

ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО ПО ОБРАЗОВАНИЮ
ГОСУДАРСТВЕННОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
ВЫСШЕГО ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ
ВОРОНЕЖСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

ПРАКТИКУМ
ПО ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ ХИМИИ

Методическое пособие
по специальности 060108 (040500) «Фармация»

ВОРОНЕЖ
2006

УДК 615.322 (076.5)

Утверждено научно-методическим советом фармацевтического факультета
протокол № 4 от 27. 02. 2006 г.

Р е ц е н з е н т:

кандидат фармацевтических наук доцент Е.Е. Чупандина

Практикум по фармацевтической химии: методическое пособие по специальности 060108 «Фармация» / сост. А.И. Сливкин, Т.А. Брежнева, Е.Ф. Сафонова . – Воронеж : Воронежский государственный университет, 2006. – 129 с.
ISBN

Методическое пособие разработано на кафедре фармацевтической химии и фармацевтической технологии Воронежского государственного университета и рекомендуется для студентов 3 курса дневного отделения и 4 курса вечернего отделения ВПО фармацевтического факультета.

УДК 615.322 (076.5)

ISBN

© Составление. Сливкин А.И., Брежнева Т.А., 2006
© Воронежский государственный университет, 2006

СОДЕРЖАНИЕ

V семестр д/о, VII семестр в/о

Тема 1. ГАЛОГЕНОПРОИЗВОДНЫЕ АЦИКЛИЧЕСКИХ АЛКАНОВ. СПИРТЫ И ЭФИРЫ	5
Тема 2. АЛЬДЕГИДЫ И ИХ ПРОИЗВОДНЫЕ. УГЛЕВОДЫ	8
Тема 3. КАРБОНОВЫЕ КИСЛОТЫ И ИХ ПРОИЗВОДНЫЕ. ЛАКТОНЫ НЕНАСЫЩЕННЫХ ПОЛИГИДРОКСИКАРБОНОВЫХ КИСЛОТ	14
Тема 4. АМИНОКИСЛОТЫ И ИХ ПРОИЗВОДНЫЕ	22
Тема 5. ПРОИЗВОДНЫЕ ЛАКТАМИДОВ. ПЕНИЦИЛЛИНЫ И ЦЕФАЛОСПОРИНЫ	25

VI семестр д/о, VIII семестр в/о

Тема 1. ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ	32
Тема 2. ПРОИЗВОДНЫЕ ЦИКЛОПЕНТАНПЕРГИДРОФЕНАНТРЕНА. КАЛЬЦИФЕРОЛЫ. АРДЕНОЛИДЫ	39
Тема 3. ТЕРПЕНЫ	59
Тема 4. ФЕНОЛЫ И ИХ ПРОИЗВОДНЫЕ	67
Тема 5. АРОМАТИЧЕСКИЕ КИСЛОТЫ И ИХ ПРОИЗВОДНЫЕ. ПРОИЗВОДНЫЕ ПАРАМИНОФЕНОЛА	72

Тема 6. ЛЕКАРСТВЕННЫЕ СРЕДСТВА. ПРОИЗВОДНЫЕ АРОМАТИЧЕСКИХ АМИНОКИСЛОТ. ДИЭТИЛАМИНОАЦЕТАНИЛИДЫ	85
Тема 7. ФЕНИЛАЛКИЛАМИНЫ И ИХ ПРОИЗВОДНЫЕ. ГИДРОКСИФЕНИЛАЛКИЛАМИНЫ И ИХ ПРОИЗВОДНЫЕ	93
Тема 8. ГИДРОКСИФЕНИЛАЛИФАТИЧЕСКИЕ АМИНОКИСЛОТЫ. НИТРОФЕНИЛАЛКИЛАМИНЫ. АМИНОДИБРОМФЕНИЛАЛКИЛАМИНЫ	99
Тема 9. СУЛЬФАНИЛАМИДЫ И ИХ ПРОИЗВОДНЫЕ	107
Тема 10. ЗАМЕЩЕННЫЕ СУЛЬФОНИЛМОЧЕВИНЫ. БИГУАНИДЫ.....	111
Тема 11. ПРОИЗВОДНЫЕ БЕНЗОЛСУЛЬФОХЛОРАМИДА И АМИДА ХЛОРБЕНЗОЛСУЛЬФОНОВОЙ КИСЛОТЫ И БЕНЗОТИАДИАЗИНА.....	117
ЛИТЕРАТУРА	125
ПРИЛОЖЕНИЯ.....	127

У СЕМЕСТР Д/О, VII СЕМЕСТР В/О

Тема 1.

ГАЛОГЕНОПРОИЗВОДНЫЕ АЦИКЛИЧЕСКИХ АЛКАНОВ. СПИРТЫ И ЭФИРЫ

ЛЕКАРСТВЕННЫЕ СРЕДСТВА, ПРЕДЛАГАЕМЫЕ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ:

Галогенопроизводные ациклических алканов: хлорэтил, галотан (фторотан);

Спирты: спирт этиловый (этанол), глицерол (глицерин);

Эфиры: диэтиловый эфир (эфир медицинский и эфир для наркоза), нитроглицерин, дифенгидрамина гидрохлорид (димедрол)

АКТУАЛЬНОСТЬ ТЕМЫ: Лекарственные вещества группы оказывают разнообразное фармакологическое действие и применяются как средства для наркоза (хлорэтил, галотан, эфир для наркоза); как растворители и экстрагенты (эфир медицинский, спирт этиловый); как антисептическое и раздражающее средство (спирт этиловый); как смягчающее средство и компонент основы для приготовления мазей, мылец и другие лекарственных форм (глицерол); как антиангинальное, гипотензивное, спазмолитическое (коронарорасширяющее) средство (нитроглицерин); как седативное, противогистаминное средство (димедрол).

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА

Контроль качества лекарственных средств, содержащих спирты и эфиры

Цель работы: Освоить методы оценки качества лекарственных средств, содержащих спирты и эфиры.

Задание 1. Написать формулы, латинские и химические названия ароматических кислот и их производных, предложенных для изучения, описать их внешний вид, физические свойства и применение. Ответ оформить в виде таблицы (Приложение 1).

Задание 2. Изучить и провести качественные реакции на лекарственные средства группы, результаты занести в протокол (Приложение 2)

а) *Провести реакции подлинности на спирт этиловый.*

Методики. 1. **Реакция образования эфиров.** 2 мл спирта смешивают с 0,5 мл ледяной уксусной кислоты, 1 мл концентрированной серной кислоты и нагревают до кипения – появляется характерный запах этилацетата.

2. **Йодоформная проба.** 0,5 мл препарата смешивают с 5 мл раствора гидроксида натрия, прибавляют 2 мл 0,1 н. раствора йода – появляется запах, напо-

минающий запах хлороформа, и постепенно образуется желтый осадок йодоформа.

б) *Провести реакции подлинности на глицерин.*

Методика. Реакция образования комплексных солей. К 5 мл 5 % раствора меди (II) сульфата прибавляют 1-2 мл раствора натрия гидроксида до образования осадка меди гидроксида, затем прибавляют раствор глицерина до растворения осадка. Получается интенсивно синего цвета раствор глицерата меди.

в) *Провести реакции подлинности на нитроглицерин.*

Методики. 1. Реакция окисления. 10 мл 1 % спиртового раствора нитроглицерина смешивают с 1 мл раствора натрия гидроксида и выпаривают на водяной бане до полного удаления спирта, остаток смешивают с 1,5 г измельченного гидросульфата калия и нагревают до вспенивания и начинающегося обугливания – появляется характерный острый запах акролеина.

2. Реакция на нитрат-ион. К нескольким каплям препарата прибавляют несколько капель раствора дифениламина – появляется синее окрашивание

Задание 3. Выполнить качественный и количественный анализ лекарственного средства

Спирт этиловый: 4 %, 70,95 %

Spiritus aethylicus 40, 70,95 %

Подлинность (качественные реакции)

1. 2 мл спирта смешивают с 0,5 мл ледяной уксусной кислоты, 1 мл концентрированной серной кислоты и нагревают до кипения – появляется характерный запах этилацетата.

2. 0,5 мл препарата смешивают с 5 мл раствора гидроксида натрия, прибавляют 2 мл 0,1 н. раствора йода – появляется запах, напоминающий запах хлороформа, и постепенно образуется желтый осадок йодоформа.

Количественное определение методом рефрактометрии

Рефрактометрический метод анализа основан на измерении показателей преломления растворов веществ. Метод рефрактометрии относится к экспресс-методам анализа. Простота и быстрота выполнения анализа, а также малые объемы растворов, затрачиваемые на одно определение (несколько капель), делают его незаменимым для внутриаптечного контроля экстермпоральных лекарственных препаратов.

Приборы, применяемые для определения показателя преломления, называются рефрактометрами. Определение проводится при температуре $20 \pm 0,3$ °С и длине волны линии D спектра натрия 589,3 нм. Показатель преломления, определенный при таких условиях, обозначается индексом n_D^{20} . Диапазон измеряе-

мых показателей преломления при измерении в проходящем свете 1,3-1,7. Точность измерения показателя преломления должна быть не ниже $\pm 2 \cdot 10^{-4}$. Рефрактометры тестируют по эталонным жидкостям, прилагаемым к приборам, или дистиллированной воде, для которой $n_D^{20} = 1,3330$. В водных растворах этилового спирта линейная зависимость показателя преломления и концентрации наблюдается в пределах до 50-60 %. При установлении содержания спирта в более концентрированных растворах следует их предварительно разбавить и при расчетах концентрации учитывать разведение.

При определении показателя преломления спиртоводных растворов следует на призму рефрактометра наносить не менее 5-7 капель и измерять величину n немедленно во избежание ошибки, связанной с летучестью спирта. Исследование необходимо проводить при температуре 20 °С. Если оно осуществляется при другой температуре, следует вносить поправку на температуру. Величины поправок показателя преломления на 1 °С представлены в табл. 1.

