

Ж. И. Авсюкевич, мастер цеха (РУП БЗМП, г. Борисов)

В.Н.Леонтьев, доц., канд. хим. наук (БГТУ, г. Минск)

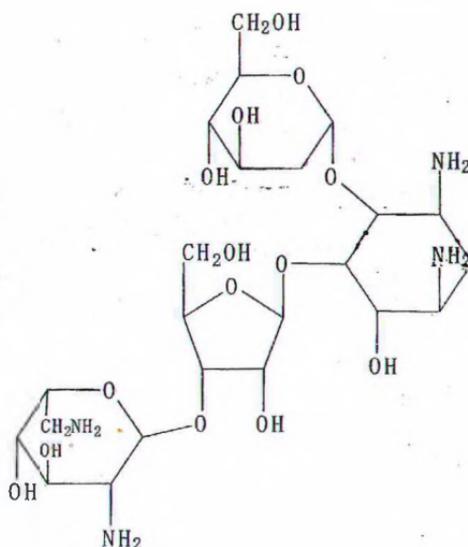
## НОВЫЙ СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКИЙ МЕТОД КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ АНТИБИОТИКА ФРАМИЦЕТИНА В СПРЕЕ «ФРАМИНАЗИН»

Антибиотики – специфические продукты жизнедеятельности или их модификации, обладающие высокой физиологической активностью по отношению к определенным группам микроорганизмов или к злокачественным опухолям. При воздействии антибиотика на чувствительные клетки может наблюдаться торможение их роста (биостатическая активность) или гибель (биоцидная активность). Это зависит от структуры, активности и дозы антибиотика [1].

Фрамицетин – антибиотик группы аминогликозидов. Продуцент антибиотика - *Streptomyces fradiae*.

Фрамицетин относится к группе антибиотиков, которые являются ингибиторами трансляции. Антибиотик проникает через клеточную мембрану бактерий и останавливает синтез белков (бактериостатический эффект). При более высоких концентрациях (на 1–2 порядка) повреждает цитоплазматическую мембрану микробной клетки с быстрой последующей гибелью (бактерицидный эффект) [2].

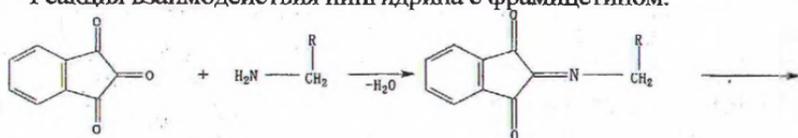
Структурная формула фрамицетина:



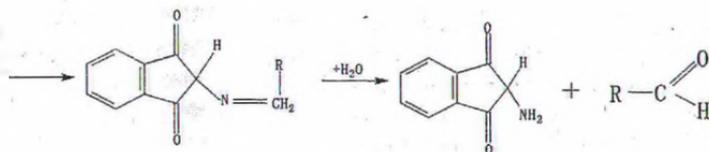
В настоящее время распространен микробиологический метод (метод диффузии антибиотика в агар с тест-штаммом и объективная оценка результатов анализа) количественного определения фрамицетина в спрее "Фрамиазин". Он дает довольно точные результаты, но требует специального дорогостоящего оборудования. Доверительный интервал составляет:  $12,5 \pm 1,25$  мг/мл. Также микробиологический метод имеет другие недостатки: длительность проведения анализов, зависимость точности результатов от внешних факторов и т.д. [1]

Разработанный нами спектрофотометрический метод основан на превращении анализируемого вещества в окрашенное соединение, имеющее характерный спектр поглощения. В основе метода лежит цветная реакция аминогруппы антибиотика с нингидрином [3].

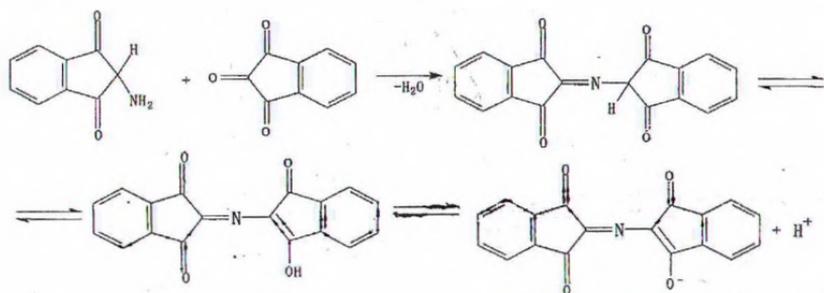
Реакция взаимодействия нингидрина с фрамицетином.



