



С.И. Кулешова 
И.А. Денисова 
Т.И. Пшеничных 

Оценка стабильности растворов антибиотиков-цефалоспоринов по показателям «Цветность раствора» и «Примеси»

*Федеральное государственное бюджетное учреждение
«Научный центр экспертизы средств медицинского применения»
Министерства здравоохранения Российской Федерации,
Петровский б-р, д. 8, стр. 2, Москва, 127051, Российская Федерация*

✉ Кулешова Светлана Ивановна; Kuleshova@expmed.ru

РЕЗЮМЕ

ВВЕДЕНИЕ. Цефалоспориновые антибиотики применяют в виде лекарственных форм для инъекций, как правило, без добавления вспомогательных веществ. Анализ по показателям «Примеси» и «Цветность раствора» позволяет оценить процессы деструкции активной фармацевтической субстанции (АФС) в таких препаратах и поэтому является важным для контроля их надлежащего качества.

ЦЕЛЬ. Оценить стабильность водных растворов цефалоспоринов по показателям «Примеси» и «Цветность раствора» и проследить взаимосвязь между этими показателями.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ. Объектами исследования были АФС цефазолин, цефуроксим, цефтриаксон и смесь цефтриаксона с сульбактамом (2:1). Интенсивность окраски водных растворов антибиотиков оценивали по сравнению с эталонами цветности и спектрофотометрически при 430 нм для 10% раствора цефазолина в течение 6 сут, при 450 нм для 1,2% растворов цефтриаксона и смеси цефтриаксона с сульбактамом в течение 11 и 16 сут соответственно. Одновременно методом высокоэффективной жидкостной хроматографии определяли содержание родственных примесей в растворах цефазолина (10 и 0,25%), цефтриаксона (1,2 и 0,03%), смеси цефтриаксона и сульбактама (1,2% по цефтриаксону). Примеси растворов цефтриаксона исследовали в течение 16 сут, растворов цефуроксима (10 и 0,1%) в течение 2 сут. Все экспериментальные растворы хранили при комнатной температуре и естественном освещении, исключив попадание прямых солнечных лучей.

РЕЗУЛЬТАТЫ. В процессе эксперимента все исследуемые растворы приобретали более интенсивную желтую окраску, увеличивались значения оптических плотностей и содержание родственных примесей. Деструкция в разбавленных растворах цефазолина, цефтриаксона и цефуроксима проходила интенсивнее, чем в растворах более высокой концентрации. Отмечено преимущественное увеличение содержания одной-двух примесей в течение 24–96 ч при незначительном изменении содержания других родственных соединений. Наименее стабильным в водном растворе был цефуроксим, через 24 ч содержание примеси дезкарбомилцефуроксима превысило нормативные требования в 2,5 раза. Цветность 1,2% раствора цефтриаксона превысила нормативные требования через 24 ч хранения, содержание единичной примеси — через 72 ч.

ВЫВОДЫ. Стабильность водных растворов цефалоспориновых антибиотиков по показателям «Цветность раствора» и «Примеси» зависит от химического строения вещества, концентрации растворов и длительности их хранения при естественном освещении. Отмечена взаимосвязь между значениями оптической плотности и увеличением количества отдельных примесей в растворах цефазолина и цефтриаксона.

Ключевые слова: цефазолин; цефтриаксон; цефуроксим; оптическая плотность; цефалоспорины; цветность раствора; родственные примеси; стабильность; антибиотики; контроль качества; антибактериальные средства

Для цитирования: Кулешова С.И., Денисова И.А., Пшеничных Т.И. Оценка стабильности растворов антибиотиков-цефалоспоринов по показателям «Цветность раствора» и «Примеси». *Регуляторные исследования и экспертиза лекарственных средств*. 2025;15(1):34–43. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2025-15-1-34-43>

Финансирование. Работа выполнена в рамках государственного задания ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России № 056-00001-25-00 на проведение прикладных научных исследований (номер государственного учета НИР 124022300127-0).

Потенциальный конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Svetlana I. Kuleshova ✉ 
Irina A. Denisova 
Tatiana I. Pshenichnykh 

Stability of Cephalosporins in Solution in Terms of the Colour of Solution and Impurities

*Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products,
8/2 Petrovsky Blvd, Moscow 127051, Russian Federation*

✉ Svetlana I. Kuleshova; Kuleshova@expmed.ru

ABSTRACT

INTRODUCTION. Cephalosporins are injectable antibiotics, which are mainly free from excipients. Testing for impurities (degradation products) and the colour of solution can help evaluate degradation processes in cephalosporin active substances. Therefore, such testing is important for the quality control of cephalosporins.

AIM. This study aimed to evaluate the stability of cephalosporins in aqueous solutions in terms of impurities and the colour of solution and explore the relationship between these quality parameters.

MATERIALS AND METHODS. This study focused on cephalosporin active substances, including cefazolin, cefuroxime, ceftriaxone, and a combination of ceftriaxone and sulbactam (2:1). The colour intensity of aqueous solutions of these antibiotics was examined by visual comparison with reference standards and by spectrophotometry. The absorbance values of 10% cefazolin solution were measured at 430 nm at fixed intervals for 6 days, and those of 1.2% ceftriaxone and ceftriaxone–sulbactam solutions were determined at the maximum absorption wavelength of 450 nm for 11 days and 16 days, respectively. High-performance liquid chromatography (HPLC) was used to determine the content of related substances in solutions of cefazolin (10% and 0.25%), ceftriaxone (1.2% and 0.03%), and the ceftriaxone–sulbactam combination (1.2%, calculated as ceftriaxone). Ceftriaxone solutions were studied for 16 days, and cefuroxime solutions (10% and 0.1%) were studied for 2 days (48 hours). All the test solutions were stored at room temperature in natural light (away from direct sunlight).

