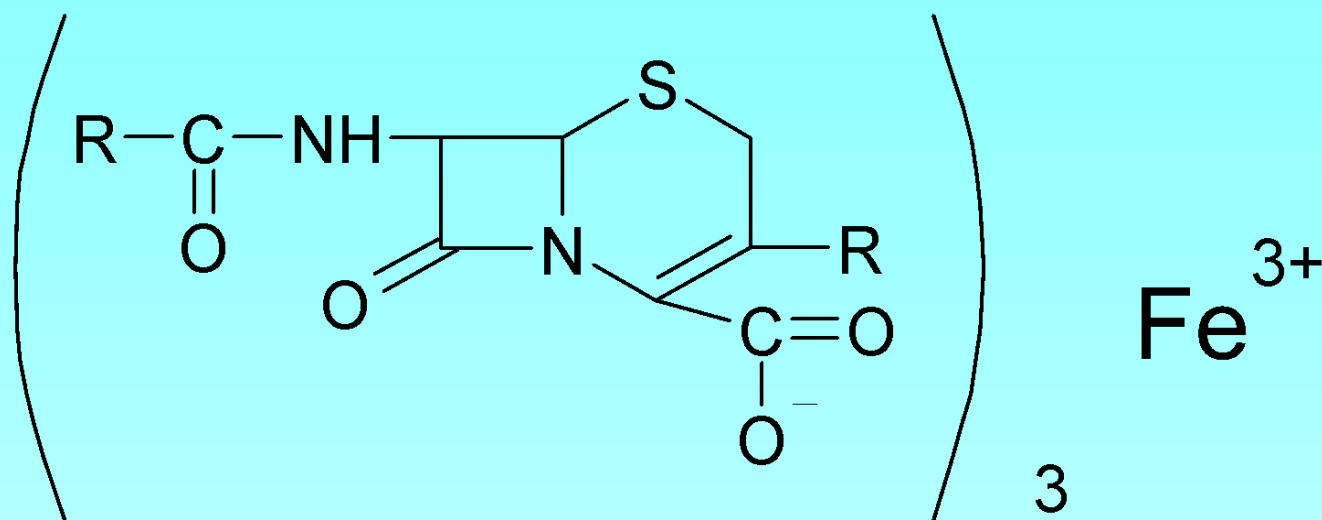
2.ТСХ.

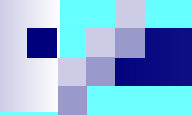
3.Удельное вращение.