Таблица 1.1

**Показатели преломления спиртоводных растворов,
концентрация которых выражена в об. %**

Концентрация спирта	n при 20°С	Поправка на 1 % спирта	Температурный коэф.	Концентрация спирта	n при 20°С	Поправка на 1 % спирта	Температурный коэф.
0	1,33300		$1 \cdot 10^{-4}$	18	1,34270	$6,1 \cdot 10^{-4}$	$1,5 \cdot 10^{-4}$
1	1,33345	$4,5 \cdot 10^{-4}$	$1 \cdot 10^{-4}$	19	1,34330	$6,0 \cdot 10^{-4}$	$1,5 \cdot 10^{-4}$
2	1,33400	$5,5 \cdot 10^{-4}$	$1 \cdot 10^{-4}$	20	1,34390	$6,0 \cdot 10^{-4}$	$1,6 \cdot 10^{-4}$
3	1,33444	$4,4 \cdot 10^{-4}$	$1,1 \cdot 10^{-4}$	21	1,34452	$6,2 \cdot 10^{-4}$	$1,6 \cdot 10^{-4}$
4	1,33493	$4,9 \cdot 10^{-4}$	$1,1 \cdot 10^{-4}$	22	1,34512	$6,0 \cdot 10^{-4}$	$1,7 \cdot 10^{-4}$
5	1,33535	$4,2 \cdot 10^{-4}$	$1,2 \cdot 10^{-4}$	23	1,34573	$6,1 \cdot 10^{-4}$	$1,8 \cdot 10^{-4}$
6	1,33587	$5,2 \cdot 10^{-4}$	$1,2 \cdot 10^{-4}$	24	1,34635	$6,2 \cdot 10^{-4}$	$1,9 \cdot 10^{-4}$
7	1,33541	$5,4 \cdot 10^{-4}$	$1,3 \cdot 10^{-4}$	25	1,34697	$6,2 \cdot 10^{-4}$	$2,0 \cdot 10^{-4}$
8	1,33700	$5,9 \cdot 10^{-4}$	$1,3 \cdot 10^{-4}$	30	1,35000	$6,0 \cdot 10^{-4}$	$2,0 \cdot 10^{-4}$
9	1,33760	$6,0 \cdot 10^{-4}$	$1,3 \cdot 10^{-4}$	35	1,35320	$6,4 \cdot 10^{-4}$	$2,1 \cdot 10^{-4}$
10	1,33808	$4,8 \cdot 10^{-4}$	$1,4 \cdot 10^{-4}$	40	1,35500	$4,0 \cdot 10^{-4}$	$2,4 \cdot 10^{-4}$
11	1,33870	$6,2 \cdot 10^{-4}$	$1,4 \cdot 10^{-4}$	45	1,35700	$4,0 \cdot 10^{-4}$	$2,4 \cdot 10^{-4}$
12	1,33924	$5,4 \cdot 10^{-4}$	$1,4 \cdot 10^{-4}$	50	1,35900	$4,0 \cdot 10^{-4}$	$2,6 \cdot 10^{-4}$
13	1,33977	$5,3 \cdot 10^{-4}$	$1,4 \cdot 10^{-4}$	55	1,36060	$3,2 \cdot 10^{-4}$	$2,6 \cdot 10^{-4}$
14	1,34043	$6,6 \cdot 10^{-4}$	$1,4 \cdot 10^{-4}$	60	1,36180	$2,4 \cdot 10^{-4}$	$3,4 \cdot 10^{-4}$
15	1,34096	$5,3 \cdot 10^{-4}$	$1,5 \cdot 10^{-4}$	65	1,36300	$2,4 \cdot 10^{-4}$	$3,6 \cdot 10^{-4}$
16	1,34158	$6,2 \cdot 10^{-4}$	$1,5 \cdot 10^{-4}$	70	1,36380	$1,6 \cdot 10^{-4}$	$3,8 \cdot 10^{-4}$
17	1,34204	$5,1 \cdot 10^{-4}$	$1,5 \cdot 10^{-4}$	75	1,36450	$1,4 \cdot 10^{-4}$	$4,0 \cdot 10^{-4}$

Если определение проводится при температуре выше 20 °С, то поправку прибавляют к найденной величине показателя преломления; если анализ проводится при температуре ниже 20 °С, поправку вычитают.

По табл. 1 определяют соответствующую данному показателю преломления концентрацию спирта. Найденной величины показателя преломления (1,35482) в таблице нет; близкому по величине показателю преломления 1,35500 соответствует 40 % спирта. Необходимо определить, какая концентрация спирта соответствует разности показателей преломления: $1,35500 - 1,35482 = 0,00018$. Поправка на 1 % спирта равна $4,0 \cdot 10^{-4}$. Следовательно, $0,00018 / 0,0004 = 0,45$ %. Таким образом, истинное содержание спирта в исследуемом растворе 39,55 % (40-0,45).

Для определения концентрации этилового спирта в 70 %-ных спиртовых растворах разведение проводят обычно 1:2, а в 95 %-ном спирте – 1:3. При этом необходимо учитывать, что при смешивании спирта с водой объем раствора несколько уменьшается, в связи с чем следует вносить поправку к фактору разведения: при смешивании 1 мл спирта с 2 мл воды – на 2,98 (вместо 3); при смешивании 1 мл спирта с 3 мл воды – на 3,93 (вместо 4). После соответствующего разведения определяют показатель преломления полученного раствора. Если необходимо, вносят поправку на температуру и находят концентрацию спирта в приготовленном растворе. Для установления крепости спирта в 70 и 95 % растворе найденное значение концентрации умножают на коэффициент разведения.

Тема 2.

АЛЬДЕГИДЫ И ИХ ПРОИЗВОДНЫЕ. УГЛЕВОДЫ

ЛЕКАРСТВЕННЫЕ СРЕДСТВА, ПРЕДЛАГАЕМЫЕ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ:

Альдегиды и их производные: раствор формальдегида (формалин), метенамин (гексаметилентетрамин, уротропин), хлоралгидрат;

Углеводы: глюкоза, сахароза, лактоза, галактоза, крахмал.

АКТУАЛЬНОСТЬ ТЕМЫ: Лекарственные средства, содержащие альдегиды и углеводы, применяются в медицинской практике в составе различных лекарственных форм промышленного и внутриаптечного производства.

Изучаемые лекарственные средства оказывают разнообразное фармакологическое действие: антисептическое (раствор формальдегида); уроантисептическое (метенамин); снотворное, противосудорожное (хлоралгидрат). Глюкозу применяют в качестве источника легко усвояемого питания; сахарозу и лактозу – в качестве наполнителей при приготовлении некоторых лекарственных форм; галактозу в виде суспензии для визуализации полостей при УЗИ, эхокардиографии и др.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА

Контроль качества лекарственных средств, содержащих альдегиды и углеводы

Цель работы: Освоить методы оценки качества лекарственных средств, содержащих альдегиды и углеводы

Задание 1. Написать формулы, латинские и химические названия альдегидов и их производных, а так же углеводов, предложенных для изучения, описать их внешний вид, физические свойства и применение. Ответ оформить в виде таблицы (Приложение 1).

Задание 2. Изучить и провести качественные реакции на лекарственные средства группы, результаты занести в протокол (Приложение 2).

а) Провести реакции подлинности на формальдегид

Методики. 1. **Реакция «серебряного зеркала».** К 1 мл 0,1 М раствора серебра нитрата прибавляют 5-6 капель раствора аммиака, 3 капли раствора формальдегида и нагревают на водяной бане при 50-60 °С. Образуется металлическое серебро в виде серого осадка или зеркала.

2. **Реакция образования ауринового красителя.** К 5 мл концентрированной кислоты серной прибавляют 0,01-0,02 г кислоты салициловой, 2-3 капли раствора формальдегида и нагревают на водяной бане 1 мин. Появляется красное окрашивание.

б) Провести реакции подлинности на гексаметилентетрамин.

Методики. 1. **Реакция гидролиза.** 2 мл раствора препарата (1:10) нагревают с 2 мл разведенной серной кислоты, появляется запах формальдегида. Затем прибавляют 2 мл 30 % раствора натрия гидроксида и снова нагревают – появляется запах аммиака.

2. **Реакция образования ауринового красителя.** К 2-3 каплям раствора препарата (1:10) прибавляют 0,01 г кислоты салициловой или натрия салицилата и 2-3 капли концентрированной серной кислоты; появляется розовое окрашивание.

в) Провести реакции подлинности на глюкозу.

Методики определения глюкозы основаны на ее свойствах как альдегида (реакции окисления) и как многоатомного спирта (реакция образования комплексных солей с тяжелыми металлами). В качестве реактивов-окислителей обычно используют реактив Фелинга или реактив Толленса. Реакцию проводят в слабощелочной среде, глюкоза в этих условиях окисляется до глюконовой кислоты, чтобы ускорить процесс – реакцию смесь нагревают. При действии концентрированных серной или хлороводородной кислоты глюкоза преобразуется в оксиметилфурфурол, который одновременно взаимодействует с каким-

либо фенолом или ароматическим амином (резорцином, тимолом, нафтолами, нафтиламином и др.) с образованием окрашенных продуктов конденсации (имеющих синий или красный цвет в зависимости от структуры фенола или амина).

Методики. 1. **Реакция окисления реактивом Фелинга.** К раствору 0,2 г препарата прибавляют 10 мл реактива Фелинга и нагревают до кипения – выпадает кирпично-красный осадок меди (I) оксида.

2. К нескольким кристалликам глюкозы прибавляют кристаллик резорцина и смачивают концентрированной кислотой (серной или хлороводородной), образуется красно-фиолетовое окрашивание.

3. **Реакция образования комплексных солей.** К 5 мл 5 % раствора меди (II) сульфата прибавляют 1-2 мл раствора натрия гидроксида до образования осадка меди гидроксида, затем прибавляют раствор глюкозы до растворения осадка. Получается раствор интенсивно синего цвета.

в) *Провести реакции подлинности на хлоралгидрат.*

Методика. К 0,5 мл 10 % раствора препарата прибавляют 1 мл раствора натрия гидроксида и взбалтывают. Выделяется хлороформ, обнаруживаемый по запаху. Затем добавляют несколько кристалликов резорцина и нагревают. Появляется розовое окрашивание.