RESULTS. During the test period, all the test solutions gradually acquired an intense yellow colour, and their absorbance and related substance content increased accordingly. Diluted solutions of cefazolin, ceftriaxone, and cefuroxime degraded significantly faster than the solutions of these antibiotics of a higher concentration. The experiment showed that the content of only one or two impurities increased during the first 24–96 hours of degradation, while the content of the remaining related substances changed insignificantly. Cefuroxime proved to be the least stable in aqueous solutions; the content of dezarbomoyl cefuroxime exceeded the limit specified by the regulatory requirements by 2.5 times after 24 hours of storage. The colour of 1.2% ceftriaxone deviated from the regulatory requirements after 24 hours, and the content of individual impurities exceeded the applicable limit for after 72 hours.

CONCLUSIONS. The study has shown that the stability of cephalosporins in aqueous solutions in terms of impurities and the colour of solution depends on the chemical structure of the substance, the concentration of the solution, and the duration of storage in natural light. A correlation has been demonstrated between the absorbance of cefazolin and ceftriaxone solutions and the content of individual impurities.

Keywords: cefazolin; ceftriaxone; cefuroxime; absorbance; cephalosporins; colour of solution; related substances; stability; antimicrobials; quality control

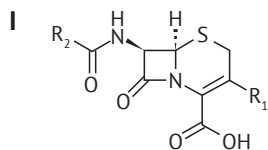
For citation: Kuleshova S.I., Denisova I.A., Pshenichnykh T.I. Stability of cephalosporins in solution in terms of the colour of solution and impurities. *Regulatory Research and Medicine Evaluation*. 2025;15(1):34–43. <https://doi.org/10.30895/1991-2919-2025-15-1-34-43>

Funding. This study was conducted by the Scientific Centre for Expert Evaluation of Medicinal Products as part of the applied research funded under State Assignment No. 056-00001-25-00 (R&D Registry No. 124022300127-0).

Disclosure. The authors declare no conflict of interest.

ВВЕДЕНИЕ

Цефалоспориновые антибиотики — это большая группа β -лактамов антибиотиков, производство и применение которых в медицинской практике в широких масштабах началось с 70-х годов XX века¹. Для получения полусинтетических антибиотиков в общее ядро молекулы цефалоспоринов — 7-аминоцефалоспоровую кислоту (7-АЦК) (I) путем направленного химического или биокаталитического синтеза вводят функциональные группы, в основном в положении R_2 и R_1 ² [1, 2]. Модификация структуры 7-АЦК приводит к изменению антибактериального спектра получаемых соединений, их фармакологических и физико-химических свойств³ [2].



Выделяют пять поколений (генераций) антибиотиков цефалоспоринов. К первому поколению относится цефалотин, цефазолин, цефалексин, цефадроксил. Примерами 2-го поколения являются цефуроксим, цефаклор, 3-го поколения — цефотаксим, цефтриаксон. К 4-й генерации относят цефепим и цефпиром; 5-я генерация пока представлена только цефтралином. Если цефалоспорины первого поколения эффективны в основном против грамположительных бактерий, появление последующих генераций цефалоспоринов было связано с расширением спектра их действия против аэробных грамотрицательных бактерий⁴.

Для большинства антибиотиков, относящихся к первым трем поколениям, в Фармакопее США

2024 года, Европейской фармакопее 11.3 (Ph. Eur.) и в Государственной фармакопее Российской Федерации (ГФ РФ) XV изд. представлены монографии, регламентирующие стандарты качества соответствующих соединений в случае их использования в качестве активных фармацевтических субстанций (АФС). Обязательными показателями качества АФС, особенно если они предназначены для производства парентеральных лекарственных средств, являются «Примеси» и «Цветность раствора». Для проявления биологической активности цефалоспоринов большое значение имеет целостность β -лактамового кольца, неустойчивого в кислой и щелочной среде [3, 4]. В водных растворах цефалоспорины также подвергаются деструкции с возможным расщеплением β -лактамового кольца [3–5]. Стабильность растворов цефалоспоринов зависит от температуры, pH, воздействия света. Было показано, что в течение суток цефалоспорины в водных растворах гидролизуются⁵. Анализ степени деструкции цефалоспоринов в водных растворах с течением времени при естественном освещении и взаимосвязь процесса постепенной деградации с изменением качества этих препаратов и их соответствием фармакопейным требованиям в литературе не описаны. При этом наблюдаемое постепенное увеличение интенсивности окрашивания растворов при работе с этими антибиотиками свидетельствует о накоплении продуктов разложения действующего вещества.

Цель работы — оценить стабильность водных растворов цефалоспоринов по показателям «Примеси» и «Цветность раствора» и проследить взаимосвязь между этими показателями.

¹ Страчунский ЛС, Белоусов ЮБ, Козлов СН, ред. Практическое руководство по антиинфекционной химиотерапии. М.: 2007. Яковлев ВП, Яковлев СВ, ред. Рациональная антимикробная фармакотерапия: руководство. М.: Литтерра; 2007.

² Егоров НС. Основы учения об антибиотиках: учебник. М.: Наука; 2004.

Раменская ГВ, ред. Фармацевтическая химия: учебник. М.: Лаборатория знаний; 2021.

³ Яковлев ВП, Яковлев СВ, ред. Рациональная антимикробная фармакотерапия: руководство. М.: Литтерра; 2007.

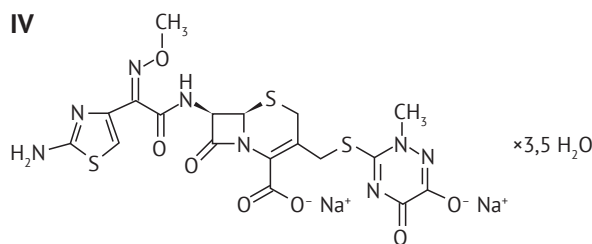
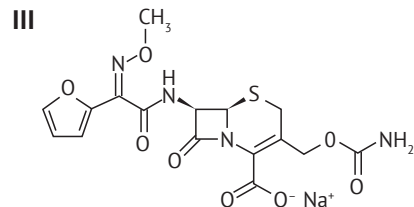
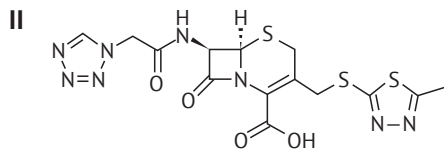
⁴ Егоров НС. Основы учения об антибиотиках: учебник. М.: Наука; 2004.