4. Гидроксамовая проба



5. Реакция с солями тяжелых металлов



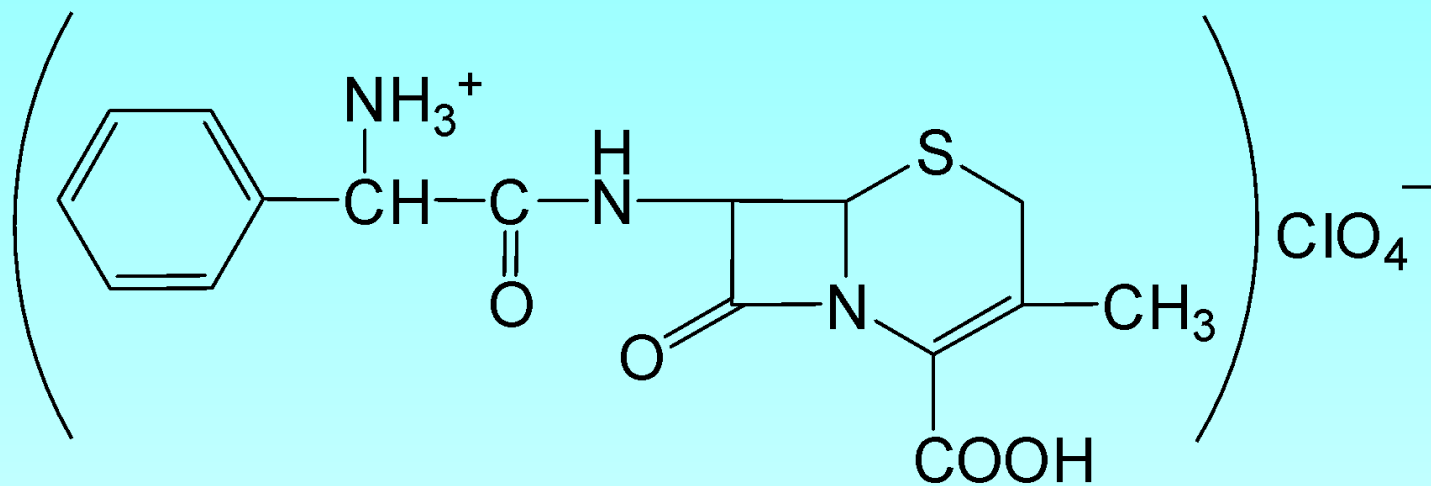
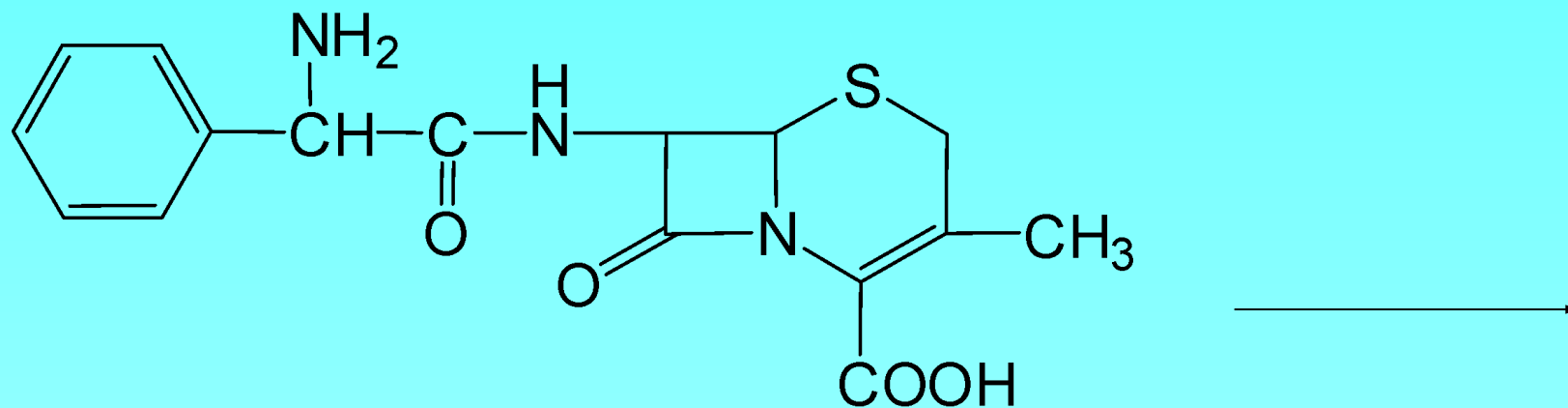
- 
6. Цефалексин - на аминокислоту:
нингидриновая проба и реакция
комплексобразования с ионами Cu^{2+} в
среде уксусной кислоты - после
прибавления гидроксида натрия образуется
оливково-зеленое окрашивание.
 7. С реактивом Марки.
 8. Со смесью 80% H_2SO_4 и 1% HNO_3 :
цефалексин – желтое окрашивание;
цефалотина натриевая соль – оливково-
зеленое окрашивание.
 9. Реакция на Na^+ .
 10. Реакция на органически связанную S.

Чистота:

- примеси – ВЭЖХ;
- наличие специфических примесей – ГЖХ.