Задание 3. Выполнить качественный и количественный анализ лекарственного средства. Результаты испытаний оформить в виде протокола (Приложения 2, 3, 4).

Раствор формальдегида (формалин)
Solutio Formaldehydi (formalinum)

Подлинность (качественные реакции)

1. К 1 мл 0,1М раствора серебра нитрата прибавляют 5-6 капель раствора аммиака, 3 капли раствора формальдегида и нагревают на водяной бане при 50-60 °С. Образуется металлическое серебро в виде серого осадка или зеркала.

2. К 5 мл концентрированной кислоты серной прибавляют 0,01-0,02 г кислоты салициловой, 2-3 капли раствора формальдегида и нагревают на водяной бане 1 мин., появляется красное окрашивание.

Количественное определение

Около 1 г препарата (точная масса навески) помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводят объем водой до метки. Переносят 1 мл полученного раствора в колбу с притертой пробкой, прибавляют 4 мл 0,1 н. раствора йода, 2 мл 0,1 н. раствора натрия гидроксида, взбалтывают и оставляют в темном месте на 10 мин. Затем добавляют 2,5 мл 0,5 н. раствора кислоты серной и

выделившийся йод титруют 0,1 н. раствором натрия тиосульфата до обесцвечивания (индикатор – крахмал).

1 мл 0,1 н. раствора натрия тиосульфата соответствует 0,001501 г формальдегида, которого в препарате должно быть 36,5-37,5 %.

Расчет содержания формальдегида в препарате (%) проводят по формуле:

$$X = \frac{V_0 K_0 - V K ; T \cdot V_1 \cdot 100}{a \cdot V_2},$$

где:

a - навеска препарата, взятая для определения, г (1 г);

V_1 - объем раствора препарата первого разведения, мл (100 мл);

V_2 - объем аликвотной части разведения, взятый для определения, мл (1 мл);

V_0 - объем избытка стандартного раствора (I_2), реагирующего с определяемым веществом, мл (4 мл);

V - объем стандартного раствора ($Na_2S_2O_3$), пошедший на титрование избытка раствора I_2 , мл;

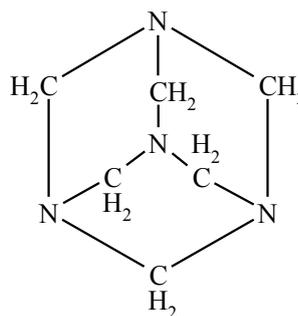
K_0, K - поправочные коэффициенты к титру стандартных растворов I_2 и $Na_2S_2O_3$, соответственно;

T - титр титранта по определяемому веществу.

Задание 4. Выполнить качественный и количественный анализ лекарственных форм. Результаты испытаний оформить в виде протокола (Приложения 2, 3, 4).

Растворы гексаметилентетрамина 10, 2 % - 50 мл

Solutio Hexamethylentetramini 10, 2 % - 50 ml



$C_6H_{12}N_4$

Подлинность (качественные реакции)

К 2-3 каплям раствора прибавляют 0,01 г (для 10 %) или 0,02-0,03 г (для 2 %) салициловой кислоты или натрия салицилата и 2 - 3 капли концентрированной серной кислоты, появляется розовое окрашивание.

Количественное определение

5 мл 10 % раствора помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводят объем раствора водой до метки. К 2 мл разведенного раствора прибавляют 2 мл воды, 2 капли раствора метилового оранжевого, 1 каплю раствора метилевого синего и титруют 0,1 н. раствором хлороводородной кислоты до фиолетового окрашивания.

1 мл 0,1 н. раствора хлороводородной кислоты соответствует 0,0140 г гексаметилентетрамина.

Для анализа 2 % раствора берут 1 мл раствора гексаметилентетрамина, прибавляют 2 капли раствора метилового оранжевого, 1 каплю раствора метилевого синего и титруют 0,1 н. раствором хлороводородной кислоты до фиолетового окрашивания.

Количественное содержание гексаметилентетрамина (х, %) в 10 % растворе рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{V \cdot K \cdot T \cdot V_1 \cdot 100}{a \cdot V_2},$$

где:

a - объем раствора гексаметилентетрамина, взятый для определения, мл (5мл);

V_1 - объем раствора препарата после первого разведения, мл (50 мл);

V_2 - объем аликвотной части разведения, взятый для титрования, мл (2 мл);

V - объем титранта (HCl), пошедший на титрование;

K - поправочный коэффициент к концентрации раствора титранта ;

T - титр титранта по определяемому веществу.

Количественное содержание гексаметилентетрамина в 2 % растворе рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{V \cdot K \cdot T \cdot 100}{a},$$

где:

a - объем раствора гексаметилентетрамина, взятый для определения, мл (1 мл);

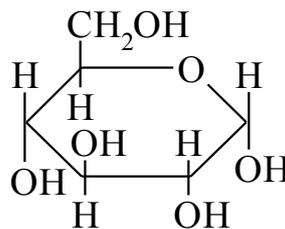
V - объем титранта (HCl), пошедший на титрование;

K - поправочный коэффициент к концентрации раствора титранта ;

T - титр титранта по определяемому веществу.

Задание 4. Выполнить качественный и количественный анализ лекарственной формы. Результаты испытаний оформить в виде протокола (Приложения 2, 3, 4)

Раствор глюкозы 5 % - 100 мл
Solutio glucosi 5 % - 100 ml



$C_6H_{12}O_6$.

Подлинность (качественные реакции)

1. К 2-4 каплям раствора прибавляют 0,5 мл реактива Фелинга и нагревают; образуется кирпично-красный осадок.

2. 3-5 капель раствора выпаривают в фарфоровой чашке на водяной бане досуха. После охлаждения к остатку прибавляют 0,01 г тимола, 5-6 капель концентрированной кислоты серной и 1-2 капли воды; появляется фиолетовое окрашивание.

Количественное определение

1 мл раствора разводят дистиллированной водой до объема 10 мл. К 2 мл полученного раствора, помещенного в пробирку, прибавляют 2 мл 0,1 н. раствора йода, 4 капли 10 % раствора натрия гидроксида, закрывают пробирку пробкой и реакционную смесь оставляют стоять в темном месте 5 мин. Далее прибавляют 0,5 мл разведенной кислоты хлороводородной и титруют выделившийся йод 0,1 н. раствором натрия тиосульфата. Параллельно проводят контрольный опыт.

1 мл 0,1 н. раствора йода соответствует 0,009906 г (водной) глюкозы или 0,009006 г (безводной) глюкозы.

Количественное содержание глюкозы (x, %) в растворе рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{(V_0 - V) \cdot K \cdot T \cdot V_1 \cdot 100}{aV_2},$$

где:

a - аликвота препарата, взятая для определения, мл (1 мл);

V_1 - объем раствора препарата первого разведения, мл (10 мл);

V_2 - объем аликвотной части разведения, взятый для определения, мл (2 мл);

V_0 - объем стандартного раствора ($Na_2S_2O_3$), пошедший на титрование раствора I_2 в контрольном опыте, мл;

V - объем стандартного раствора ($Na_2S_2O_3$), пошедший на титрование избытка раствора I_2 , мл;

K - поправочный коэффициент к титру стандартного раствора $Na_2S_2O_3$;

T - титр титранта по определяемому веществу.

Тема 3.
КАРБОНОВЫЕ КИСЛОТЫ И ИХ ПРОИЗВОДНЫЕ.
ЛАКТОНЫ НЕНАСЫЩЕННЫХ ОЛИГИДРОКСИКАРБОНОВЫХ
КИСЛОТ

ЛЕКАРСТВЕННЫЕ СРЕДСТВА, ПРЕДЛАГАЕМЫЕ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ:

Соли карбоновых кислот: калия ацетат, кальция лактат, кальция глюконат, натрия цитрат, натрия вальпроат;

Лактоны ненасыщенных полигидроксикарбоновых кислот: кислота аскорбиновая

АКТУАЛЬНОСТЬ ТЕМЫ: Лекарственные средства изучаемой группы широко применяются в медицинской практике в составе однокомпонентных и многокомпонентных лекарственных форм промышленного и внутриаптечного производства.

Калия ацетат используют в качестве источника ионов калия и диуретического средства. Натрия цитрат как антиагрегационное средство и консервант крови. Кальция лактат и глюконат находят применение как источник ионов кальция и антиаллергические средства. Натрия вальпроат - как противоэпилептическое средство.

Кислоту аскорбиновую применяют как витамин С в профилактических и лечебных целях.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА

Контроль качества экстенпоральных лекарственных форм, содержащих соли карбоновых кислот и производные лактонов

Цель работы: Освоить методы оценки качества лекарственных средств, содержащих соли карбоновых кислот и производные лактонов.

Задание 1. Написать формулы, латинские и химические названия солей карбоновых кислот и аскорбиновой кислоты, предложенных для изучения, описать их внешний вид, физические свойства и применение. Ответ оформить в виде таблицы (Приложение 1).

Задание 2. Изучить и провести качественные реакции на лекарственные средства группы, результаты занести в протокол (Приложение 2).

Образование комплексных соединений с солями тяжелых металлов

Характерной качественной реакцией на карбоновые кислоты и их соли является реакция с солями некоторых тяжелых металлов, в результате которой образуются окрашенные осадки или растворы комплексных соединений.

а) *Реакция с железа (III) хлоридом.*

Методика. К 2 мл раствора калия ацетата (1:10) прибавляют 0,5 мл раствора железа (III) хлорида – наблюдается красно-бурое окрашивание;

К 5 мл раствора кальция глюконата (1:50) прибавляют 2 капли раствора железа (III) хлорида – наблюдается светло-зеленое окрашивание.

б) *Провести реакции подлинности на калия ацетат.*

Методики. 1. **Реакция образования сложных эфиров (на ацетат-анион).** 2 мл калия ацетата (1:10) нагревают с 2 мл концентрированной серной кислоты и 0,5 мл 95 % спирта. Ощущается запах этилацетата.

2. Раствор препарата дает характерные реакции на ион калия.

в) *Провести реакции подлинности на кальция лактат.*

Методика: **На лактатанион.** 0,25 г препарата растворяют в 5 мл воды, подкисляют 16 % кислотой серной, прибавляют раствор калия перманганата до красно-фиолетового окрашивания и нагревают – появляется запах ацетальдегида.