⁵ Страчунский ЛС, Белоусов ЮБ, Козлов СН, ред. Практическое руководство по антиинфекционной химиотерапии. М.: 2007. Яковлев ВП, Яковлев СВ, ред. Рациональная антимикробная фармакотерапия: руководство. М.: Литтерра; 2007.

Егоров НС. Основы учения об антибиотиках: учебник. М.: Наука; 2004.

В качестве **объектов исследования** были выбраны АФС, зарегистрированные в Российской Федерации: цефазолин (**II**), цефуроксим (**III**), цефтриаксон (**IV**), а также смесь цефтриаксона

с сульбактамом (2:1). Эти три антибиотика легко растворимы в воде и используются в форме натриевых солей для приготовления инъекционных препаратов.



Смесь цефтриаксона с сульбактамом (2:1) легко растворима в воде. Сульбактам в составе препарата¹³ является ингибитором пенициллиназы и также представляет собой β -лактамное соединение.

Для **оценки изменения интенсивности окраски** водных растворов цефалоспоринов применяли два фармакопейных метода: визуальный и спектрофотометрический. Использование инструментального метода позволяет получить количественную и более объективную оценку, чем визуальный способ.

Оптическую плотность 10% раствора цефазолина измеряли при длине волны 430 нм согласно требованиям Ph. Eur., 1,2% раствора цефтриаксона и раствора смеси цефтриаксона (1,2%) и сульбактама — в максимуме поглощения при длине волны 450 нм. Выбор концентраций испытуемых растворов соответствовал требованиям Ph. Eur. и ГФ РФ для анализа исследуемых АФС. Анализ смеси было решено проводить аналогично цефтриаксону. При анализе визуальным

⁶ ФС.2.1.0315 Цефазолин натрия. Государственная фармакопея Российской Федерации XV изд. Т. 2. М.; 2023.

⁷ 04/2019:0988 Cefazolin sodium. European Pharmacopoeia 11.6.

ФС.2.1.0315 Цефазолин натрия. Государственная фармакопея Российской Федерации XV изд. Т. 2. М.: 2023.

⁸ ФС.2.1.0688 Цефуроксим натрия. Государственная фармакопея Российской Федерации XV изд. Т. 2. М.; 2023.

⁹ 01/2008:0992 Cefuroxime sodium. European Pharmacopoeia 11.6.

ФС.2.1.0688 Цефуроксим натрия. Государственная фармакопея Российской Федерации XV изд. Т. 2. М.; 2023.

¹⁰ ФС.2.1.025 Цефтриаксон натрия. Государственная фармакопея Российской Федерации XV изд. Т. 2. М.; 2023.

¹¹ Яковлев ВП, Яковлев СВ, ред. Рациональная антимикробная фармакотерапия: руководство. М.: Литература ; 2007. Егоров НС. Основы учения об антибиотиках: учебник. М.: Наука; 2004.

Раменская ГВ, ред. Фармацевтическая химия: учебник. М.: Лаборатория знаний; 2021.

¹² 01/2009:0991 Ceftriaxone sodium. European Pharmacopoeia 11.6.

ФС.2.1.025 Цефтриаксон натрия. Государственная фармакопея Российской Федерации XV изд. Т. 2. М.: 2023.

¹³ Государственный реестр лекарственных средств. <https://grls.rosminzdrav.ru>

методом использовали фармакопейные эталоны цветности¹⁴.

Оптическую плотность растворов антибиотиков измеряли на спектрофотометре Agilent 8453, pH — на приборе Mettler Toledo тип Seven Compact, для определения содержания родственных примесей использовали хроматограф Agilent Infinity 1260. Измерения проводили через определенные промежутки времени с использованием одних и тех же растворов. Дополнительно с такой же периодичностью изучали стабильность растворов указанных антибиотиков по содержанию родственных примесей. Концентрации растворов были выбраны в соответствии с требованиями нормативных документов для анализа методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) — 0,25% цефазолина, 0,1% цефуроксима и 0,03% цефтриаксона. Все исследуемые растворы хранили при комнатной температуре 22–24 °C при естественном освещении, исключив попадание прямых солнечных лучей. Антибиотики растворяли в свежеприготовленной воде очищенной и хранили в плотно закупоренных конических колбах.

Содержание примесей оценивали методом внутренней нормализации в процентах с учетом относительного времени удерживания. Единичные примеси идентифицировали, если такая возможность была предусмотрена методикой. Пики растворителей, реактивов и пики, обусловленные компонентами подвижной фазы, в расчет не принимали.

Использовали методики ВЭЖХ, описанные в монографиях Ph. Eur. на цефуроксим натрия и цефтриаксон натрия с незначительными изменениями, определение примесей в растворах цефазолина проводили согласно требованиям Фармакопеи США¹⁵. Условия хроматографирования для определения примесных продуктов:

- цефазолин — подвижная фаза (ПФ) двух-компонентная (ПФ А — буферный раствор с pH 6,8, ПФ В — ацетонитрил), градиентное элюирование в течение 65 мин, скорость потока 1,5 мл/мин, детектирование при 254 нм и 210 нм, температура колонки 30 °C, объем вводимой пробы 20 мкл, колонка Luna C18 250×4,6 мм, 5 мкм;
- цефуроксим — ПФ ацетонитрил и ацетатный буферный раствор с pH 3,4 в соотношении 1:99, скорость потока 1,0 мл/мин,

детектирование при 273 нм, температура колонки 30 °C, объем вводимой пробы 20 мкл, колонка Spherisorb C6 100×4,6 мм, 5 мкм.

- цефтриаксон — ПФ буферный раствор с pH 6,0 и ацетонитрил в соотношении 1:1, скорость потока 1,5 мл/мин, детектирование при 254 нм, температура колонки 30 °C, объем вводимой пробы 20 мкл, колонка Luna C18 250×4,6 мм, 5 мкм.