Количественное определение:

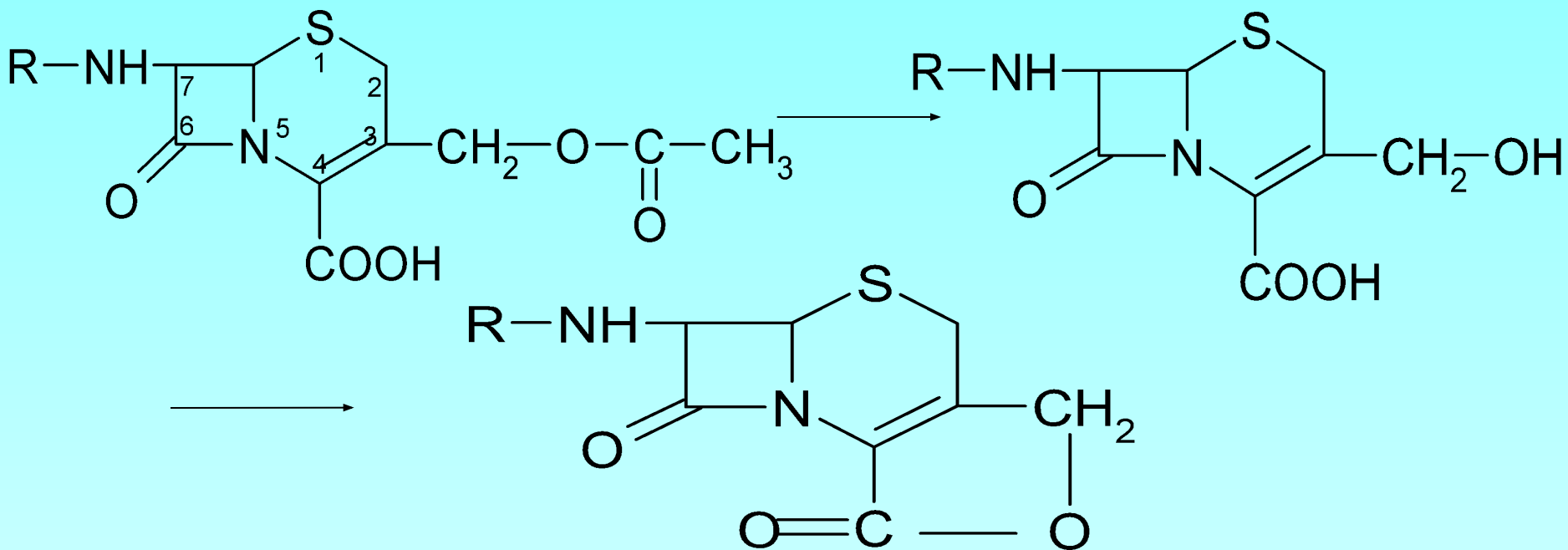
1. Обратная йодометрия: 1 эквивалент цефалоспорины требует 4 эквивалента J_2 .
2. Меркуриметрия.
3. Цефалоспорин – неводное титрование:
 - растворитель – смесь муравьиной и ледяной уксусной кислот и ацетона;
 - титрант – диоксановый раствор $HClO_4$;
 - точка эквивалентности регистрируется потенциометрически.
4. СФМ.
5. ВЭЖХ.