1. **На ион кальция.** К 1 мл раствора препарата прибавляют раствор оксалата аммония – образуется белый осадок, нерастворимый в уксусной кислоте, растворимый в разведенных минеральных кислотах.

г) *Провести реакции подлинности на натрия цитрат.*

Методики. **На цитрат-анион.** 0,25 г препарата растворяют в 3 мл воды и прибавляют 1 мл раствора кальция хлорида. Образующийся цитрат кальция растворим при комнатной температуре, но выпадает в осадок при кипячении раствора. Осадок растворим в кислоте хлороводородной

2. **На ион натрия.** Раствор препарата дает характерные реакции на ион натрия.

д) *Провести реакции подлинности на кислоту аскорбиновую.*

В основе качественного и количественного анализа кислоты аскорбиновой лежат ее кислотные и восстановительные свойства.

Методики. Реакции кислотного типа

1. **Реакция солеобразования.** К раствору 0,05 г препарата в 2 мл воды прибавляют 0,1 г гидрокарбоната натрия и около 0,02 г железа (II) сульфата, встряхивают и оставляют стоять. Появляется темно-фиолетовое окрашивание, исчезающее при добавлении 5 мл 16 % серной кислоты.

Реакции окисления:

2. При добавлении к 5 мл 2 % раствора кислоты аскорбиновой 4 мл раствора Фелинга образуется оранжево-желтый осадок оксида меди (1).

3. При добавлении к 5 мл водного раствора препарата по каплям 0,05М раствора йода происходит обесцвечивание последнего.

4. При добавлении к 2 мл 2 % водного раствора препарата 2-3 капель разведенной соляной кислоты, 1 мл 5 % раствора гексацианоферрата (III) калия и 2 мл раствора хлорида железа (II) – образуется синее окрашивание.

5. При добавлении к 5 мл раствора лекарственного вещества по каплям раствора калия перманганата происходит обесцвечивание последнего.

6. 0,05 г препарата растворяют в 2 мл воды и прибавляют 0,5 мл раствора серебра нитрата – выпадает темный осадок.

Задание 3. Выполнить качественный и количественный анализ многокомпонентной лекарственной формы аптечного производства, содержащей соли карбоновых кислот. Результаты испытаний оформить в виде протокола (Приложения 2, 3, 4).

Пропись № 1

Димедрола	0,001	<i>Dimedroli</i>	0,001
Кальция глюконата	0,01	<i>Calcii gluconatis</i>	0,01
Сахара	0,1	<i>Sacchari</i>	0,1

1. Установить подлинность лекарственных веществ, содержащихся в лекарственной форме

1.А. *Димедрол*. К 0,01 г лекарственной формы, помещенной на часовое стекло, прибавляют 2-3 капли концентрированной серной кислоты. Появляется желтое окрашивание, исчезающее при добавлении 2-3 капель воды.

1.Б. *Кальция глюконат*. К 0,05 г лекарственной формы прибавляют 1 мл разведенной уксусной кислоты, нагревают до кипения, охлаждают и добавляют 3-5 капель оксалата аммония. Образуется белый осадок, нерастворимый в растворе гидроксида аммония и растворимый в разведенных минеральных кислотах.

1.В. *Сахар*. К 0,005 г лекарственной формы прибавляют 1-2 мл разведенной соляной кислоты и несколько кристаллов резорцина. При кипячении смеси в течение 1 мин появляется красное окрашивание.

2. Выполнить количественное определение

2.А. *Димедрол*. К 0,5 г лекарственной формы прибавляют 5 мл воды, 2 мл разведенной азотной кислоты, 3 мл 0,02 н. раствора нитрата серебра, 1 мл раствора железоаммонийных квасцов. Избыток нитрата серебра оттитровывают 0,02 н. раствором тиоцианата аммония до розового окрашивания.

1 мл 0,02 н. раствора нитрата серебра соответствует 0,005836 г. димедрола.

Содержание димедрола в лекарственной форме (X_1 , г) рассчитывают по формуле:

$$X_1 = \frac{C_0 K_0 - V_1 K_1 \overline{T}_1 b}{a_1},$$

где:

a_1 - навеска лекарственной формы, г (0,5 г);

b - средняя масса лекарственной формы;

V_0 - объем избытка стандартного раствора 0,02 н. AgNO_3 , реагирующего с определяемым веществом, мл. (3 мл);

V_1 - объем стандартного раствора 0,02 н. NH_4SCN , пошедший на титрование избытка раствора AgNO_3 , мл;

K_0, K_1 - поправочные коэффициенты к титрам стандартных растворов AgNO_3 и NH_4SCN , соответственно;

T_1 - титр титранта по определяемому веществу.

2.Б. *Кальция глюконат*. К 0,2 г лекарственной формы добавляют 10 мл воды при нагревании. После охлаждения прибавляют 10 мл аммиачного буферного раствора, 0,02 г индикаторной смеси кислотного хром темно-синего и титруют 0,05 М раствором трилона Б до сине-фиолетового окрашивания.

1 мл 0,05 М раствора трилона Б соответствует 0,02242 г кальция глюконата.

Содержание кальция глюконата в лекарственной форме (X_2 , г) рассчитывают по формуле:

$$X_2 = \frac{V_2 \cdot K_2 \cdot T_2 \cdot b}{a_2},$$

a_2 - навеска лекарственной формы, взятая для определения, г (0,2 г);

b - масса лекарственной формы, г (0,1+0,01+0,001 г);

V_2 - объем стандартного раствора (0,05 М Трилона Б), пошедший на титрование, мл;

K_2 - поправочный коэффициент к титру раствора Трилона Б;

T_2 - титр титранта по определяемому веществу.

2.В. *Сахар*. Определяют рефрактометрическим методом. Для этого к 0,2 г лекарственной формы добавляют 10 мл воды при нагревании; 1 каплю полученного раствора лекарственной формы наносят на призму рефрактометра и определяют показатель преломления.

Содержание сахара (X_3 , г) в граммах вычисляют по формуле:

$$X_3 = \frac{(n - n_0) \cdot F_2 \cdot C_{2,1} \cdot b \cdot V_p}{F_3 \cdot a \cdot 100},$$

где:

n - показатель преломления анализируемого раствора;

n_0 - показатель преломления воды;

F_2 - фактор показателя преломления раствора кальция глюконата; ($F_2=0,00216$ - справочное данное);

F_3 - фактор показателя преломления раствора сахарозы;

($F_3=0,00143$ - справочное данное);

A - масса навески порошка, взятой для анализа (0,2 г);

B - средняя масса порошка, г;

V_p - общий объем разведения (10 мл);

C_2 - концентрация кальция глюконата в анализируемом растворе, выраженная в процентах и вычисляемая по формуле:

$$C_2 = \frac{a \cdot X_2 \cdot 100}{bV_p},$$

где:

a - масса навески порошка, взятой для анализа (0,2 г);

b - средняя масса порошка, г;

V_p - общий объем разведения (10 мл);

X_2 - количество кальция глюконата в порошке, определенное химическим методом, г.

Задание 4. Выполнить качественный и количественный анализ лекарственной формы. Результаты испытаний оформить в виде протокола (Приложения 2, 3, 4).

Пропись № 2

Кислоты аскорбиновой	0,1	<i>Acidi ascorbinici</i>	0,1
Глюкозы	0,5	<i>Glucosi</i>	0,5

Подлинность (качественные реакции)

Кислота аскорбиновая. 1. К 0,01 г порошка прибавляют 2-3 капли воды, по 1-2 капли гексацианоферрата (III) калия и железа (III) хлорида. Появляется синее окрашивание.

2. К 0,01 г порошка прибавляют 3-5 капель воды и 2-3 капли раствора серебра нитрата. Выделяется металлическое серебро в виде серого осадка.

Глюкоза. 3. К 0,01 г порошка прибавляют 0,01 г тимола, 5-6 капель концентрированной кислоты серной и 1-2 капли воды. Появляется фиолетово-красное окрашивание.

Количественное определение

Кислота аскорбиновая. 0,05 г порошка растворяют в 1-2 мл воды и титруют 0,1 н. раствором натрия гидроксида до розового окрашивания (индикатор — фенолфталеин).

1 мл 0,1 н. раствора натрия гидроксида соответствует 0,0176 г кислоты аскорбиновой.

Расчет содержания кислоты аскорбиновой (X_1 , г) в граммах в лекарственной форме проводят по формуле:

$$X_1 = \frac{V \cdot K \cdot T \cdot b}{a},$$

где:

V - объем стандартного раствора (0,1н. NaOH), пошедший на титрование, мл;

a - масса навески порошка, взятой на определение (0,05 г);

b - средняя масса порошка, г;

K - поправочный коэффициент к концентрации титранта;

T - титр стандартного раствора по определяемому веществу.

Глюкоза. Растворяют 0,3 г порошка в 1-1,5 мл воды, объем доводят водой до 2 мл и определяют показатели преломления раствора (n) и воды (n_0) при 20 °С.

Расчет содержания глюкозы (X_2 , %) в граммах в лекарственной форме проводят по формуле:

$$X_2 = \frac{(n - n_0) \cdot F_1 \cdot C_1 \cdot b \cdot V_p \cdot 1,11}{F_2 \cdot a \cdot 100},$$

где:

n - показатель преломления анализируемого раствора;

n_0 - показатель преломления воды;

F_1 - фактор показателя преломления раствора кислоты аскорбиновой ($F_1=0,00160$ - справочное данное);

F_2 - фактор показателя преломления раствора глюкозы безводной ($F_2=0,00142$ - справочное данное);

a - масса навески порошка, взятой для анализа (0,3 г);

b - средняя масса порошка, г;

V_p - общий объем разведения (2 мл);

1,11- коэффициент пересчета на водную глюкозу при содержании 11 % влаги в препарате;

C_1 - концентрация кислоты аскорбиновой в анализируемом растворе, выраженная в процентах и вычисляемая по формуле:

$$C_1 = \frac{a \cdot X_1 \cdot 100}{b V_p},$$

где:

a - масса навески порошка, взятой для анализа (0,3 г);

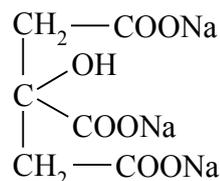
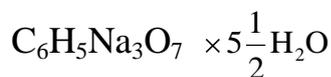
b - средняя масса порошка, г;

V_p - общий объем разведения (2 мл);

X_1 - количество аскорбиновой кислоты в порошке, определенное химическим методом, г.