Статистическую обработку результатов в данном исследовании не проводили.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В процессе работы все исследуемые растворы цефалоспоринов постепенно приобретали более интенсивную желтую окраску по сравнению с первоначальным цветом. Раствор цефтриаксона (1,2%) в начале опыта выдерживал сравнение с эталоном цветности Y_5 , что соответствует нормативным требованиям монографии на цефтриаксон натрия¹⁶, через 24 ч хранения на свету приобретал выраженный желтый цвет (эталон Y_4), через 144 ч (6 сут) соответствовал эталону Y_3 . Раствор смеси цефтриаксона с сульбактамом с той же концентрацией цефтриаксона существенно изменял окраску в течение 24 ч от Y_4 до Y_3 с последующим пожелтением раствора на конечном этапе эксперимента до соответствия эталону Y_2 . Окраска 10% раствора цефазолина первоначально не превышала эталон Y_3 , через 24 ч соответствовала эталону Y_2 , и далее в процессе наблюдений цветность раствора практически менялась.

Визуальная оценка цветности 10% раствора цефуроксима в сравнении с эталонами была затруднена, так как интенсивность окраски раствора сразу после его приготовления уже превышала эталон 1 шкалы цветности BY.

В монографиях Ph. Eur. и ГФ РФ на исследуемые соединения только для цефтриаксона натрия предусмотрено сравнение с эталоном для оценки цветности раствора. Внешний вид растворов 10% раствора цефазолина стандартизуют по значению оптической плотности — «не более 0,15».

Для исследуемых растворов цефазолина в течение 16 сут, цефтриаксона и смеси цефтриаксона с сульбактамом в течение 11 сут наблюдали увеличение оптической плотности при хранении на свету (рис. 1). Наиболее стабильным соединением в условиях испытания по показателю «Цветность раствора» оказался цефазолин.

¹⁴ ОФС.1.2.1.006 Степень окраски жидкостей. Государственная фармакопея Российской Федерации XV изд. Т. 1. М.; 2023.

¹⁵ Cefazolin sodium. United States Pharmacopeia. USP NF; 2024.

¹⁶ 01/2009:0991 Ceftriaxone sodium. European Pharmacopoeia 11.6.

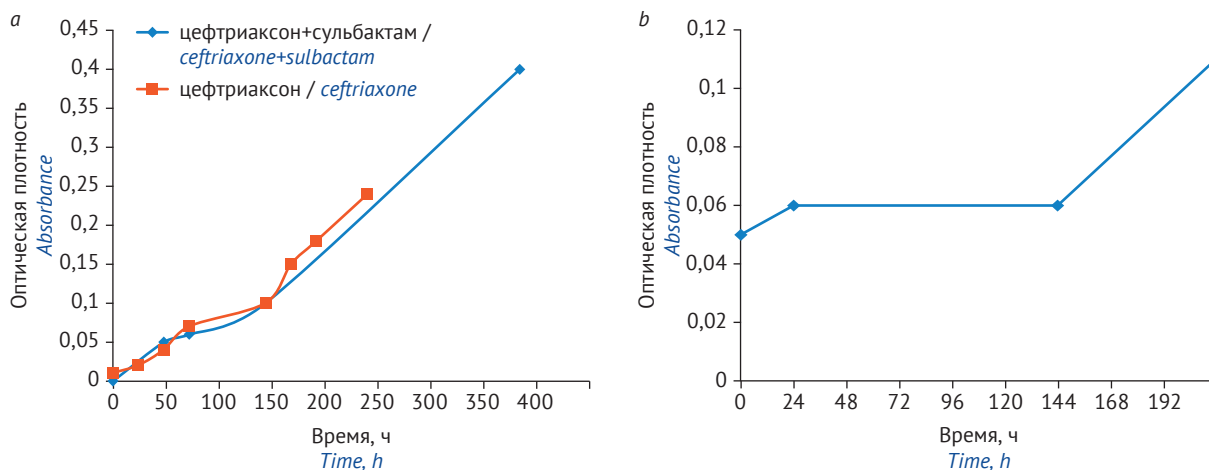


Рисунок подготовлен авторами по собственным данным / The figure is prepared by the authors using their own data

Рис. 1. Изменение оптической плотности 1,2% раствора цефтриаксона, 1,2% раствора цефтриаксона с сульбактамом (а) и 10% раствора цефазолина (б) в процессе хранения при комнатной температуре на свету без доступа прямых солнечных лучей

Fig. 1. Changes in the absorbance of 1.2% solutions of ceftriaxone and ceftriaxone-sulbactam (a) and 10% solution of cefazolin (b) during storage at room temperature in natural light (away from direct sunlight)

Оптическая плотность 10% раствора цефазолина через 9 сут (216 ч) наблюдения не превышала установленное¹⁷ предельное значение 0,15.

Считается, что водные растворы натриевых солей цефалоспоринов обладают буферными свойствами [6]. Наблюдения за динамикой изменения pH показали, что исследуемые растворы цефтриаксона с сульбактамом и цефазолина имели слабокислую реакцию с постепенным сдвигом в щелочную. Так, pH раствора цефтриаксона с сульбактамом изменялся от 6,4 в начале эксперимента до 6,9 в конце испытаний, pH раствора цефазолина — от 6,0 до 6,8 соответственно, последнее значение превысило нормативные требования¹⁸ («от 4,0 до 6,0» для 10% раствора цефазолина натрия). Диапазон изменений pH раствора цефтриаксона был шире и составил от 6,6 до 7,5, тем не менее эти значения не превышали нормативные пределы («от 6,0 до 8,0»)¹⁹. Возможно, что в процессе хранения растворов цефалоспоринов образуются продукты деструкции, обладающие щелочными свойствами.

Оценивая полученные результаты анализа по показателю «Цветность раствора», представляется интересным проследить изменения содержания родственных примесей (продуктов деструкции) в растворах цефалоспориновых антибиотиков.

При анализе результатов деструкции цефазолина в 10 и 0,25% водных растворах показано (рис. 2), что сумма примесей превышала нормативные требования (3,5%)²⁰ через 96 ч (4 сут), а через 6 сут составила более 5%. Суммарное содержание примесей в исследуемых объектах может увеличиваться в результате образования как одной, так и одновременно нескольких примесей.

