



УДК 615.074:543.422.3

DOI <https://doi.org/10.11603/2312-0967.2019.4.10666>

ВИЗНАЧЕННЯ КЕТОПРОФЕНУ І ЦЕФТІОФУРУ У ВЕТЕРИНАРНИХ ПРЕПАРАТАХ СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧНИМ МЕТОДОМ

Г. Ю. Тесляр¹, М. Б. Смейко¹, М. Я. Смолінська¹, І. Я. Коцюмбас¹, В. С. Знак^{1,2},
В. П. Музика¹

Державний науково-дослідний контрольний інститут ветеринарних препаратів та кормових добавок¹

Акціонерне товариство «Галичфарм»²

boiko_maria@ukr.net

ІНФОРМАЦІЯ

Надійшла до редакції / Received:
01.11.2019

Після доопрацювання / Revised:
07.11.2019

Прийнято до друку / Accepted:
12.11.2019

Ключові слова:

спектрофотометрія;
розділення;
кетопрофен;
цефтіофур;
комбінований ветеринарний препарат.

АНОТАЦІЯ

Мета роботи. Розробка методики визначення кетопрофену та цефтіофур у комбінованих ветеринарних препаратах спектрофотометричним методом.
Матеріали і методи. Ветеринарні препарати «Процефен-100» і «Коцефен-200» (ТОВ «Ветсинтез», Харків, Україна). У роботі використовували стандартні зразки кетопрофену та цефтіофур і допоміжних речовин фармакопейної чистоти (Sigma-Aldrich). Спектрофотометричні (СФ) вимірювання проводили на скануючому спектрофотометрі CARY.WIN – UV-VIS-50 (Varian, США) у кварцових кюветках із товщиною поглинаючого шару $l = 1$ см.

Результати й обговорення. Одночасно неможливо визначити цефтіофур та кетопрофен у комбінованих лікарських препаратах прямим спектрофотометруванням. В електронних спектрах поглинання їхніх модельних сумішей спостерігається перекидання максимумів визначуваних речовин. Експериментально підібрані умови їхнього розділення для наступного спектрофотометричного визначення. Оптимальним розчинником виявився дихлорметан, у якому кетопрофен розчиняється, тоді як цефтіофур залишається нерозчинним. Для розчинення цефтіофур використовували етанол 96 %. Наявність допоміжних речовин не впливає на спектральні характеристики визначуваних речовин, що було показано при аналізі модельних сумішей препаратів із допоміжними речовинами та без них. Методика полягає у вилученні кетопрофену дихлорметаном і його прямому спектрофотометричному визначенні за довжини хвилі 254 нм, а також прямому спектрофотометричному визначенні цефтіофур, вилученого етанолом, за довжини хвилі $\lambda = 290$ нм.

Висновки. Встановлено умови розділення субстанцій кетопрофену та цефтіофур, на основі чого розроблено методику розділення та кількісного спектрофотометричного визначення у двох комбінованих ветеринарних препаратах із різним співвідношенням визначуваних речовин. Розраховано метрологічні характеристики методики, а отримані результати кількісного визначення кетопрофену і цефтіофур статистично не відрізняються від результатів отриманих за методикою ВЕРХ (за F- та t-критеріями).

Вступ. Ринок ветеринарних препаратів постійно оновлюється. Для розширення спектра дії розробляють різні комбінації субстанцій у препаратах. До складу досліджуваних засобів «Процефен-100» та «Коцефен-200» входять кетопрофен та цефтіофуру, як активні фармацевтичні інгредієнти. Кетопрофен – засіб, який застосовують, здебільшого, при лікуванні ревматоїдного артриту та остеоартриту [1]. Цефтіофуру – представник третьої генерації цефалоспоринових антибіотиків, характеризується широким спектром бактерицидної дії стосовно грампозитивних та грамнегативних бактерій, включно види, які продукують бета-лактамазу, а також окремих анаеробів [2].

Державна Фармакопея України, Європейська та Британська Фармакопеї, а також Фармакопея США прописують для визначення вмісту основної речовини в субстанції кетопрофену метод потенціометричного титрування натрій гідроксидом [3–6]. У періодичній літературі для визначення кетопрофену в однокомпонентних засобах пропонують метод УФ-спектрофотометрії [7]. Описані методики СФ визначення з використанням реагентів – *o*-хлоранілу [8], натрієвої солі ацетилсаліцилової кислоти [9]. Відомі методики екстракційно-фотометричного визначення кетопрофену в присутності інших біологічно активних речовин із карбоціаніновим барвником *N,N'*-диметил-індодикарбоціанін хлоридом [10]. Люмінесцентним методом визначають кетопрофен за світінням його комплексу з європієм [11]. Також відомо про застосування методу потенціометричного титрування з використанням модифікованих електродів [12], методу високоефективної рідинної (ВЕРХ) [13–15] та тонкошарової хроматографії [15].

Для визначення цефтіофуру пропонують методики УФ-спектрофотометричного визначення за власним поглинанням [16], СФ визначення за поглинанням кольорових продуктів цефтіофуру з реагентами – барвниками сафраніном та метиловим синім [17], *n*-бромосукцинімідом, *p*-диметиламіно-бензальдегідом [18]. Для визначення цефтіофуру пропонують використовувати метод квадратно-хвильової вольтамперометрії [19], а також ВЕРХ [20, 21].

Недоліком прямої СФ є те, що цей метод придатний для визначення тільки чистих субстанцій і часто виявляється непридатним для визначення діючих речовин у суміші з іншими біологічно активними речовинами. СФ метод з використанням аналітичних реагентів для кетопрофену найчастіше характеризується низькою селективністю, для підвищення якої використовують екстрагування кетопрофену і вже потім утворення аналітичної форми, однак цей спосіб значно ускладнює методику та знижує її експресивність. Метод потенціометричного титрування передбачає використання спеціальних електродів, яких немає у промисловому виробництві, внаслідок чого вони є недоступними для аналітичних лабораторій.