Задание 5. Выполнить количественный анализ лекарственного препарата, производного карбоновых кислот алифатического ряда. Результаты испытания оформить в виде таблицы (Приложение 3).

Натрия цитрат для инъекций
Natrii citras pro injectionibus

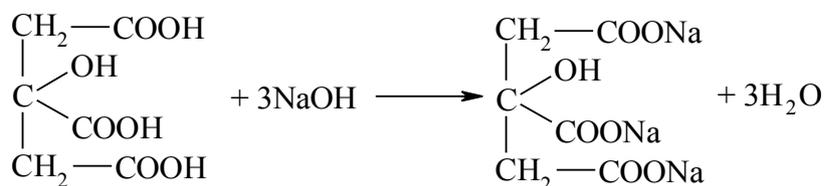
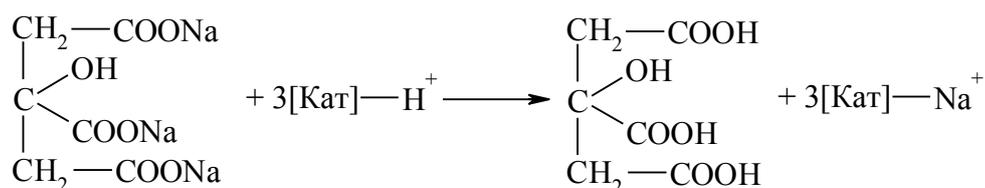


Количественное определение натрия цитрата

Около 1 г препарата (точная масса) растворяют в свежeproкипяченной и охлажденной воде в мерной колбе вместимостью 100 мл и доводят объем водой до метки. Отмеривают 10 мл полученного раствора, количественно переносят на колонку с катионитом КУ-2 в Н-форме. Жидкости дают стекать из колонки со скоростью 20-25 капель в 1 мин. Затем колонку промывают свежeproкипяченной и охлажденной водой (50-70 мл) до нейтральной реакции по метиловому оранжевому. Фильтрат и промывную воду собирают в колбу и титруют 0,05 н. раствором гидроксида натрия (индикатор- фенолфталеин).

Метод основан на использовании для анализа некоторых полимерных органических соединений (ионообменных сорбентов). В своей структуре катионит КУ-2 содержит ионогенные (катионообменные) группы, способные к обмену ионами (сульфогруппы —SO₃H; оксифенильные группы).

При количественном определении натрия цитрата используют катионит в Н-форме. Путем обмена ионов натриевую соль переводят в лимонную кислоту, затем ее количественно оттитровывают в элюате 0,05 н. раствором гидроксида натрия:



1 мл 0,05 н. раствора гидроксида натрия соответствует 0,004301 г натрия цитрата, которого в пересчете на сухое вещество должно быть не менее 99,0 % и не более 101,0 %.

Содержание натрия цитрата в препарате (X, %) рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{V \cdot K \cdot T \cdot V_1 \cdot 100}{a \cdot V_2},$$

где:

X - содержание натрия цитрата в препарате, %;

a - исходная навеска препарата, г (1 г);

V_1 - объем раствора препарата первого разведения, мл (100 мл);

V_2 - объем аликвотной части разведения, взятой для определения, мл (10 мл);

V - объем стандартного раствора (0,05 М NaOH), пошедший на титрование, мл;

K - поправочный коэффициент к титру стандартного раствора NaOH;

T - титр титранта по определяемому веществу.

Тема 4.

АМИНОКИСЛОТЫ И ИХ ПРОИЗВОДНЫЕ

ЛЕКАРСТВЕННЫЕ СРЕДСТВА, ПРЕДЛАГАЕМЫЕ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ:

Аминокислоты: кислота глутаминовая, кислота аминокaproновая, кислота гамма-аминомасляная (аминалон), цистеин, ацетилцистеин, метионин, пеницилламин, тетацин-кальций; Пирацетам (ноотропил);

Производные пролина: каптоприл, эналаприл;

Производное фенилаланина: мелфалан

АКТУАЛЬНОСТЬ ТЕМЫ: Лекарственные средства, содержащие аминокислоты, широко применяются в медицинской практике в составе однокомпонентных и многокомпонентных лекарственных форм промышленного и внутриаптечного производства.

Изучаемые лекарственные средства оказывают разнообразное фармакологическое действие: ноотропное, психотропное (кислоты гамма-аминомасляная и глутаминовая, пирацетам); гемостатическое (кислота аминокaproновая); муколитическое (ацетилцистеин); гипотензивное (каптоприл, эналаприл); противоопухолевое (мелфалан). Метионин применяют для лечения и профилактики токсических поражений печени; цистеин - для лечения катаракты; пеницилламин – как детоксицирующее средство, антидот.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА

Контроль качества лекарственных средств, содержащих аминокислоты и их производные

Цель работы: Освоить методы оценки качества лекарственных средств, содержащих аминокислоты и их производные

Задание 1. Написать формулы, латинские и химические названия аминокислот и их производных, предложенных для изучения, описать их внешний вид, физические свойства и применение. Ответ оформить в виде таблицы (Приложение 1).

Задание 2. Изучить и провести качественные реакции на лекарственные средства группы, результаты занести в протокол (Приложение 2).

а) Реакция с нингидрином (общегрупповая)

Характерной качественной реакцией на аминокислоты является реакция с нингидрином.

Первичные алифатические амины окисляются нингидрином при нагревании до альдегидов. Нингидрин восстанавливается на первой стадии до дикетооксигидриндена. Выделившийся аммиак конденсируется с нингидрином и его восстановленной формой с образованием красителя сине-фиолетового цвета (фиолетовый Руэмана)

Методика. 0,02 г препарата (кислота глутаминовая, кислота аминокапроновая и др.) растворяют в 1 мл воды, прибавляют 5-6 капель раствора нингидрина и нагревают до кипения – образуется краситель сине-фиолетового цвета.

б) Провести реакцию подлинности на глутаминовую кислоту.

Методика: Крупинку препарата нагревают в пробирке с кристалликом резорцина и 5 каплями концентрированной серной кислоты до появления зелено-коричневого окрашивания. После охлаждения прибавляют по 5 мл воды и раствора аммиака – появляется красно-фиолетовое окрашивание с зеленой флуоресценцией.

в) Провести реакции подлинности на метионин.

Методики. 1. К крупинке препарата прибавляют 3-4 капли воды, 1 каплю 10 % раствора ацетата натрия и 2 капли 2,5 % раствора ацетата меди – образуется сиренево-синий осадок.

2. В пробирке с 3-4 каплями 30 % раствора натрия гидроксида в течение 1 – 2 минут нагревают 0,01 г метионина. После охлаждения 1 каплю полученной смеси наносят на фильтровальную бумагу, смоченную 5 % раствором нитропруссиды натрия. Появляется малиново-красное окрашивание.

в) Провести реакции подлинности на цистеин.

Методики: 1. 0,05 г препарата растворяют в 1 мл воды и добавляют 1-2 капли раствора железа (III) хлорида – появляется быстро исчезающее сине-фиолетовое окрашивание

2. К 0,5-1 мл раствора цистеина прибавляют 2-3 капли раствора натрия гидроксида и 1-2 капли 1 % раствора нитропруссиды натрия – появляется красно-фиолетовое окрашивание.

Задание 3. Выполнить качественный и количественный анализ лекарственной формы, результаты оформить в виде протокола (Приложения 2, 3, 4).

Пропись №2

Кислоты глутаминовой
Сахара по 0,2

Acidi glutaminici
Sacchari ana 0,2

Подлинность (качественные реакции)

Глутаминовая кислота. 1. 0,03 г порошка растворяют при нагревании в 1 мл воды, прибавляют 3-5 капель 0,25 % раствора нингидрина и нагревают; появляется сине-фиолетовое окрашивание.

2. К 0,01 г порошка прибавляют 1-2 мл разведенной кислоты хлороводородной, несколько кристаллов резорцина и кипятят в течение 1 мин; появляется красное окрашивание.

Количественное определение

0,05 г порошка растворяют при нагревании в 1-2 мл воды. К охлажденному раствору прибавляют 1-2 капли бромтимолового синего и титруют 0,1 н. раствором натрия гидроксида до голубовато-зеленого окрашивания.

1 мл 0,1 н. раствора натрия гидроксида соответствует 0,01471 г кислоты глутаминовой.

Расчет содержания кислоты глутаминовой (X , г) в порошке проводят по формуле:

$$X = \frac{V \cdot K \cdot T \cdot b}{a},$$

где:

V - объем стандартного раствора (0,1н. NaOH), пошедший на титрование, мл;

a - масса навески порошка, взятой на определение (0,05 г);

b - средняя масса порошка, г;

K - поправочный коэффициент к концентрации титранта;

T - титр стандартного раствора по определяемому веществу.

Тема 5.

**ПРОИЗВОДНЫЕ β -ЛАКТАМИДОВ.
ПЕНИЦИЛЛИНЫ И ЦЕФАЛОСПОРИНЫ**

ЛЕКАРСТВЕННЫЕ СРЕДСТВА, ПРЕДЛАГАЕМЫЕ ДЛЯ ИЗУЧЕНИЯ:

Пенициллины: бензилпенициллин, его натриевая, калиевая и новокаиновая соли, бензатин-бензилпенициллин (бициллин-1), феноксиметилпенициллин, оксациллина натриевая соль, ампициллин, карбенициллина динатриевая соль, амоксициллин;

Цефалоспорины: цефалексин, цефалоридин, цефазолин, цефтриаксон, цефалотин, цефапирин, цефуросим, цефотаксим;

Ингибиторы β -лактамаз: сульбактам, кислота клавулановая;

АКТУАЛЬНОСТЬ ТЕМЫ: Лекарственные средства изучаемой группы являются действующим началом целого ряда различных лекарственных форм. Они применяются в медицинской практике как антибиотики, отличающиеся друг от друга по спектру действия, продолжительности действия и эффективности при различных путях введения и являются действующим началом целого ряда различных лекарственных форм.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА

Контроль качества лекарственных средств, производных β -лактамов

Цель работы: Освоить методы оценки качества лекарственных средств, производных β -лактамов

Задание 1. Написать формулы, латинские и химические названия β -лактамов и их производных, предложенных для изучения, описать их внешний вид, физические свойства и применение. Ответ оформить в виде таблицы (Приложение 1).