Процесс деструкции не отличался в растворах разных концентраций — увеличивалось содержание в основном двух примесей: тетразолиацетамида ацеталя (V) (N-(2,2-дигидроксиэтил)-2-(1H-тетразол-1-ил)ацетамид)²¹ и цефазолина с открытым лактонным кольцом или 3-гидроксиметил цефазолина (VI) (6R,7R)-7-[2-(1H-тетразол-1-ил)ацетамидо]-3-(гидроксиметил)-8-оксо-5-тиа-1-азабицикло[4.2.0]окт-2-ен-2-карбоксикислота)²². Тогда как содержание примеси цефазолина лактона (N-{{5aR,6R}-1,7-диоксо-1,3,4,5a,6,7-гексагидроазето[2,1-b]фуоро[3,4-d][1,3]тиазин-6-ил}-2-(1H-тетразол-1-ил)ацетамид)²³ в исследуемых растворах уменьшалось. Это отчасти объясняет увеличение содержания примеси 3-гидроксиметил цефазолина, поскольку согласно данным литературы [4] цефазолин гидролизуетсся первоначально до цефазолина лактона, затем эта примесь распадается до цефазолина с открытым лактонным кольцом.

¹⁷ 04/2019:0988 Cefazolin sodium. European Pharmacopoeia 11.6.

¹⁸ 04/2019:0988 Cefazolin sodium. European Pharmacopoeia 11.6.

ФС.2.1.0315 Цефазолин натрия. Государственная фармакопея Российской Федерации XV изд. Т. 2. М.; 2023.

¹⁹ 01/2008:0992 Cefuroxime sodium. European Pharmacopoeia 11.6.

²⁰ Cefazolin sodium. United States Pharmacopoeia. USP NF; 2024.

²¹ Там же.

²² Там же.

²³ Там же.

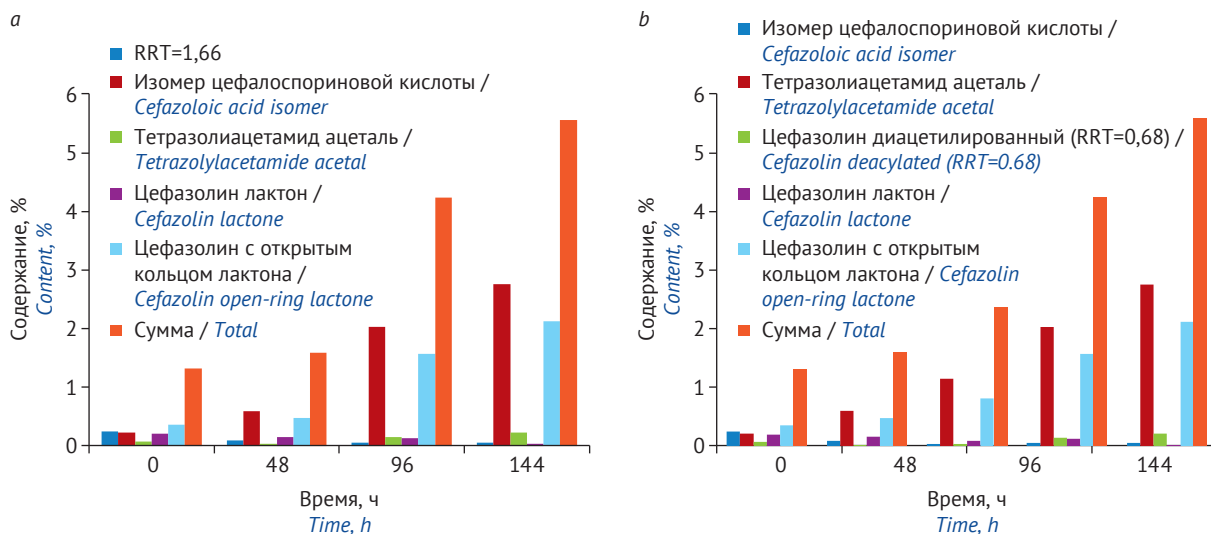


Рисунок подготовлен авторами по собственным данным / The figure is prepared by the authors using their own data

Рис. 2. Изменение содержания примесей в 10% (а) и 0,25% (б) растворах цефазолина в процессе хранения при комнатной температуре на свету без доступа прямых солнечных лучей. RRT – относительное время удерживания соответствующей примеси

Fig. 2. Changes in the content of impurities in 10% (a) and 0.25% (b) cefazolin solutions during storage at room temperature in natural light (away from direct sunlight). RRT, relative retention time of the corresponding impurity

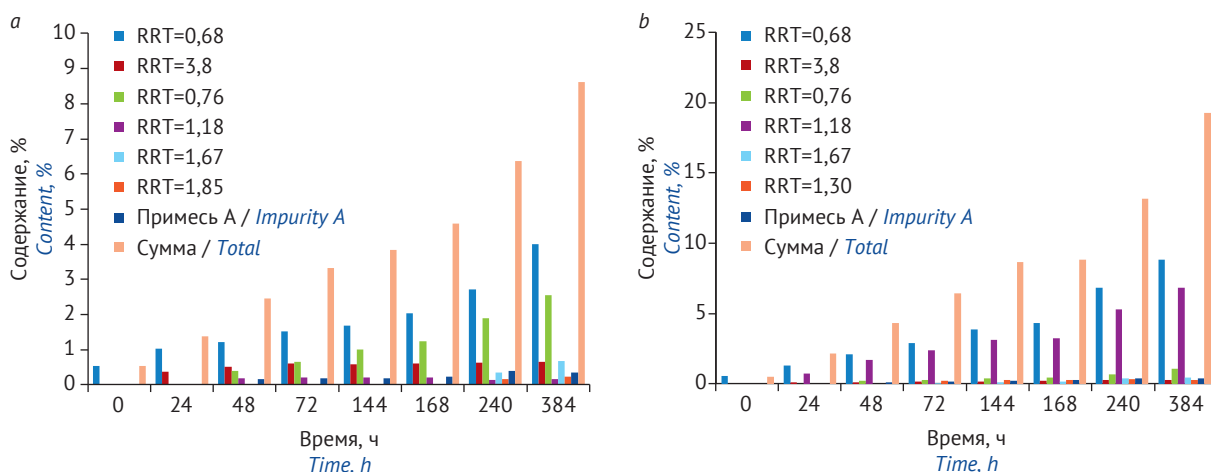
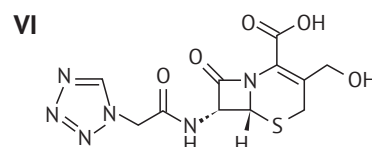
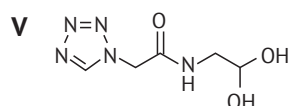