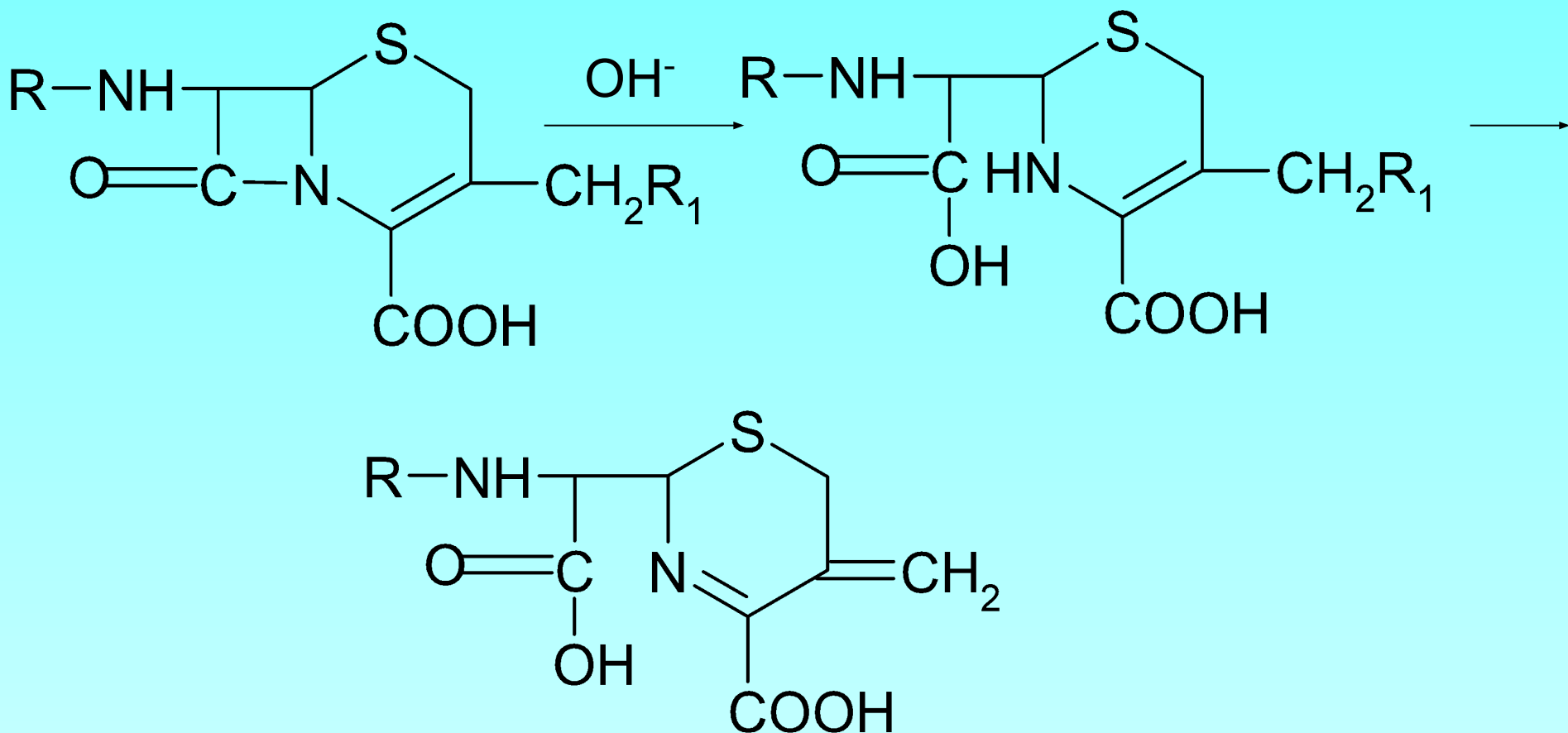
- 
- Хранение: в хорошо укупоренной таре.
 - Применение:
антибактериальные
(грамположительные и
грамотрицательные
микроорганизмы).

Стабильность:

- В сильноокислой среде – гидролиз 3 – ацетоксиметильной группы.