Задание 2. Изучить и провести качественные реакции на лекарственные средства группы, результаты занести в протокол (Приложение 2).

Гидроксамовая реакция (общегрупповая)

Характерной качественной реакцией на β -лактамы является гидроксамовая реакция.

При действии щелочного раствора гидросиламина на пенициллины происходит реакция гидросиламинолиза с образованием кислоты гидроксамовой, которая дает окрашенные соли (гидроксаматы) меди (11) и железа (111). При выполнении гидроксамовой реакции следует тщательно выполнять условия методики (количества щелочи и кислоты), так как гидроксаматы тяжелых металлов образуются только в определенных интервалах значений pH.

Гидроксамовую реакцию нельзя считать специфичной для β -лактамов, так как в нее вступают сложные эфиры, лактоны, амиды карбоновых кислот.

Методики. а) около 0,005 г препарата растворяют в 3 мл воды, прибавляют 0,1 г гидросиламина гидрохлорида и 1 мл 1 М раствора натрия гидроксида, оставляют стоять 5 минут. К полученному раствору прибавляют 1,1 мл 1 М раствора кислоты хлороводородной и 3 капли железа (111) хлорида, появляется грязное красно-фиолетовое окрашивание.

б) несколько кристалликов препарата помещают на предметное стекло или в фарфоровую чашку, прибавляют 1 каплю раствора, состоящего из 1 мл 1 М раствора гидросиламина гидрохлорида и 0,3 мл 1 М раствора натрия гидроксида. Через 2-3 мин к смеси прибавляют 1 каплю 1 М раствора кислоты уксусной, тщательно перемешивают, затем прибавляют 1 каплю раствора меди нитрата, выпадает осадок зеленого цвета.

Реакции на феноксиметилпенициллин

Реакции проводят не на сам препарат, а на продукты гидролиза, происходящего под действием концентрированной кислоты серной. При этом вначале образуется кислота феноксиуксусная, которая дальше гидролизуеться до фенола и кислоты гликолевой. Фенол с реактивом Марки образует ауриновый краситель, а кислота гликолевая окисляется серной до формальдегида, открываемого по реакции образования ауринового красителя с хромотроповой кислотой.

Методики: а) **Реакция с реактивом Марки.** К 0,005 – 0,01 г препарата добавляют 2 мл свежеприготовленного реактива Марки (2 капли раствора формальдегида в 2 мл концентрированной кислоты серной). Наблюдают красное окрашивание. Нагревают на кипящей водяной бане в течение 2-3 минут, наблюдают углубление окраски.

б) **Реакция с кислотой хромотроповой.** К 2 мг препарата прибавляют 2 мг динатриевой соли кислоты хромотроповой, 2 мл концентрированной серной кислоты и нагревают на бане при температуре 150 °С. Через 2-3 мин появляется фиолетовое окрашивание.

Другие пенициллины образуют продукты реакции желто-зеленого или желтого цвета.

Реакции натриевых и калиевых солей пенициллина с кислотой хлороводородной

При взаимодействии натриевых и калиевых солей пенициллина с 25 % кислотой хлороводородной выделяется белый осадок кислотной формы пенициллина, растворимый в избытке кислоты хлороводородной.

Методика. К 2 % раствору натриевой (калиевой) соли бензил-пенициллина прибавляют по каплям 25 % раствор кислоты хлороводородной; выпадает белый осадок, растворимый в избытке кислоты.

Реакции на катионы солей пенициллина: а) Натриевая и калиевая соли пенициллина дают реакции на натрий и калий (ГФ X1);

б) **Реакции на новокаин в новокаиновой соли бензилпенициллина.**

Методики. 1. К 5 мл насыщенного раствора бензилпенициллина новокаиновой соли прибавляют 3 капли разведенной кислоты хлороводородной и 1 каплю 10 % раствора натрия нитрита. Полученный раствор добавляют к 5 мл щелочного раствора β-нафтола. Выпадает красный осадок азокрасителя (реакция на первичную ароматическую аминогруппу).

2. Насыщенный раствор препарата (2-3 мл) с раствором йода образует коричневатый осадок, а с реактивом Майера – белый осадок (определение азотистого основания).

Реакции на ампициллин

За счет остатка алифатической аминокислоты (фениламиноуксусной) ампициллин реагирует с нингидрином и вступает в реакцию комплексообразования

с меди (11) сульфатом. В последнем случае в качестве реактива применяется реактив Фелинга.

Методики. а) 0,02 г ампициллина натриевой соли растворяют в 2 мл воды, прибавляют 2 мл свежеприготовленного 0,25 % раствора нингидрина и кипятят в течение 2 – 3 минут; появляется вишневое окрашивание;

б) 0,01 г препарата растворяют в 1 мл воды и прибавляют 2 – 3 капли реактива Фелинга, сразу появляется фиолетовое окрашивание.

Задание 3. Выполнить количественное определение суммы пенициллинов в препаратах пенициллина (ГФ Х). Результаты оформить в виде протокола (Приложение 3).

Количественное определение

Точную навеску препарата (0,06- 0,1 г) растворяют в воде в мерной колбе емкостью 100 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. 5 мл раствора переносят в коническую колбу с притертой пробкой емкостью 250 мл, прибавляют 2 мл 1 М раствора натрия гидроксида и оставляют на 20 минут. После этого к смеси прибавляют 2 мл 1 М раствора кислоты хлороводородной, 5 мл 0,3 М раствора ацетатного буфера (рН 4,50 ± 0,05), 20 мл 0,01 М (у.ч.= ½) раствора йода и оставляют на 20 минут в темном месте. Избыток йода оттитровывают 0,01 М раствором тиосульфата натрия до слабо-желтого цвета, затем прибавляют раствор крахмала и титруют до обесцвечивания.

В контрольную колбу переносят 5 мл раствора пенициллина, прибавляют 5 мл 0,3 М раствора ацетатного буфера (рН 4,50 ± 0,05), 20 мл 0,01 М (у.ч.= ½) раствора йода и оставляют на 20 минут в темном месте. Избыток йода оттитровывают 0,01 М раствором тиосульфата натрия до слабо-желтого цвета, затем прибавляют раствор крахмала и титруют до обесцвечивания.

Разность в объемах между титрованиями соответствует содержанию суммы пенициллинов в препарате.

Проводят иодометрическое определение (как описано выше) стандартного образца натриевой соли бензилпенициллина или стандартного образца феноксиметилпенициллина в том случае, когда анализируют препараты феноксиметилпенициллина (2-3 параллельные навески) и рассчитывают эквивалент (Э) анализируемого пенициллина, соответствующий 1 мл 0,01 М (у.ч.= ½) раствора йода. Величину Э можно найти по таблице 5.1, учитывая температуру, при которой проводились иодометрические определения суммы пенициллинов в препарате.

Расчет содержания суммы пенициллинов в препарате (X, %) проводят по формуле:

$$X = \frac{V \cdot K \cdot \text{Э} \cdot V_1 \cdot C \cdot 100}{a \cdot V_2},$$

где:

X - содержание суммы пенициллинов в препарате, %;

a - исходная навеска препарата, г;

V_1 - объем раствора препарата первого разведения, мл (100 мл);

V_2 - объем аликвотной части разведения, взятой для определения, мл (5 мл);

V - разность в объемах стандартного 0,01 М раствора натрия тиосульфата, пошедшего на титрование в контроле и опыте, мл;

K - поправочный коэффициент к титру стандартного 0,01 М раствора натрия тиосульфата;

Ξ - величина эквивалента 1 мл 0,01 М (у.ч.= 1/2) раствора йода в граммах стандартного образца натриевой соли бензилпенициллина или в граммах стандартного образца феноксиметилпенициллина (с пересчетом на химически чистое вещество).

C - коэффициент пересчета стандартного образца натриевой соли бензилпенициллина на исследуемый пенициллин, указанный в соответствующей частной статье

Примечание. Приготовление 0,3 М раствора ацетатного буфера с рН 4,50 ± 0,05. 17,5 г натрия ацетата и 10,3 г ледяной кислоты уксусной растворяют в воде в мерной колбе емкостью 1 литр, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. рН определяют потенциометрически одновременно со стандартным буфером с рН в пределах 4,0-5,0.