Рисунок подготовлен авторами по собственным данным / The figure is prepared by the authors using their own data

Рис. 3. Изменение содержания примесей в 1,2% (а) и 0,03% (б) растворах цефтриаксона в процессе хранения при комнатной температуре на свету без доступа прямых солнечных лучей. RRT – относительное время удерживания соответствующей неидентифицированной примеси

Fig. 3. Changes in the content of impurities in 1.2% (a) and 0.03% (b) ceftriaxone solutions during storage at room temperature in natural light (away from direct sunlight). RRT, relative retention time of the corresponding unspecified impurity



Диаграммы процесса деструкции цефтриаксона в растворах разных концентраций представлены на рисунке 3. Согласно требованиям Ph. Eur. предельное содержание единичной примеси в цефтриаксоне натрия должно быть не более 1,0%, суммарно – не более 4,0%.

Процесс разложения цефтриаксона в разбавленном 0,03% растворе протекал интенсивнее, чем в более концентрированном. Сумма примесей (4,2%) в первом случае не соответствовала требованиям Ph. Eur. через 48 ч, во втором – через 168 ч (4,5%).

Накопление единичных примесей цефтриаксона имело некоторые различия в растворах разных концентраций. Значительное увеличение с 0,5% в начале испытания (0 ч) до 1,5% через 72 ч и до 4,0% в конце срока хранения наблюдали для соединения с относительным временем удерживания (reference retention time, RRT) 0,68 в 1,2% растворе цефтриаксона. В разбавленном в 40 раз растворе количество этой же примеси возрастало с 0,5% (0 ч) до 2,0% через 48 ч и в конечной точке эксперимента превысило 8,0%. В то же время в разбавленном растворе наблюдали существенное увеличение примеси с RRT 1,18, которая в свежеприготовленных растворах обеих концентраций не проявлялась на хроматограммах. Количество этой примеси практически не изменилось в 1,2% растворе, но постепенно увеличилось содержание примеси с RRT 0,76. Количество остальных примесей не превышало фармакопейных норм, содержание примеси А (Е-изомер цефтриаксона)²⁴ оставалось практически неизменным в течение всего эксперимента.

Результаты оценки стабильности растворов цефуроксима разных концентраций представлены на рисунке 4. Примесь А — основной продукт деградации цефуроксима — нормируется отдельно от суммы других примесей (не более 1,0%)²⁵. В свежеприготовленных растворах цефуроксима содержание примеси А (декарбомилцефуроксим; (6R,7R)-7-[[[(2Z)-2-(фуран-2-ил)-2-метоксииминоацетил]

амино]-3-(гидроксиметил)-8-оксо-5-тиа-1-азабицикло[4.2.0]окт-2-ен-2-карбоновая кислота)²⁶ составило менее 0,4%, затем через 24 ч увеличилось до 2,5% в 10%-ном растворе цефуроксима и почти до 5,0% в разбавленном растворе. Таким образом, цефуроксим в данном исследовании проявил себя наименее стабильным соединением в водных растворах, через 24 ч содержание примеси А превысило нормативные требования в 2,5–5 раз.

Стандарт качества на смесь цефтриаксона с сульбактамом (2:1) в ведущих фармакопеях в настоящее время не представлен. В связи с этим была изучена стабильность раствора смеси цефтриаксона с сульбактамом (содержание цефтриаксона 1,2%) по отношению к стабильности сухой смеси, из которой через указанные промежутки времени отбирали навески и проводили определение примесей в свежеприготовленном (не более 2 ч хранения) растворе той же концентрации. Влияние естественного освещения на стабильность порошка смеси изучаемых веществ оказалось незначительным, сумма примесей не превысила 1,2% на 16 сут хранения (рис. 5a). Деструкция цефтриаксона с сульбактамом в водном растворе протекала интенсивно, сумма примесей на конец испытания составила около 9% (рис. 5b).

Поскольку деградация в разбавленных растворах цефазолина (0,25%), цефтриаксона (0,03%) и цефуроксима (0,1%) проходила интенсивнее, чем в растворах более высоких концентраций

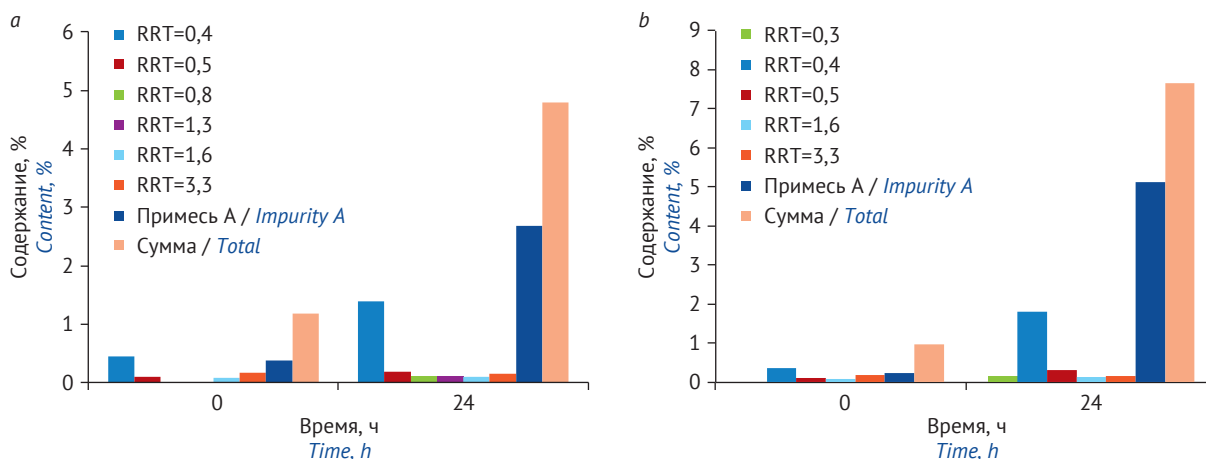


Рисунок подготовлен авторами по собственным данным / The figure is prepared by the authors using their own data

Рис. 4. Изменение содержания примесей в 10% (a) и 0,1% (b) растворах цефуроксима в процессе хранения при комнатной температуре на свету без доступа прямых солнечных лучей. RRT — относительное время удерживания соответствующей неидентифицированной примеси

Fig. 4. Changes in the content of impurities in 10% (a) and 0.1% (b) cefuroxime solutions during storage at room temperature in natural light (away from direct sunlight). RRT, relative retention time of the corresponding unspecified impurity

²⁴ 01/2009:0991 Ceftriaxone sodium. European Pharmacopoeia 11.6.