Недоліками люмінесцентного методу та методу ВЕРХ є висока вартість і тривалість аналізу.

У науковій періодичній літературі немає інформації про кількісне визначення кетопрофену та цефтіофуру при сумісній присутності. Тому метою дослідження була розробка спектрофотометричної методики визначення кетопрофену та цефтіофуру при сумісній присутності у комбінованих ветеринарних препаратах.

Матеріали і методи. Об'єкти дослідження: ветеринарні препарати «Процефен-100» і «Коцефен-200» (ТОВ «Ветсинтез», Харків, Україна), до складу яких входять діючі речовини кетопрофен та цефтіофуру у співвідношенні 1:1 і 3:1 відповідно, а також допоміжні речовини: лецитин, сорбітан моноолеат, хлорбутанолгідрат, бавовняна олія.

У роботі використовували стандартні зразки діючих речовин кетопрофену і цефтіофуру та допоміжних речовин фармакопейної чистоти виробництва фірми Sigma-Aldrich. Також було використано розчинники хлороформ (LAB-SCAN, HPLC), петролейний та діетиловий ефіри (LAB-SCAN, HPLC), етанол (96 %) та дихлорметан (LAB-SCAN, HPLC).

СФ-вимірювання проводили на скануючому спектрофотометрі CARY.WIN – UV-VIS-50 (Varian, США) у кварцових кюветах із товщиною поглинаючого шару $l = 1$ см.

У роботі використовували посуд лабораторний мірний клас А («Simax», Чехія), електронну вагу («Axis», Чехія), центрифугу («Sigma 3-16 KL» Німеччина), вихровий змішувач для рідких сумішей Vortex Mixer Barnstead Thermolyne Maxi Mix II.

Методика дослідження

Розчин стандартного зразка (РСЗ-К) кетопрофену готують так: розчиняють 25 мг (точна наважка) останнього у 40 мл дихлорметану в мірній колбі місткістю 50 мл, доводять до позначки тим самим розчинником і перемішують. 1,0 мл отриманого розчину доводять до позначки тим самим розчинником у мірній колбі місткістю 50 мл, перемішують. Одержаний розчин РСЗ містить 0,010 мг/мл СЗ кетопрофену. Розчин використовували свіжоприготовленим.

Розчин стандартного зразка (РСЗ-Ц) цефтіофуру готують так: розчиняючи 25 мг (точна наважка) останнього у 40 мл етанолу (96 %) у мірній колбі місткістю 50 мл, доводять до позначки тим самим розчинником і перемішують. 1,0 мл отриманого розчину доводять до позначки тим самим розчинником у мірній колбі місткістю 50 мл і перемішують. Одержаний розчин РСЗ містить 0,010 мг/мл СЗ цефтіофуру. Розчин використовували свіжоприготовленим.

Досліджувані ветеринарні препарати перед аналізом інтенсивно струшують для досягнення однорідності.

Розчин досліджуваного зразка (РДЗ) препарату «Процефен-100» готують так: вносять наважку препарату масою 1,0 г (точна наважка) у центрифуж-

ну пробірку місткістю 50 мл, додають 40 мл дихлорметану для вилучення кетопрофену. Струшують 5 хв та центрифугують 10 хв при 4700 грт. Супернатант переносять у мірну колбу місткістю 100 мл. Для кількісного вилучення кетопрофену процедуру повторюють ще раз і доводять об'єм у колбі до позначки дихлорметаном. 1,0 мл отриманого розчину доводять до позначки тим самим розчинником у мірній колбі місткістю 50 мл, перемішують (РДЗ-К1).

Осад, що залишився у центрифужній пробірці, розчиняють в етанолі (96 %), ретельно перемішуючи за допомогою вихрового змішувача, і кількісно, за допомогою етанолу (96 %), переносять у мірну колбу місткістю 100 мл, доводять етанолом (96 %) до позначки, перемішують. 1,0 мл отриманого розчину доводять до позначки тим самим розчинником у мірній колбі місткістю 50 мл, перемішують (РДЗ-Ц2).

Розчин досліджуваного зразка (РДЗ) препарату «Коцефен-100» готують так: вносять наважку препарату масою 1,0 г (точна наважка) в центрифужну пробірку місткістю 50 мл, додають 40 мл дихлорметану для вилучення кетопрофену. Струшують 5 хв та центрифугують 10 хв при 4700 грт. Супернатант переносять у мірну колбу місткістю 100 мл. Для кількісного вилучення кетопрофену процедуру повторюють ще раз і доводять об'єм в колбі до позначки тим же розчинником. 1,0 мл отриманого розчину доводять до позначки тим самим розчинником у мірній колбі місткістю 100 мл, перемішують (РДЗ-К2).

Осад, що залишився у центрифужній пробірці, розчиняють в етанолі (96 %), ретельно перемішуючи з допомогою вихрового змішувача. Кількісно переносять у мірну колбу місткістю 100 мл, доводять етанолом (96 %) до позначки. 1,0 мл отриманого розчину доводять до позначки тим самим розчинником у мірній колбі місткістю 50 мл та перемішують (РДЗ-Ц1).

Модельні суміші препаратів готували відповідно до їхнього якісного та кількісного складу згідно із докумен-

тацією виробника. Розчини модельних сумішей готували аналогічно, як і досліджувані зразки препаратів.

Виміряли інтенсивність поглинання розчинів РДЗ-К за довжини хвилі (254±2) нм для кетопрофену і (290±2) нм для РДЗ-Ц цефтіофуру відносно компенсаційних розчинів дихлорметану і етанолу (96 %) відповідно.