Таблица 5.1

Величины эквивалентов (Ξ) 1 мл 0,01 М (у.ч.= 1/2) раствора йода в граммах стандартного образца натриевой соли бензилпенициллина или в граммах стандартного образца феноксиметилпенициллина (с пересчетом на химически чистое вещество)

Величина эквивалента (Ξ) в граммах стандартного образца бензилпенициллина	Температура, °С	Величина эквивалента (Ξ) в граммах стандартного образца феноксиметилпенициллина
0,0004763	10	0,0005118
0,0004673	11	0,0005015
0,0004587	12	0,0004912
0,0004521	13	0,0004831
0,0004445	14	0,0004726
0,0004374	15	0,0004630
0,0004310	16	0,0004533
0,0004241	17	0,0004445
0,0004177	18	0,0004367
0,0004119	19	0,0004281
0,0004055	20	0,0004209
0,0004000	21	0,0004146
0,0003965	22	0,0004100
0,0003934	23	0,0004052
0,0003906	24	0,0004010
0,0003876	25	0,0003962

Контрольные вопросы

1. Какие лекарственные вещества относят к «антибиотикам»?
2. Приведите общие структурные формулы пенициллинов и цефалоспоринов, назовите гетероцикл, пронумеруйте атомы в гетероцикле.
3. Охарактеризуйте механизм антибактериального действия β -лактамидов. Приведите структурную формулу 6-аминопенициллановой кислоты (6-АПК), назовите основные способы ее получения.
4. Напишите формулы пенициллинов: бензилпенициллина натриевой, калиевой, новокаиновой, дибензилэтилендиаминовой солей, феноксиметилпенициллина, оксациллина натриевой соли, ампициллина и его натриевой соли, ампициллина тригидрата, карбенициллина динатриевой соли, амоксициллина тригидрата. Приведите латинские названия этих лекарственных средств, охарактеризуйте их физико-химические свойства, хранение, применение, формы выпуска.
5. Покажите связь между химическим строением и биологическим действием пенициллинов. Как происходит инактивация пенициллинов.
6. Перечислите физико-химические методы анализа, применяющиеся при проведении контроля качества пенициллинов.
7. Охарактеризуйте кислотно-основные свойства пенициллинов.
8. Напишите реакции гидролитического разложения пенициллинов. Какие условия способствуют этому разложению? Как эти реакции учитываются при изготовлении лекарственных форм и их хранении? Какими реакциями и физическими показателями можно установить отсутствие данного разложения?
9. Напишите общую реакцию на ЛС группы β -лактамидов. Чем она обусловлена? Приведите условия ее выполнения и использования в анализе.
10. Напишите уравнения реакции взаимодействия натриевых солей пенициллина с 25 % раствором кислоты хлороводородной.
11. Назовите частные реакции на соли бензилпенициллина, феноксиметилпенициллин, ампициллин. Объясните, чем они обусловлены и как используются в анализе? Какие из продуктов реакции окрашены? Напишите уравнения химических реакций.
12. Приведите общую схему процессов, механизм в основе количественного определения пенициллинов методом йодометрии. Чему равен фактор эквивалентности определяемых веществ при таком определении. Как учитывают содержание йодсорбирующих примесей в препаратах при проведении количественного определения?
13. Какими еще методами проводят количественное определение природных и полусинтетических пенициллинов?
14. Приведите структурные формулы 7-аминоцефалоспориновой кислоты (7-АЦК) и 7-аминодезацетоксицефалоспориновой кислоты (7-АДЦК).
15. Назовите основные способы получения 7-АЦК, 7-АДЦК, а также полусинтетических цефалоспоринов.
16. Напишите формулы цефалоспоринов: производных 7-АЦК (цефалотина, цефапирина, цефуроксима, цефотаксима); производных 7-АДЦК (цефалексина, цефалоридина, цефазолина, цефтриаксона).

17. По какому принципу выделяют 4 «поколения» полусинтетических цефалоспоринов? Приведите примеры препаратов 1, 2, 3, 4 «поколения».
18. Покажите связь между химическим строением и биологическим действием цефалоспоринов. Как происходит инактивация цефалоспоринов?
19. Перечислите физико-химические методы анализа, применяющиеся при проведении контроля качества цефалоспоринов.
20. Охарактеризуйте кислотно-основные свойства цефалоспоринов.
21. Напишите общую реакцию на ЛС группы цефалоспоринов. Чем она обусловлена? Приведите условия ее использования в анализе.
22. Приведите структурные формулы, химические и латинские названия ингибиторов β -лактамаз (сульбактама и кислоты клавулановой).
23. Поясните, в чем заключается специфическое действие β -лактамаз, как и в каких лекарственных формах их применяют.
24. Какими методами осуществляют контроль качества сульбактама натриевой соли.

VI СЕМЕСТР Д/О, VIII СЕМЕСТР В/О

Тема 1. ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

Физико-химические (инструментальные) методы анализа лекарственных форм имеют ряд преимуществ перед другими методами. Наряду с высокой специфичностью, чувствительностью, экспрессностью очень важна возможность выполнения этими методами анализа двух- и даже трехкомпонентных смесей веществ без предварительного разделения с достаточной для фармацевтического анализа точностью.

Рекомендуемые ГФ XI физические и физико-химические методы можно разделить на 3 основные группы:

1. Оптические методы (УФ- и ИК-спектрофотометрия, фотоколориметрия, поляриметрия, рефрактометрия);
2. Хроматографические методы (ГЖХ, ВЭЖХ, ТСХ);
3. Электрохимические методы (полярография, потенциометрия, электрофорез).

ОПТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ

Рефрактометрия. Метод основан на измерении показателя (коэффициента) преломления света (n) анализируемым веществом.

В зависимости от качественного состава и количества компонентов в анализируемом объекте используют различные способы расчета.

1. Анализ концентратов и полуфабрикатов.

Для определения содержания действующих веществ в концентратах и полуфабрикатах на рефрактометре измеряют показатель преломления раствора (n) и растворителя (n_0). Концентрацию исследуемого вещества рассчитывают по формуле:

$$C_{(\%)} = \frac{n - n_0}{F}, \quad (1)$$

где F – фактор показателя преломления.

Задача 1. Рассчитайте концентрацию раствора кофеин-бензоата натрия, приготовленного массо-объемным способом, если показатель преломления раствора равен 1,366, воды – 1,333, а фактор показателя преломления – 0,00112.

2. Анализ порошков.

Для определения содержания действующих веществ в порошках анализируемые вещества переводят в раствор точной концентрации, готовя их массо-объемным способом так, чтобы концентрация определяемого вещества была не ниже 5-10 %. При анализе смесей допустимый нижний предел концентрации каждого компонента 3 %.

В случае анализа двухкомпонентных порошков, содержащих ингредиенты, различающиеся по растворимости в органических и неорганических растворителях, компоненты можно разделить, растворив порошок сначала в воде, а потом в этаноле) и измерить показатели преломления раствора каждого ингредиента.

Содержание анализируемого вещества (g, г) в пересчете на среднюю массу анализируемого порошка по прописи (P) рассчитывают по формуле:

$$g = \frac{n_i - n_0 \times V \times P}{F_i \times a \times 100}, \quad (2)$$

где: V - объем растворителя, использованного для растворения вещества, мл;

P - средняя масса анализируемого порошка, г;

a - навеска лекарственной формы, г.

Задача 2. *Рассчитайте содержание глюкозы в лекарственной форме состава: нистатина 50 000 ЕД, глюкозы 0,2, если 0,1 г порошка растворили в 2 мл воды, измерили показатель преломления раствора после фильтрования ($n=1,3395$). Фактор показателя преломления раствора безводной глюкозы равен 0,00142. 1 ЕД нистатина соответствует 0,000352 мг.*

Если оба ингредиента достаточно хорошо растворяются в используемом растворителе, то используют дифференциальный метод рефрактометрии.

На практике для анализа порошков чаще всего используют сочетание рефрактометрии и титриметрии. Этот вариант предполагает приготовление раствора анализируемого порошка в массо-объемной концентрации, затем определяется показатель преломления полученного раствора. Один из компонентов порошка определяется каким-либо титриметрическим методом и его содержание рассчитывается по известным формулам титриметрии. Количественное содержание второго компонента (g) в пересчете на среднюю массу порошка по прописи (P) рассчитывают по формуле:

$$g = \frac{n - n_0 - c_1 F_1 \times V \times P}{F \times a \times 100}, \quad (3)$$

где: F – рефрактометрический фактор определяемого ингредиента;

c_1 – концентрация сопутствующего ингредиента, %;

F_1 – рефрактометрический фактор сопутствующего вещества;

V – объем растворителя, взятый для приготовления ЛФ, мл;

a – навеска ЛФ, взятая для анализа, г

Следует отметить, что содержание сопутствующих веществ в этой формуле (c_1, c_2 и т. д.) должно быть выражено в %.

в) Анализ жидких лекарственных форм.

Для количественного определения одного из компонентов жидкой лекарственной формы измеряют показатель преломления анализируемого раствора (n),

сопутствующие ингредиенты определяют химическими методами, а затем рассчитывают содержание определяемого компонента (g, г) по формуле:

$$g = \frac{(n - n_0 - F_1 C_1 - F_2 C_2 - \dots - F_n C_n) P}{F \cdot 100} \quad (4)$$

Задача 3. Рассчитайте содержание ингредиентов лекарственной формы: кислоты глутаминовой 0,5; глюкозы 10; натрия хлорида 0,26; воды для инъекций до 100 мл. На титрование кислоты глутаминовой в 2 мл лекарственной формы израсходовано 0,7 мл 0,1 М раствора натрия гидроксида. На титрование натрия хлорида в 2 мл лекарственной формы по методу Фаянса – 0,9 мл 0,1 М раствора серебра нитрата. При определении глюкозы рефрактометрическим методом показатель преломления раствора равен 1,3489, воды – 1,333 М (глутаминовой кислоты) 143,13 г/моль; М (натрия хлорида) – 58,44 г/моль, факторы показателя преломления: глутаминовой кислоты – 0,0025, натрия хлорида – 0,0017, глюкозы – 0,0043.

Поляриметрия. Метод основан на способности лекарственных веществ вращать плоскость поляризованного света.

Для сравнительной оценки способности различных веществ вращать плоскость поляризации света вычисляют величину удельного вращения (α). Эта величина используется в фармакопейном анализе для идентификации и оценки чистоты оптически активных лекарственных веществ.

Удельное вращение для растворов и жидких индивидуальных веществ рассчитывается по формулам:

$$[\alpha]_D^{20} = \frac{\alpha \times 100}{l \times c}, \quad \text{или} \quad [\alpha]_D^{20} = \frac{\alpha}{l \times \rho}, \quad (5)$$

где: α - угол вращения;

l – толщина кюветы, дм;

c – концентрация раствора, г/100 мл или %;

ρ - плотность жидкости, г/мл.

Задача 4. Рассчитайте удельное вращение кислоты аскорбиновой, если угол вращения 2 % водного раствора в кювете с толщиной слоя 30 см равен $+1,44^\circ$.

В ряде случаев удельное вращение необходимо рассчитывать в пересчете на сухое вещество. В таких случаях пользуются формулой:

$$[\alpha]_D^{20} = \frac{\alpha \times 100 \times 100}{c \times l \times (100 - B)}, \quad (6)$$

где B – потеря в массе при высушивании, %.