²⁵ 01/2008:0992 Cefuroxime sodium. European Pharmacopoeia 11.6.

²⁶ Там же.

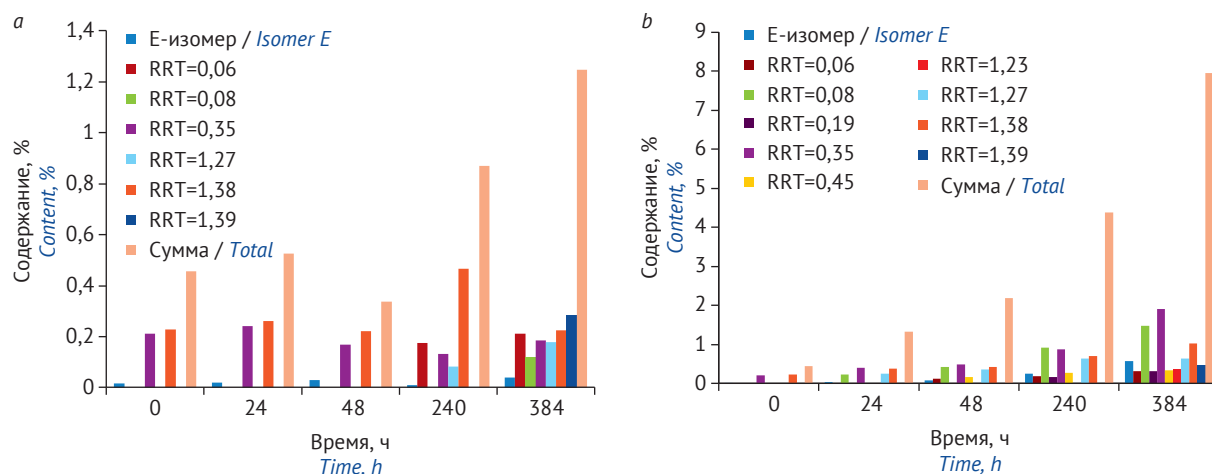


Рисунок подготовлен авторами по собственным данным / The figure is prepared by the authors using their own data

Рис. 5. Изменение содержания примесей в сухой смеси цефтриаксона с сульбактамом (свежеприготовленный раствор) (a) и в растворе смеси (b) в процессе хранения при комнатной температуре на свету без доступа прямых солнечных лучей. RRT – относительное время удерживания соответствующей неидентифицированной примеси

Fig. 5. Changes in the content of impurities in ceftriaxone-sulbactam solution when prepared (a) and during storage at room temperature in natural light (away from direct sunlight) (b). RRT, relative retention time of the corresponding unspecified impurity

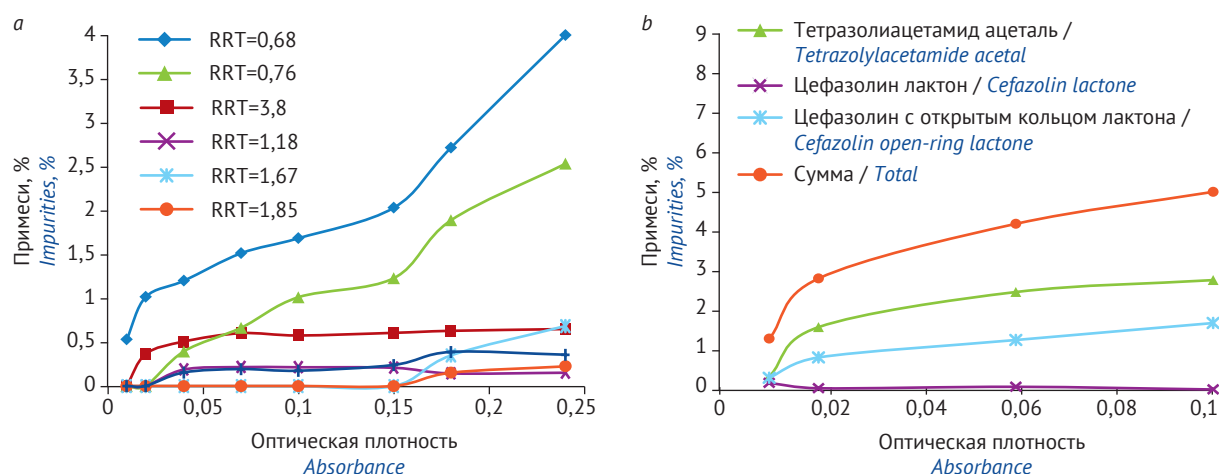


Рисунок подготовлен авторами по собственным данным / The figure is prepared by the authors using their own data

Рис. 6. Изменение значений оптической плотности и содержания примесей в 1,2% растворе цефтриаксона (a) и 10% растворе цефазолина (b) в процессе хранения при комнатной температуре на свету без доступа прямых солнечных лучей. RRT – относительное время удерживания соответствующей неидентифицированной примеси

Fig. 6. Changes in the absorbance and impurity content in 1.2% ceftriaxone solution (a) and 10% cefazolin solution (b) during storage at room temperature in natural light (away from direct sunlight) (b). RRT, relative retention time of the corresponding unspecified impurity

(10% растворы цефазолина и цефуроксима, 1,2% раствор цефтриаксона), и наблюдали минимальное разложение β -лактамов соединений в порошке по сравнению с растворами, можно предположить, что водная среда и ее объем являются основными факторами, влияющими на накопление родственных примесей в процессе хранения. При этом в процессе деградации молекулы исследуемых антибиотиков в водных растворах разрушаются с образованием преимущественно одной-двух примесей в течение 24–96 ч, тогда как содержание остальных родственных соединений изменяется незначительно.