Вміст кетопрофену і цефтіофуру (X), у мг/мл, у препаратах розраховували за формулою:

$$X = \frac{C_{PC3} \cdot A_{РДЗ} \cdot P_{PC3} \cdot \rho \cdot n}{m_{РДЗ} \cdot A_{PC3}}$$

де, C_{PC3} – концентрація розчинів PC3 кетопрофену або цефтіофуру, мг/мл;

$A_{РДЗ}$ – значення оптичної густини РДЗ препаратів;

P_{PC3} – вміст основної речовини кетопрофену або цефтіофуру в СЗ згідно зі сертифікатом якості фірми-виробника, в частинах від одиниці;

ρ – густина препарату, г/мл;

n – розведення препарату;

$m_{РДЗ}$ – маса наважки препарату, взятого для аналізу, г;

A_{PC3} – значення оптичної густини PC3 кетопрофену або цефтіофуру.

Опрацювання результатів досліджень проводили керуючись рекомендаціями Державної Фармакопеї України (ДФУ 2) [22] і використовуючи математичні статистичні методи. Дослідження прецизійності та правильності проводили методом «введено-знайдено» на модельних розчинах. Вміст кетопрофену та цефтіофуру у готових лікарських формах визначали методом стандарту.

Результати й обговорення. Експериментальними дослідженнями встановлено, що одночасно визначити цефтіофуру та кетопрофен у препаратах неможливо, оскільки в електронних спектрах поглинання (рис. 1) препаратів «Процефен 100» та «Коцефен

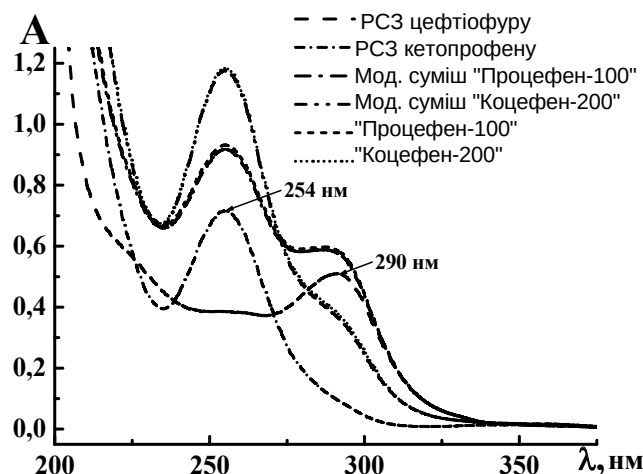


Рис. 1. Електронні спектри поглинання PC3 кетопрофену, PC3 цефтіофуру, модельних сумішей та препаратів «Процефен-100» та «Коцефен-2000» в етанолі (96 %).

200» та їхніх модельних сумішей, розведених етанолом у 5000 та 10000 разів відповідно (співвідношення діючих речовин кетопрофен:цефтіофур – 1:1 та 3:1), спостерігається взаємне перекривання максимумів поглинання. Для спектра кетопрофену характерний максимум поглинання при $\lambda=254$ нм, тоді як у спектрі цефтіофуру характерне широке плече світлопоглинання в межах від 220 нм до 320 нм з максимумом при $\lambda=290$ нм.

Проведено дослідження щодо можливості їхнього розділення і відокремлення. Оскільки до складу препаратів входять олійні компоненти, то для розділення використовували органічні розчинники (етанол, петролейний ефір, діетиловий ефір, хлороформ, дихлорметан). Було встановлено, що хлороформ і діетиловий ефір поглинають випромінювання з довжиною хвилі нижче 250 нм, тому їхнє власне поглинання перекриватиметься із максимумом поглинання

кетопрофену. В етанолі розчиняється кетопрофен і цефтіофур, а в петролейному ефірі не розчиняється жоден з них. Оптимальним розчинником для розділення визначуваних компонентів є дихлорметан, в якому розчиняється кетопрофен, а цефтіофур випадає в осад. Для розчинення цефтіофуру використовували етанол (96 %). Наявність допоміжних речовин не впливає на спектральні характеристики цих визначуваних речовин, що було доведено при аналізі модельних сумішей препаратів з допоміжними речовинами та без них.

На рисунку 2 наведено електронні спектри поглинання розчинів РСЗ кетопрофену та розчинів РДЗ препаратів, отриманих вилученням кетопрофену дихлорметаном, а на рисунку 3 розчинів РСЗ цефтіофуру та РДЗ препаратів розчинених етанолом.

Визначено межі концентрації, в яких поглинання кетопрофену та цефтіофуру підпорядковується

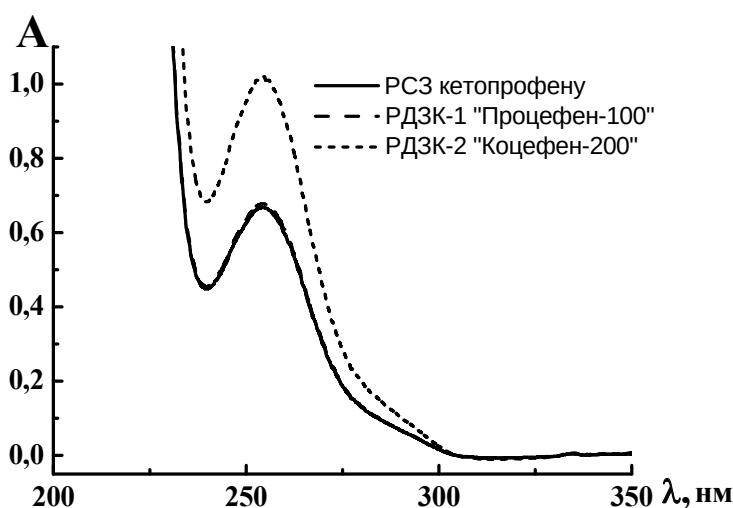


Рис. 2. Електронні спектри поглинання РСЗ кетопрофену, РДЗ-К1 препарату «Процефен 100», РДЗ-К2 препарату «Коцефен 200».