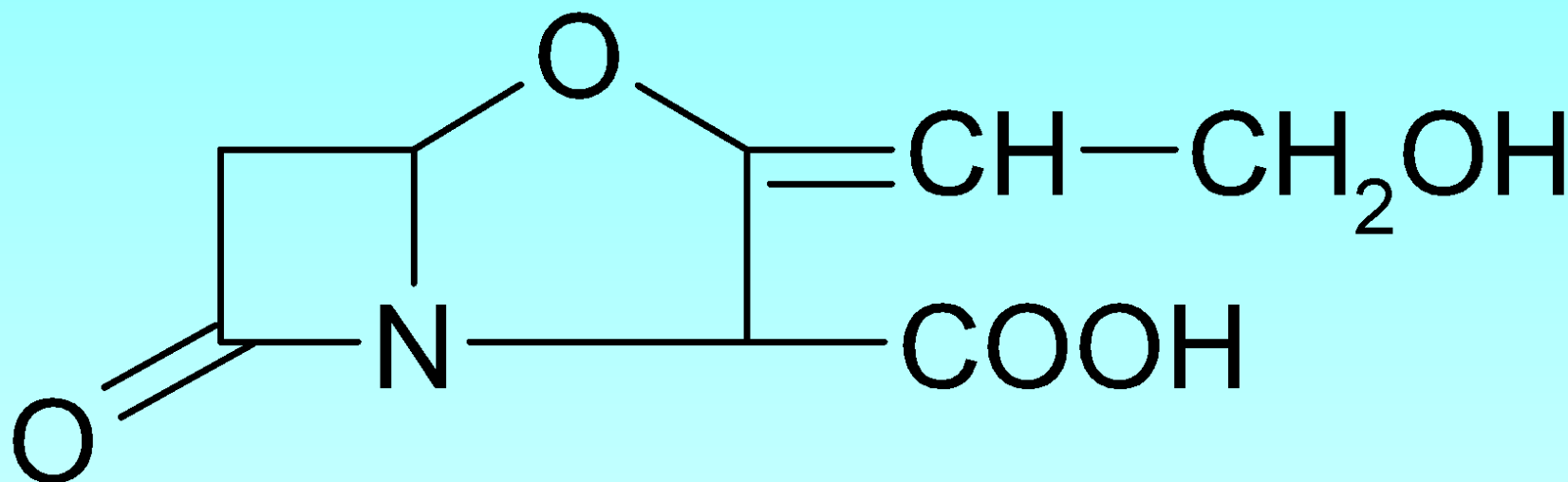
В щелочной среде или под действием β -лактамаз:



Ангидродезацетилцефалоспориновая кислота

Ингибиторы β - лактамаз.

- Пенициллины и цефалоспорины ингибируются β -лактамазами, для увеличения их активности используют ингибиторы β -лактамаз: клавулановую кислоту и сульбактам.

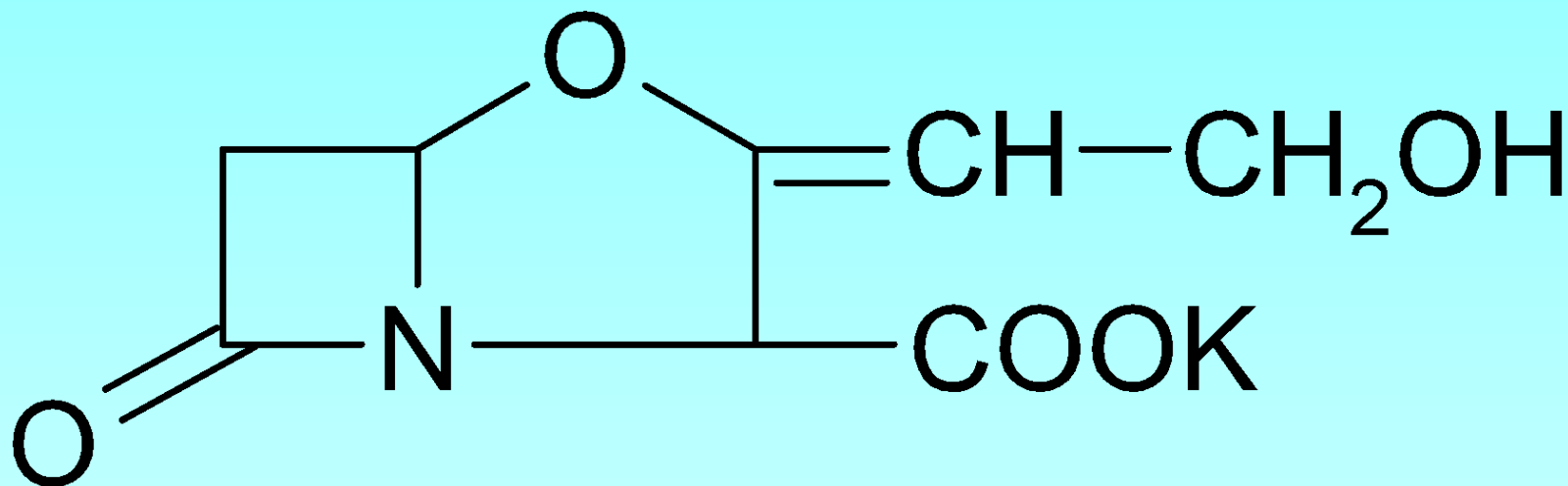


- 
- Выделяется определенными штаммами микроорганизмов, обладает слабой антибактериальной активностью, но эффективно угнетает β -лактамазы. В медицине часто применяется в комбинации с амоксициллином.