Визуально можно отметить увеличение оптической плотности при увеличении суммы примесей в растворах цефтриаксона и цефазолина, однако линейная функция не подтверждена статистически, что связано, скорее всего, с неравномерным вкладом примесных продуктов в общее поглощение исследуемых растворов.

Учитывая, что растворы исследуемых цефалоспоринов в процессе хранения при естественном освещении приобретали более интенсивную желтую окраску, можно предположить, что в процессе деструкции образуются родственные примеси

исследуемых β -лактамных соединений, интенсивно поглощающие в диапазоне длин волн синей области видимого спектра.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Стабильность водных растворов цефазолина, цефтриаксона, цефтриаксона с сульбактамом (2:1) и цефуроксима по показателям «Цветность раствора» и «Примеси» зависит от химического строения вещества, концентрации растворов и длительности хранения при естественном освещении. Между значениями оптической плотности растворов цефазолина и цефтриаксона отмечена визуально наблюдаемая взаимосвязь

с увеличением количества отдельных примесей, однако четкой линейной зависимости не выявлено, что, вероятно, обусловлено неравномерным вкладом примесных продуктов в общее поглощение исследуемых растворов. Проведенные исследования могут быть полезны при разработке и оптимизации методик, необходимых для оценки качества и стабильности лекарственных средств β -лактамных соединений. На основании полученных результатов в дальнейших исследованиях предполагается оценить изменение чувствительности тест-микроорганизмов к цефалоспоринам, подвергшимся деструкции под воздействием внешних факторов.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Скляренко АВ, Грошкова ИА, Горбунов НА, Яроцкий СВ. Биокаталитический синтез новых цефалоспоринов с использованием иммобилизованной синтетазы цефалоспоринов-кислот. *Биотехнология*. 2022;38(2):43–56. Sklyarenko AV, Groshkova IA, Gorbunov NA, Yarotsky SV. Biocatalytic synthesis of new cephalosporins using immobilized cephalosporin-acid synthetase. *Biotechnology*. 2022;38(2):43–56 (In Russ.). <https://doi.org/10.56304/S0234275822020089>
2. Скляренко АВ, Грошкова ИА, Горбунов НА, Яроцкий СВ. Альтернативный синтез цефазолина с использованием синтетазы цефалоспоринов-кислот. *Прикладная биохимия и микробиология*. 2020;56(5):452–64. <https://doi.org/10.31857/S055510992005013X> Sklyarenko AV, Groshkova IA, Gorbunov NA, Yarotsky SV. Alternative cefazolin synthesis with a cephalosporin-acid synthetase. *Applied Biochemistry and Microbiology*. 2020;56(5):526–37. <https://doi.org/10.1134/S0003683820050130>
3. Xu QA, Trissel LA, Saenz CA, Ingram DS, Williams KY. Stability of three cephalosporin antibiotics in AutoDos Infusion System bags. *J Am Pharm Assoc (Wash)*. 2002;42(3):428–31. <https://doi.org/10.1331/108658002763316851>
4. Yamana T, Tsuji A. Comparative stability of cephalosporins in aqueous solution: Kinetics and mechanisms of degradation. *J Pharm Sci*. 1976;65(11):1563–73. <https://doi.org/10.1002/jps.2600651104>
5. Серченя ТС, Горбачева ИВ, Свиридов ОВ. Прямое конъюгирование пенициллинов и цефалоспоринов с белками для рецепторного анализа бета-лактамных антибиотиков. *Биоорганическая химия*. 2022;48(1):63–74. <https://doi.org/10.31857/S0132342322010122> Serchenya TS, Harbachova IV, Sviridov OV. Direct conjugation of penicillins and cephalosporins with proteins for receptor assays of beta-lactam antibiotics. *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*. 2022;48(1):85–95. <https://doi.org/10.1134/S1068162022010125>
6. Катаева НН, Шулепова КЕ. Сравнительный анализ физико-химических свойств водных растворов цефалоспоринов I и III поколений. В кн.: Привалова ЕГ, ред. *Инновационные технологии в фармации*. Иркутск; 2023. С. 36–40. Kataeva NN, Shulepova KE. Comparative analysis of aqueous solute ions the physico-chemical properties in I and III generation cephalosporins. In: Privalova EG, ed. *Innovative technologies in pharmacy*. Irkutsk; 2023. P. 36–40 (In Russ.). EDN: IKQANP

Вклад авторов. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства критериям ICMJE. Наибольший вклад распределен следующим образом: С.И. Кулешова — идея, общая концепция исследования, написание текста рукописи, анализ результатов; И.А. Денисова — подбор методик, проведение испытания методом ВЭЖХ, анализ результатов; Т.И. Пшеничных — выполнение испытаний спектрофотометрическим и визуальными методами, измерение pH, анализ результатов.

Authors' contributions. All the authors confirm that they meet the ICMJE criteria for authorship. The most significant contributions were as follows. Svetlana I. Kuleshova conceived the study idea, conceptualised the study, drafted the manuscript, and analysed the results. Irina A. Denisova selected analytical procedures, conducted HPLC testing, and analysed the results. Tatiana I. Pshenichnykh conducted the tests using spectrophotometric and visual methods, measured the pH, and analysed the results.

ОБ АВТОРАХ / AUTHORS

Кулешова Светлана Ивановна, канд. биол. наук / Svetlana I. Kuleshova, Cand. Sci. (Biol.)

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-9103-9239>

Денисова Ирина Анатольевна / Irina A. Denisova

ORCID: <https://orcid.org/0009-0008-5155-2979>

Пшеничных Татьяна Ивановна / Tatiana I. Pshenichnykh

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8445-8902>

Поступила 27.11.2024

После доработки 16.01.2025

Принята к публикации 11.02.2025

Received 27 November 2024

Revised 16 January 2025

Accepted 11 February 2025