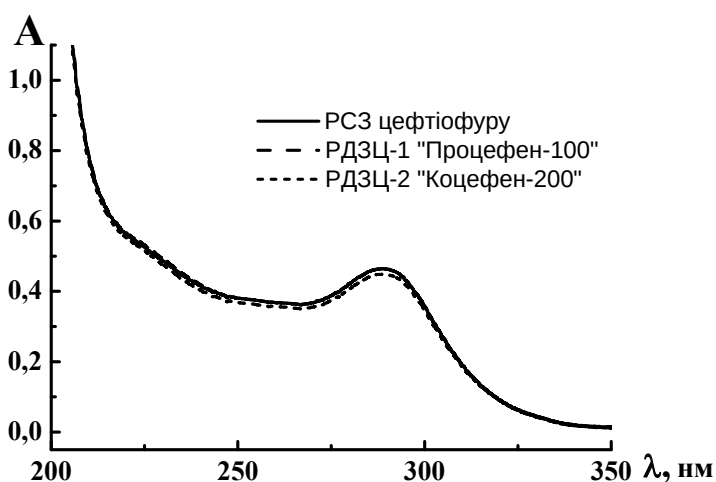


Рис. 3. Електронні спектри поглинання РСЗ цефтіофуру, РДЗ-Ц1 препарату «Процефен 100», РДЗ-Ц2 препарату «Коцефен 200».

ся закону Бугера–Ламберта–Бера. У таблиці 1 представлено метрологічні характеристики розробленої методики, розраховані згідно із [23, 24]. За даними таблиці 1, методика характеризується широким лінійним діапазоном визначення обох сполук та високою, як для спектрофотометрії, чутливістю.

Правильність і відтворюваність розробленої методики перевіряли на розчинах модельних сумішей методом «введено-знайдено». Результати, наведені в

таблиці 2, свідчать, що методика характеризується високою відтворюваністю, похибка визначення кетопрофену та цефтіофуру не перевищує похибки спектрофотометричного методу. Тому розроблені методики можуть бути використані для аналізу вибраних об'єктів.

Проведені дослідження дозволили встановити умови визначення кетопрофену та цефтіофуру і розробити методики їхнього визначення у двох ветеринарних препаратах.

Таблиця 1

Метрологічні характеристики методики спектрофотометричного визначення кетопрофену та цефтіофуру

Діюча речовина	Діапазон лінійності, мкг/мл	Рівняння графіка, С, мкг/мл	$C_{\text{мін}}^1$, (мкг/мл)	$C_{\text{н}}^2$, (мкг/мл)	R
Кетопрофен	0,5 – 14	$A=0,005+0,074 \cdot C$	0,03	0,09	0,9997
Цефтіофур	0,5 – 15	$A=0,004+0,069 \cdot C$	0,05	0,15	0,9994

Примітка: ¹ – межа виявлення, ² – межа визначення.

Таблиця 2

Результати кількісного визначення кетопрофену та цефтіофуру в модельних сумішах препаратів

	Модельна суміш «Процефен-100»		Модельна суміш «Коцефен-200»	
	Кетопрофен	Цефтіофур	Кетопрофен	Цефтіофур
Введено, мг/мл	50,05	50,30	150,25	50,15
Знайдено, мг/мл	49,32	49,47	148,36	49,67
	51,11	49,10	150,19	49,02
	49,85	50,77	149,04	48,94
	49,04	49,86	151,16	50,35
	50,47	51,43	148,91	49,79
Метрологічні характеристики	$\bar{x} = 49,96$	$\bar{x} = 50,13$	$\bar{x} = 149,53$	$\bar{x} = 49,55$
	$S^2 = 0,7127$	$S^2 = 0,9173$	$S^2 = 1,2715$	$S^2 = 0,3413$
	$S_{\bar{x}} = 0,3775$	$S_{\bar{x}} = 0,4283$	$S_{\bar{x}} = 0,5043$	$S_{\bar{x}} = 0,2613$
	$\Delta\bar{x} = 1,05$	$\Delta\bar{x} = 1,19$	$\Delta\bar{x} = 1,40$	$\Delta\bar{x} = 0,73$
	$RSD = 1,69\%$	$RSD = 1,91\%$	$RSD = 0,75\%$	$RSD = 1,18\%$
	$\varepsilon = 2,10\%$	$\varepsilon = 2,37\%$	$\varepsilon = 0,94\%$	$\varepsilon = 1,47\%$
	$\delta = -0,18\%$	$\delta = -0,34\%$	$\delta = -0,48\%$	$\delta = -1,20\%$

У таблиці 3 наведено результати кількісного визначення вмісту кетопрофену та цефтіофуру у досліджуваних препаратах спектрофотометричним методом, згідно із розробленою методикою, і методом ВЕРХ [25] як методом порівняння, та проведено статистичне порівняння отриманих результатів.

Результати кількісного визначення кетопрофену і цефтіофуру, отримані згідно із розробленою спектрофотометричною методикою, статистично не відрізняються від результатів, отриманих із застосуванням ВЕРХ-методики, за F- та t-критеріями.