Калиевая соль

клавулановой кислоты.

- 3-(2-оксилиден)-7-оксо-4-окса-1-азобикло [3.2.0] гептан-2 карбоксилат калия



Описание:

- белый кристаллический порошок, гигроскопичен, легко растворим в воде, мало растворим в этаноле, очень мало растворим в ацетоне.

Идентификация:

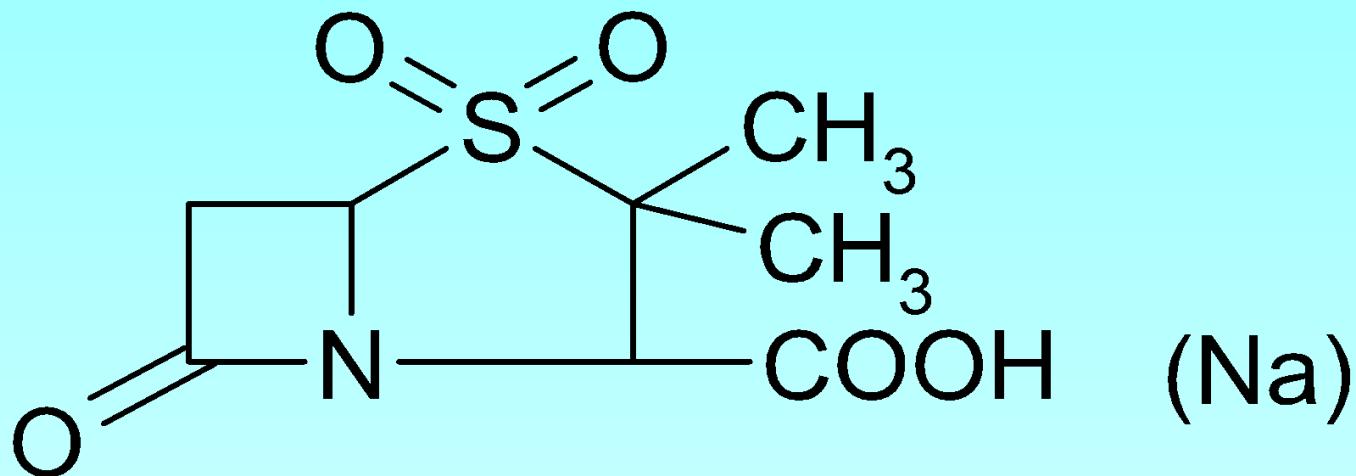
- ИК-спектроскопия;
- ВЭЖХ;
- реакция на K^+ .

- 
- **Испытание на чистоту и количественное определение** проводят методом ВЭЖХ.
 - **Стабильность:** водные растворы разлагаются при pH 6,0-6,3.
 - **Метаболизм:** до 60% препарата выводится с мочой в неизменном виде.

Сульбактам

Sulbactam

- Сульбактам – сульфон пенициллановой кислоты.
- 1,1-диоксидпенициллановой кислоты.



Описание:

- белый кристаллический порошок, хорошо растворим в воде, натриевая соль легко растворима в воде, кислотах, мало растворима в ацетоне и хлороформе.



Анализ аналогичен пенициллинам

Идентификация:

1. ТСХ
2. Обнаружение Na^+

Чистота:

ВЭЖХ, прозрачность, цветность



Количественное определение

1. Спектрофотометрия
2. ВЭЖХ

Хранение

в сухом, защищённом от света месте



Уназин Unasyn

- Уназин состоит из ампициллина натрия и сульбактама натрия (2:1).

Описание:

- белый кристаллический порошок, легко растворим в воде. Уназин необратимо ингибирует β -лактамазу и тем самым повышает устойчивость ампициллина.