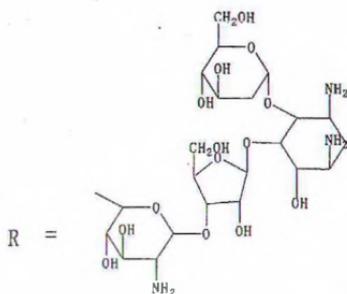
основание Шиффа



аминогидриден



сине-фиолетовый Рузмана



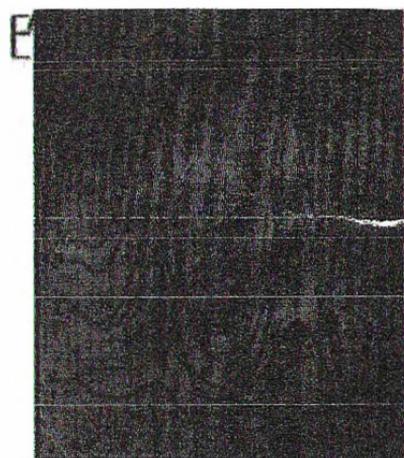
### Методика

- Реактивы: 1) 0,2%-ный спиртовой раствор нингидрина;  
2) стандартные образцы субстанции фрамицетина сульфата с концентрациями 1, 3, 5, 7 и 9 мг/мл в 0,1 М фосфатном буферном растворе  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  pH=7,5;  
3) проба спрея "Фраминазин" в 0,5 М фосфатном буферном растворе  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  pH=7,5;

В каждую пробирку со стандартными образцами субстанции фрамицетина сульфата добавляли по 0,5 мл 0,2%-ного спиртового раствора нингидрина и инкубировали на кипящей водяной бане 1 мин. Затем пробирки перенесли в емкость с ледяной водой на 30 сек (время контролировали по секундомеру). Далее содержимое каждой пробирки перенесли в отдельные мерные колбы на 50 мл и довели объем до метки 0,1 М фосфатным буферным раствором. Тщательно перемешали. Спектральные исследования растворов проводили на спектрофотометре Spesord M40 в диапазоне длин волн 340-800 нм. По полученным данным экстинкции строили калибровочный график ( $\lambda = 402,4$  нм).

Электронные спектры поглощения продуктов реакции нингидрина с фрамицетином и калибровочный график изображены на рисунке 1.

Для проведения анализа пробу спрея разбавляли 0,5 М фосфатным буферным раствором в 12,5 раз.



- №1 – 1 мг/мл  
№2 – 3 мг/мл  
№3 – 5 мг/мл  
№4 – 7 мг/мл  
№5 – 9 мг/мл

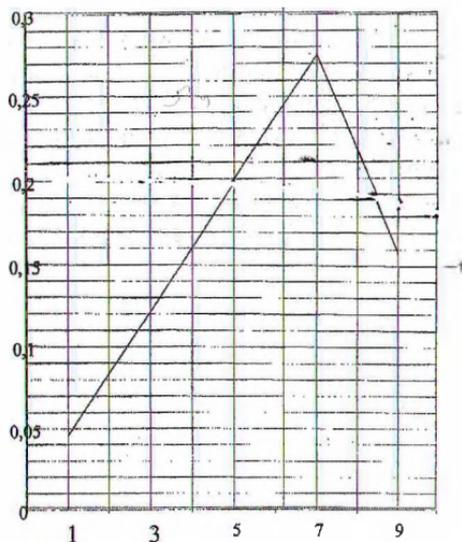


Рисунок 1

### Проведение анализа

В пробирку с пробой спрея добавляли 0,5 мл 0,2%-ного спиртового раствора нингидрина и инкубировали на кипящей водяной бане 1,5 мин. Пробирку быстро помещали в емкость с ледяной водой на 30 сек. Затем содержимое пробирки переносили в мерную колбу на 50 мл. Доводили объем до метки 0,5 М фосфатным буферным раствором. Тщательно перемешали и проводили спектральные исследования.

Мольное соотношение фрамицетина сульфата и фрамицетина в растворе:  $n_2(\text{Ф})/n_1(\text{Ф}_2\text{SO}_4)=166,7/77,1=2,16$

По калибровочному графику находили значение концентрации фрамицетина.

Найденные значения делили на 2,16 и умножали на коэффициент разбавления (12,5), чтобы определить содержание фрамицетина сульфата в спрее.

Для определения доверительного интервала проводили ряд параллельных измерений.

Измеренные концентрации фрамицетина в спрее составили 11,86, 13,89, 11,57 и 13,89 мг/мл.

Доверительный интервал составляет:  $12,5 \pm 2$  мг/мл [4].

Таким образом, разработан новый метод количественного определения фрамицетина в спрее "Фраминазин", позволяющий с высокой точностью определять концентрации антибиотика в данном лекарственном средстве.

### ЛИТЕРАТУРА

- 1 Егоров, Н.С. Основы учения об антибиотиках. - 5-е изд. - М.: Издательство Московского университета, 1994.
- 2 Беясова Н.А. Биохимия и молекулярная биология. - М.: Книжный дом, 2004.
- 3 Практическая химия белка / пер. с англ.; под ред. А. Дарбре. - М.: Мир, 1989.
- 4 Гармаш, А.В. Метрологические основы аналитической химии / А.В. Гармаш, Н.М.Сорокина. - М., 2005.