Таблиця 3

Результати кількісного визначення кетопрофену та цефтіюфуру в препаратах «Процефен-100» та «Коцефен-200»

Методика	«Процефен-100»		«Коцефен-200»	
	Кетопрофен	Цефтіюфур	Кетопрофен	Цефтіюфур
Вміст встановлений методом ВЕРХ, мг/мл	51,46	49,56	151,46	49,52
	50,83	51,04	151,01	49,87
	50,51	50,16	150,31	51,06
	50,38	49,83	149,23	51,56
	51,85	51,24	149,15	50,67
Метрологічні характеристики ВЕРХ визначення	\bar{x} =51,00	\bar{x} =50,37	\bar{x} =150,23	\bar{x} =50,54
	S^2 =0,3968	S^2 =0,5494	S^2 =1,0735	S^2 =0,7042
	$S_{\bar{x}}$ =0,2817	$S_{\bar{x}}$ =0,3315	$S_{\bar{x}}$ =0,4634	$S_{\bar{x}}$ =0,3753
	$\Delta\bar{x}$ =0,78	$\Delta\bar{x}$ =0,92	$\Delta\bar{x}$ =1,29	$\Delta\bar{x}$ =1,04
	RSD =1,24%	RSD =1,47%	RSD =0,69%	RSD =1,66%
	ε =1,53%	ε =1,83%	ε =0,86%	\bar{x} =2,06%
Вміст встановлений методом СФ, мг/мл	51,21	50,86	148,47	51,77
	51,11	50,27	151,49	51,72
	50,95	49,35	149,76	50,24
	52,18	51,36	148,53	49,95
	51,06	51,24	151,12	51,09
Метрологічні характеристики СФ визначення	\bar{x} =51,30	\bar{x} =50,62	\bar{x} =149,87	\bar{x} =50,95
	S^2 =0,2496	S^2 =0,6813	S^2 =1,9887	S^2 =0,6973
	$S_{\bar{x}}$ =0,2234	$S_{\bar{x}}$ =0,3691	$S_{\bar{x}}$ =0,6307	$S_{\bar{x}}$ =0,3734
	$\Delta\bar{x}$ =0,62	$\Delta\bar{x}$ =1,03	$\Delta\bar{x}$ =1,75	$\Delta\bar{x}$ =1,04
	RSD =0,97%	RSD =1,63%	RSD =0,94%	RSD =1,64%
	ε =1,21%	ε =2,02%	ε =1,17%	ε =2,04%
F-критерій (6,39) [23, 24]	1,59	1,24	1,85	1,01
t-критерій (3,36) [23, 24]	0,78	0,28	0,47	0,09

Висновки. 1. На основі проведених досліджень розроблено просту, експресну, доступну, чутливу методику кількісного визначення кетопрофену та цефтіюфуру при сумісній присутності.

2. Експериментально підібрано розчинники для розділення та визначення діючих речовин методом прямої СФ.

3. Розроблена методика характеризується належними метрологічними характеристиками. Похибка визначення кетопрофену та цефтіюфуру в препараті не перевищує 2,5 %.

Конфлікт інтересів: відсутній.

Conflicts of interest: authors have no conflict of interest to declare.

DETERMINATION OF KETOPROFEN AND CEFTIOFUR IN COMBINED VETERINARY DRUGS BY SPECTROPHOTOMETRIC METHOD**H. Yu. Teslyar¹, M. B. Smeyko¹, M. Ya. Smolinska¹, I. Ya. Kotsyumbas¹, V. S. Znak^{1,2}, V. P. Muzyka¹***State Scientific Research Control Institute of Veterinary Medicinal Products and Feed Additives¹**Joint Stock Company "Halychpharm"²**boiko_maria@ukr.net*

The aim of the work. Development of a method for determination of ketoprofen and ceftiofur in combined veterinary drugs by spectrophotometric method.

Materials and Methods. Veterinary drugs "Procefен-100" and "Kotsefen-200" (LLC "VetsynteZ", Kharkiv, Ukraine). The standard samples of ketoprofen, ceftiofur and excipients of the pharmacopoeial purity (Sigma-Aldrich) were used. Spectrophotometric (SF) measurements were performed on a CARY.WIN – UV-VIS-50 (Varian, USA) in quartz cells with 10 mm path length.

Results and Discussion. Simultaneously, it is impossible to determine the ceftiofur and ketoprofen in combination drugs by direct spectrophotometry. In the absorption spectra of their model mixtures, there is an overlap of the maxima of detectable substances. The conditions of their separation for the next determination by direct spectrophotometry were experimentally selected by us. The optimal solvent was dichloromethane, in which the ketoprofen dissolves, while ceftiofur remains insoluble. 96 % ethanol was used to dissolve ceftiofur.

The presence of excipients does not affect on the spectral characteristics of detected substances, which was demonstrated in the analysis of model mixtures of remedies with and without excipients. The technique consists in the extraction of ketoprofen by dichloromethane and its direct spectrophotometric determination at 254 nm wavelength, as well as a direct spectrophotometric determination at 290 nm wavelength of ceftiofur extracted by ethanol.

Conclusions. The conditions of the ketoprofen and ceftiofur separation have been found. On the basis of which the method of separation and their quantitative spectrophotometric determination in two combined veterinary drugs with different ratio of the defined substances was developed. The metrological characteristics of the method were determined, and the results of quantitative determination of ketoprofen and ceftiofur were not statistically different from the results obtained by HPLC (by F- and t-criteria).

Key words: spectrophotometry; separation; ketoprofen; ceftiofur; combined veterinary drug.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ КЕТОПРОФЕНА И ЦЕФТИОФУРА В ВЕТЕРИНАРНЫХ ПРЕПАРАТАХ СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКИМ МЕТОДОМ**Г. Е. Тесляр¹, М. Б. Смейко¹, М. Я. Смолинска¹, И. Я. Коцюмбас¹, В. С. Знак^{1,2}, В. П. Музыка¹***Государственный научно-исследовательский контрольный институт ветеринарных препаратов и кормовых добавок¹**Акционерное общество «Галичфарм»²**boiko_maria@ukr.net*

Цель работы. Разработка методики определения кетопрофена и цефтиофура в комбинированных ветеринарных препаратах спектрофотометрическим методом.

Материалы и методы. Ветеринарные препараты «Процефен-100» и «Коцефен-200» (ООО «Ветсинтез», Харьков, Украина). В работе использовали стандартные образцы кетопрофена и цефтиофура и вспомогательных веществ фармакопейной чистоты (Sigma-Aldrich). Спектрофотометрические (СФ) измерения проводили на сканирующем спектрофотометре CARY.WIN – UV-VIS-50 (Varian, США) в кварцевых кюветах с толщиной поглощающего слоя $l = 1$ см.

Результаты и обсуждение. Одновременно невозможно определить цефтиофура и кетопрофен в комбинированных лекарственных препаратах прямым спектрофотометрированием. На электронных спектрах поглощения их модельных смесей наблюдается перекрытие максимумов определяемых веществ. Экспериментально подобраны условия их разделения и дальнейшего определения прямым спектрофотометрированием. Оптимальным растворителем выбран дихлорметан, в котором кетопрофен растворяется, в то время, как цефтиофура остается нерастворимым. Для растворения цефтиофура использовали этанол 96 %. Наличие вспомогательных веществ не влияет на спектральные характеристики определяемых веществ, что было показано при анализе модельных смесей препаратов со вспомогательными веществами и без них. Методика заключается в извлечении кетопрофена дихлорметаном и его прямом спектрофотометрическом определении при длине волны 254 нм, а также прямом спектрофотометрическом определении цефтиофура, извлеченного этанолом, при длине волны 290 нм.

Выводы. Определены условия разделения субстанций кетопрофена и цефтиофура, на основе чего разработана методика их разделения и количественного спектрофотометрического определения в двух комбинированных ветеринарных препаратах с различным соотношением этих действующих веществ. Рассчитаны метрологические характеристики методики, а полученные результаты количественного определения кетопрофена и цефтиофура статистически не отличаются от результатов, полученных с помощью методики высокоэффективной жидкостной хроматографии (по F- и t-критериям).

Ключевые слова: спектрофотометрия; разделение; кетопрофен; цефтиофур; комбинированный ветеринарный препарат.

Список літератури

1. Фармакология / под ред. Р. Н. Аляутдина. – 3-е изд., испр. – М. : ГЭОТАР-Медиа. – 2005. – 592 с.
2. Ceftiofur sodium, a broad-spectrum cephalosporin: evaluation *in vitro* and *in vivo* in mice / R. J. Yancey, M. L. Kinney, B. J. Roberts[et al.] // *Am. J. Vet. Res.* – 1987. – Vol. 48. – No. 7. – P. 1050–1053.
3. Державна Фармакопея України: в 3 т. / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». – 2-е вид. – Харків : Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2014. – Т. 2. – С. 354.
4. European Pharmacopoeia (Eur. Ph.). 8-th Ed. Strasbourg: Council of Europe, 2016.
5. The British Pharmacopoeia (BP), Intern. Ed. London: H.M. Stationary Office, 2013.
6. United States Pharmacopoeia, USP 40-NF35 Convention Inc., Rockville, : The United States Pharmacopoeial Convention, 2016.
7. Pandey Sh. A novel spectroscopic method for the estimation of ketoprofen in tablet dosage form using hydrotropic solubilization phenomenon / Sh. Pandey, R. K. Maheshwari // *World Applied Sciences Journal.* – 2010. – Vol. 11. – No. 12. – P. 1524–1527.
8. Kormosh Z. Spectrophotometric determination of ketoprofen and its application in pharmaceutical analysis / Z. Kormosh, I. Hunka, Y. Basel. // *Acta Poloniae Pharmaceutica* – 2009. – Vol. 66. – No. 1. – P. 3–9.
9. Maheshwari R. K. Quantitative determination of ketoprofen bulk drug using sodium salt of aspirin as hydrotropic solubilizing agent / R. K. Maheshwari, M. Singh // *Asian Journal of Chemistry.* – 2008. – Vol. 20. – No. 6. – P. 4922–4924.
10. Пат. u200802824, МПК⁵¹ G 01 N 33/15. Спосіб екстракційно-фотометричного визначення кетопрофену / Кормош Ж. О., Гунька І. П.; заявник та патентовласник Волинський державний університет імені Лесі Українки. – № 34776 ; заявл. 04.03.08 ; опубл. 26.08.08, Бюл. № 16.
11. Kaczmarek M. Chemiluminescence determination of ibuprofen and ketoprofen using the Fenton system in the presence of europium(III) ions / M. Kaczmarek, S. Lis // *Analytical Methods* – 2012. – Vol. 4, No. 7. – P. 1964–1967.
12. Potentiometric determination of ketoprofen and piroxicam at a new PVC electrode based on ion associates of rhodamine 6G / Z. Kormosh, I. Hunka, Y. Basel, O. Matviychuk // *Materials Science and Engineering.* – 2010. – Vol. 30, No. 7. – P. 997–1002.
13. Simultaneous determination of thiocolchicoside and ketoprofen in bulk and pharmaceutical formulations by validated stability indicating RP-HPLC method / M. V. Satyanarayana, T. N. V. S. S. Satyadev, M. NageswaraRao, V. Anuradha // *American Journal of PharmTech Research* – 2014. – Vol. 4, No. 3. – P. 181–192.
14. Simultaneous determination of hyoscyne, ketoprofen and ibuprofen in pharmaceutical formulations by HPLC-DAD / R. A. Shaalan, R. S. Haggag, S. F. Belal, M. Agami // *Journal of Applied Pharmaceutical Science* – 2013. – Vol. 3, No. 07. – P. 38–47.
15. Mohammad A. Identification of ketoprofen in drug formulation and spiked urine samples by micellar thin layer chromatography and its quantitative estimation by high performance liquid chromatography / A. Mohammad, S. Sharma, S. Bhawani // *International Journal of PharmTech Research.* – 2010. – Vol. 2, No. 1. – P. 89–96.
16. Development of an ultraviolet spectrophotometric method for the determination of ceftiofur sodium powder / M. J. Souza, N. A. Canedo, P. S. Souza Filho, A. M. Bergold // *Journal of AOAC International.* – 2009. – Vol. 92, No. 6. – P. 1673–1680.
17. Spectrophotometric determination of ceftiofur in pharmaceutical formulations by FGFCF, SFNO and MB / M. Kishore, K. Surendrababu, Ch. S. R. G. Kalyani, M. Janardhan // *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research.* – 2010. – Vol. 2, No. 9. – P. 534–538.
18. Annapurna V. Spectrophotometric determination of ceftiofur hydrochloride using N-bromosuccinimide and p-dimethylaminobenzaldehyde / V. Annapurna, G. Jyothi, C. Rambabu, B. B. V. Sailaja // *E-Journal of Chemistry.* – 2009. – Vol. 6, No. 3. – P. 763–769.
19. A simple method for electroanalytical determination of ceftiofur in UHT milk samples using square-wave voltammetry technique / A. M. J. Barbosa, T. A. de Araújo, M. A. G. Trindade, V. S. Ferreira // *Journal of Applied Electrochemistry.* – 2011. – Vol. 41, No. 2. – P. 249–255.
20. Development and validation of an HPLC method for determination of ceftiofur sodium / M. J.e. Souza, D. R. Nogueira, L. M. Silva [et al.] // *Chromatographia.* – 2007. – Vol. 65, No. 7–8. – P. 401–406.
21. Jacobson G. A. Determination of ceftiofur in bovine plasma by HPLC-DAD / G. A. Jacobson, S. Martinod, C. P. Cunningham // *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis.* – 2006. – Vol. 40, No. 5. –

- Р. 1249–1252.
22. Державна Фармакопея України: в 3 т. / Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». – 2-е вид. – Харків : Державне підприємство «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2015. – Т. 1. – С. 910–929.
23. Дворкин В. И. Метрология и обеспечение качества количественного химического анализа / В. И. Дворкин. – М. : Химия, 2001. – 263 с.
24. Гармаш А. В. Метрологические основы аналитической химии / А. В. Гармаш, Н. М. Сорокина. – М. : Изд-во МГУ, 2005. – 42 с.
25. Визначення кетопрофену та цефтіофуру у комбінованих ветеринарних препаратах методом високоефективної рідинної хроматографії / М. Я. Смолінська, М. Б. Смейко, О. В. Коробова, Н. В. Остапів, Г. Ю. Тесляр, Л. І. Котяш, Н. Г. Басараб // Зб. наукових праць П'ятнадцятої наукової конференції «Львівські хімічні читання–2015». – Львів, 24 – 27 травня, 2015.

References

1. Alyautdin PH. Pharmacology. [Фармакологія]. Moscow: GOETAR-Media; 2005. Russian
2. Yancey RJ, Kinney ML, Roberts BJ, Goodenough KR, Hamel JC, Ford CW. Ceftiofur sodium, a broad-spectrum cephalosporin: evaluation *in vitro* and *in vivo* in mice. *Am J Vet Res.* 1987;48(7): 1050-3.
3. State Pharmacopoeia of Ukraine [Державна Фармакопея України]. 2nd ed., Vol. 2. Kharkiv: Ukrainian Scientific Pharmacopoeial Center for Quality of Medicines; 2015. Ukrainian.
4. European Pharmacopoeia (Eur. Ph.). 8-th Ed. Strasbourg: Council of Europe, 2016.
5. The British Pharmacopoeia (BP), Intern. Ed. London: H.M. Stationary Office, 2013.
6. United States Pharmacopoeia, USP 40-NF35 Convention Inc., Rockville: The United States Pharmacopoeial Convention; 2016.
7. Pandey Sh, Maheshwari RK. A novel spectroscopic method for the estimation of ketoprofen in tablet dosage form using hydrotropic solubilization phenomenon. *World Applied Sciences Journal.* 2010;11(12): 1524-7.
8. Kormosh Z, Hunka I, Basel Y. Spectrophotometric determination of ketoprofen and its application in pharmaceutical analysis. *Acta Poloniae Pharmaceutica.* 2009;66(1): 3-9.
9. Maheshwari RK, Singh M. Quantitative determination of ketoprofen bulk drug using sodium salt of aspirin as hydrotropic solubilizing agent. *Asian Journal of Chemistry.* 2008;20(6): 4922-4.
10. Kormosh ZhO, Hunka IP, inventors; Lesia Ukrainka Volyn State University, assignee. Спосіб екстракційно-фотометричного визначення кетопрофену [Method of extraction-photometric determination of ketoprofen] u200802824. 2008 aug 08.
11. Kaczmarek M, Lis S. Chemiluminescence determination of ibuprofen and ketoprofen using the Fenton system in the presence of europium (III) ions *Analytical Methods.* 2012;4(7): 1964-7.
12. Kormosh Z, Hunka I, Basel Y, Matviychuk O. Potentiometric determination of ketoprofen and piroxicam at a new PVC electrode based on ion associates of rhodamine 6G. *Materials Science and Engineering.* 2010;30(7): 997-1002.
13. Satyanarayana MV, Satyadev TNVSS, Nageswara Rao M, Anuradha V. Simultaneous determination of thicolchicoside and ketoprofen in bulk and pharmaceutical formulations by validated stability indicating RP-HPLC method. *American Journal of PharmTech Research.* 2014;4(3): 181-92.
14. Shaalan RA, Haggag RS, Belal SF, Agami M. Simultaneous determination of hyoscine, ketoprofen and ibuprofen in pharmaceutical formulations by HPLC-DAD. *Journal of Applied Pharmaceutical Science.* 2013;3(7): 38-47.
15. Mohammad A, Sharma S, Bhawani S. Identification of ketoprofen in drug formulation and spiked urine samples by micellar thin layer chromatography and its quantitative estimation by high performance liquid chromatography. *International Journal of PharmTech Research.* 2010;2(1): 89-96.
16. Souza MJ, Canedo NA, Souza Filho PS, Bergold AM. Development of an ultraviolet spectrophotometric method for the determination of ceftiofur sodium powder. *Journal of AOAC International.* 2009;92(6): 1673-80.
17. Kishore M, Surendrababu K, Kalyani ChSRG, Janardhan M. Spectrophotometric determination of ceftiofur in pharmaceutical formulations by FGFCF, SFNO and MB. *Journal of Pharmaceutical Sciences and Research.* 2010;2(9): 534-8.
18. Annapurna V, Jyothi G, Rambabu C, Sailaja BBV. Spectrophotometric determination of ceftiofur hydrochloride using N-bromosuccinimide and p-dimethylaminobenzaldehyde. *E-Journal of Chemistry.* 2009;6(3): 763-9.
19. Barbosa AMJ, De Araújo TA, Trindade MAG, Ferreira VS. A simple method for electroanalytical determination of ceftiofur in UHT milk samples using square-wave voltammetry technique. *Journal of Applied Electrochemistry.* 2011;41(2): 249-55.
20. Souza MJe, Nogueira DR, Silva LM, Arend MZ, Souza Filho PS, Bergold AM. Development and validation of an HPLC method for determination of ceftiofur sodium. *Chromatographia.* 2007;65(7-8): 401-6.
21. Jacobson GA, Martinod S, Cunningham CP. Determination of ceftiofur in bovine plasma by HPLC-DAD. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis.* 2006;40(5): 1249-52.
22. State Pharmacopoeia of Ukraine [Державна Фармакопея України]. 2nd ed., Vol. 1. Kharkiv: Ukrainian Scientific Pharmacopoeial Center for Quality of Medicines; 2015. Ukrainian.
23. Dvorkin VI. Metrology and quality assurance of quantitative chemical analysis. [Metrology and quality assurance of quantitative chemical analysis] Moscow: Chemistry; 2001. Russian.

24. Garmash AV, Sorokina NM. Metrological foundations of analytical chemistry. [Metrological foundations of analytical chemistry] Moscow: MSU publishing house; 2005. Russian.
25. Smolinska Mya, Smeiko MB, Korobova OV, Ostapiv NV, Tesliar HYu, Kotiash LI et al. Determination of keto- profen and ceftiofur in combined veterinary preparations by high performance liquid chromatography. Fifteenth Scientific Conference "Lviv Chemical Readings - 2015". 2015 May 24-27; Lviv (Ukraine): Publishing center of Ivan Franko National University of Lviv; 2015. Ukrainian.

Відомості про авторів:

Тесляр Г. Ю. – старший науковий співробітник сектору фармакопейних методів контролю лабораторії вискоєфективної рідинної хроматографії, Державний науково-дослідний контрольний інститут ветпрепаратів та кормових добавок, Львів, Україна. E-mail: tesgav@gmail.com, ORCID 0000-0002-2377-6405.

Смейко М. Б. – старший лаборант сектору фармакопейних методів контролю лабораторії вискоєфективної рідинної хроматографії, Державний науково-дослідний контрольний інститут ветпрепаратів та кормових добавок, Львів; Україна. E-mail: ury_s_maryana@ukr.net, ORCID 0000-0003-0016-7938.

Смолінська М. Я. – канд. хім. н., завідувач сектору фармакопейних методів контролю лабораторії вискоєфективної рідинної хроматографії, Державний науково-дослідний контрольний інститут ветпрепаратів та кормових добавок, Львів, Україна. E-mail: boiko_maria@ukr.net, ORCID 0000-0003-2547-2883

Коцюмбас І. Я. – д. вет. н., професор, директор Державного науково-дослідного контрольного інституту ветпрепаратів та кормових добавок, Львів, Україна. E-mail: dir@scivp.lviv.ua, ORCID 0000-0002-9287-3997

Знак В. С. – хімік I категорії Відділу контролю якості, Акціонерне товариство «Галичфарм», Львів, Україна. E-mail: kanlvkja@gmail.com, ORCID 0000-0003-4916-9379

Музыка В. П. – д. вет. н., заступник директора інституту по науковій роботі, Державний науково-дослідний контрольний інституту ветпрепаратів та кормових добавок, Львів, Україна. E-mail: muzyka@scivp.lviv.ua, ORCID 0000-0002-0767-7263

Information about the authors:

Tesliar G. Yu. – senior staff scientist, Sector of the Pharmacopoeia Control Methods Laboratory of High-performance Liquid Chromatography, State Scientific Research Control Institute of Veterinary Medicinal Products and Feed Additives, Lviv, Ukraine. E-mail: tesgav@gmail.com, ORCID 0000-0002-2377-6405

Smeiko M. B. – senior laboratory assistant, Sector of the Pharmacopoeia Control Methods Laboratory of High-performance Liquid Chromatography, State Scientific Research Control Institute of Veterinary Medicinal Products and Feed Additives, Lviv, Ukraine. E-mail: ury_s_maryana@ukr.net, ORCID 0000-0003-0016-7938.

Smolinska M. Ya. – PhD (Chemistry), Head of the Sector of the Pharmacopoeia Control Methods Laboratory of High-performance Liquid Chromatography, State Scientific Research Control Institute of Veterinary Medicinal Products and Feed Additives, Lviv, Ukraine. E-mail: boiko_maria@ukr.net, ORCID 0000-0003-2547-2883.

Kotsiumbas I. Ya. – DSc (Veterinary), Professor, Head of the State Scientific Research Control Institute of Veterinary Medicinal Products and Feed Additives, Lviv, Ukraine. E-mail: dir@scivp.lviv.ua, ORCID 0000-0002-9287-3997

Znak V. S. – chemist of the 1st category of Quality Control Department, Joint Stock Company "Halychpharm" Lviv, Ukraine. E-mail: kanlvkja@gmail.com, ORCID 0000-0003-4916-9379

Muzyka V. P. – DSc (Veterinary), Deputy Director on scientific work, State Scientific Research Control Institute of Veterinary Medicinal Products and Feed Additives, Lviv, Ukraine; E-mail: muzyka@scivp.lviv.ua, ORCID 0000-0002-0767-7263