Задача 5. *Рассчитайте удельное вращение хинина сульфата в пересчете на сухое вещество, если угол вращения 3 % раствора в 0,1 моль/л растворе хлороводородной кислоты при величине кюветы 20 см равен 13,74. Потеря в массе при высушивании 4,5 %.*

Фотометрия. Методы анализа, основанные на избирательном поглощении (абсорбции) электромагнитного излучения анализируемым веществом. В фармацевтическом анализе они используются для установления структуры, идентификации, оценки чистоты, количественного определения лекарственных веществ в индивидуальном виде и лекарственных формах.

1. Способ расчета содержания действующего вещества по калибровочному графику.

Этот способ основан на построении калибровочного графика, отражающего зависимость оптической плотности анализируемого раствора от его концентрации. Он удобен в случае проведения серийных анализов окрашенных веществ (рибофлавин, фурацилин и т. д.). В случае анализа фотометрическими методами лекарственных веществ в лекарственных формах для построения калибровочного графика в качестве стандарта используют рабочий стандартный образец (РСО). Для количественного определения этим способом индивидуальных веществ необходимо использовать государственный стандартный образец (ГСО).

2. Способ расчета содержания вещества по удельному показателю поглощения.

Этот способ расчета основан на использовании указанного в НД или предварительно вычисленного значения удельного показателя поглощения E .

В случае количественного определения индивидуального лекарственного вещества (g , %) по удельному показателю поглощения используют формулу:

$$g = \frac{A_x \times W \times 100}{E \times l \times 100 \times V \times a}, \quad (7)$$

где: A_x - оптическая плотность исследуемого раствора,

W - объем мерной колбы, используемой для приготовления раствора, мл;

V - объем аликвоты исходного раствора, мл;

a - навеска анализируемого образца, взятая для приготовления исходного раствора,

l - толщина кюветы, см.

Задача 6. *Рассчитайте содержание лекарственного вещества в анализируемом образце (g , %), если точную навеску фурадонина массой 0,0986 г внесли в мерную колбу вместимостью 100 мл, добавили 2,5 мл 0,1 моль/л раствора натрия гидроксида, после растворения довели водой до метки. 0,6 мл полученного раствора довели водой до метки в мерной колбе вместимостью 100 мл.*

Оптическая плотность испытуемого раствора, измеренная на спектрофотометре при длине волны 360 нм в кювете с толщиной слоя 1 см относительно воды составила 0,274. Удельный показатель поглощения раствора фурадонина-стандарта в тех же условиях равен 466,7.

В случае количественного определения лекарственного вещества в готовых лекарственных формах или лекарственных формах индивидуального изготовления содержание ингредиентов рассчитывают по формуле:

$$g = \frac{A_x \times W \times P}{E \times l \times 100 \times a \times V}, \quad (8)$$

где P – в зависимости от вида лекарственной формы, общий объем, общая масса ЛФ или средняя масса таблетки, капсулы и т.д.

Задача 7. Рассчитайте содержание адреналина гидротартрата в растворе для инъекций, если 5 мл препарата довели водой до метки в мерной колбе вместимостью 100 мл. Оптическая плотность 10 мл полученного раствора, измеренная в кювете толщиной 1 см при 520 нм составила 0,428. Удельный показатель поглощения стандартного образца адреналина гидротартрата, определенного в тех же условиях, равен 47,5.

3. Способ расчета содержания действующего вещества по оптической плотности стандартного образца.

В настоящее время наиболее часто используется способ расчета, основанный на сравнении поглощения анализируемого образца лекарственного вещества с поглощением стандартного образца аналогичного наименования, измеренных в одинаковых условиях.

Содержание действующего вещества в субстанции (g, %) рассчитывают по формуле:

$$g = \frac{A_x \times c_{cm} \times W \times 100}{A_{cm} \times a \times V}, \quad (9)$$

где: A и A_{cm} – соответственно оптическая плотность анализируемого и стандартного раствора;

W – объем мерной колбы, используемой для приготовления раствора, мл;

a – величина навески, г;

V – объем аликвоты, взятый для приготовления фотометрируемого раствора, мл.

Содержание действующих веществ в готовых лекарственных формах или лекарственных формах индивидуального изготовления (g, %), рассчитывают по формуле:

$$g = \frac{A_x \times c_{cm} \times W \times P}{A_{cm} \times a \times V} \quad (10)$$

Задача 8. Для количественного определения феназема в таблетках по 0,001 г точную навеску порошка растертых таблеток массой 0,5345 г поместили в мерную колбу вместимостью 50 мл, добавили 30 мл 95 % этанола, взболтали в течение 10 мин для растворения действующего вещества, довели объем раствора до метки, профильтровали. 2,5 мл полученного раствора довели до метки 95 % этанолом в мерной колбе вместимостью 25 мл. Оптическая плотность раствора, измеренная относительно этанола на спектрофотометре при длине волны 231 нм в кювете с толщиной слоя 1 см, составила 0,688. Оптическая плотность стандартного раствора содержащего в 1 мл 0,000005 г феназема, измеренная в аналогичных условиях, равна 0,625. Средняя масса одной таблетки 0,2138 г.

4. Сочетание фотометрических и титриметрических методов в анализе многокомпонентных лекарственных форм.

С точки зрения метрологии в случае анализа ингредиентов, содержащихся в лекарственных формах в достаточно больших количествах (более 0,05 г), необходимо использовать титриметрические методы из-за их высокой точности. При малом содержании действующих веществ (менее 0,05 г), лучше использовать физико-химические методы, характеризующиеся более высокой чувствительностью. Критерием подбора методов в случае их комбинирования является наибольшая простота методик, способов расчета, точность, наименьший расход лекарственных веществ, реактивов и времени.

Расчеты содержания ингредиентов проводятся в зависимости от вида лекарственной формы по формулам (6-9).

Задача 9. Рассчитайте содержание ингредиентов лекарственной формы: кислоты борной 0,2; раствора левомецетина 0,25 % - 10 мл, если для количественного определения левомецетина 1 мл лекарственной формы доводят водой до метки в мерной колбе вместимостью 200 мл. Оптическая плотность полученного раствора при длине волны 278 нм в кювете толщиной 1 см равна 0,375. Удельный показатель поглощения стандартного образца левомецетина в тех же условиях равен 298,0. На титрование кислоты борной в 1 мл лекарственной формы пошло 3 мл 0,1 моль/л раствора натрия гидроксида ($K=1,02$). M (борной кислоты)=61,83 г/моль.

ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ

Метод хроматографии находит все более широкое применение в практике фармацевтического анализа, особенно в анализе многокомпонентных форм, так как позволяет провести одновременно разделение сложных смесей веществ и количественно определить вещества, входящие в состав этих смесей.

Бумажная хроматография и ТСХ используются в фармацевтическом анализе в основном для идентификации компонентов в многокомпонентных лекарственных формах и для идентификации и установления предела содержания примесей в лекарственных средствах.

Методы газовой хроматографии и ВЭЖХ применяются для оценки доброкачественности, определения подлинности и количественного содержания лекарственных средств.

Содержание лекарственного вещества в препарате по методу внутреннего стандарта рассчитывают по формуле:

$$c_x = \frac{c_{cm} \times h_x}{h_{cm}} \quad (11)$$

Расчет содержания лекарственного вещества (%) по методу внутренней нормализации рассчитывают по формуле:

$$c_x = \frac{h_i}{\sum_{i=1}^n h_i} \times 100\% \quad (12)$$

Задача 10. Определить содержание камфоры в растворе для инъекций, если определение проводили по ФС методом ГЖХ. Расчет содержания камфоры проводили методом внутренней нормализации. Содержание камфоры в лекарственной форме должно быть не менее 97 %.

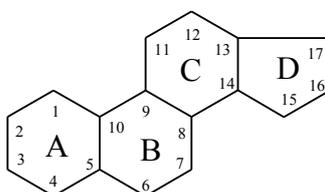
Тема 2.

ПРОИЗВОДНЫЕ ЦИКЛОПЕНТАНПЕРГИДРОФЕНАНТРЕНА (СТЕРОИДНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ)

АКТУАЛЬНОСТЬ ТЕМЫ. К производным циклопентанпергидрофенантрена относятся группы веществ, проявляющих различное фармакологическое действие: карденолиды, кортикостероиды, андрогены, анаболики, антиандрогены, миорелаксанты, эстрогены, гестагены и их синтетические аналоги.

К этой же группе веществ относят и кальциферолы (витамины группы D), рассматривая их как продукты превращения стероидов.

В основе химической структуры производных этой группы лежит циклопентанпергидрофенантрен, состоящий из четырех циклов (A, B, C, D):



Лекарственные средства, предлагаемые для изучения:

Кальциферолы (витамины группы D): эргокальциферол (витамин D₂) и холекальциферол (витамин D₃);

Карденолиды (сердечные гликозиды): лекарственные вещества ряда дигитоксигенина (дигитоксин, ацетилдигитоксин, дигоксин) и ряда строфантидина (строфантин К), гликозиды ландыша (коргликон);

Кортикостероиды: дезоксикортона (дезоксикортикостерона) ацетат, кортизона ацетат, гидрокортизон, преднизолон, дексаметазон;

Андрогены, анаболические стероиды, антиандрогены, миорелаксанты: тестостерона пропионат, метилтестостерон, метандиенон (метандростенолон), метандриол (метиландростендиол), нандролона фенилпропионат (феноболин), нандролона деканоат (ретаболил), ципротерона ацетат (андрокур);

Эстрогены: эстрон, эстрадиол и его эфиры, этинилэстрадиол.

Гестагены и их синтетические аналоги: прогестерон, норэтистерон (норколут), медроксипрогестерона ацетат (депо-провера).

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА 1

Определение подлинности лекарственных средств, производных циклопентанпергидрофенантрена

Цель работы: Освоить методы оценки подлинности лекарственных средств производных циклопентанпергидрофенантрена.

Задание 1. Написать формулы, латинские и химические названия производных циклопентанпергидрофенантрена, предложенных для изучения, описать их внешний вид и физические свойства. Ответ оформить в виде таблицы (Приложение 1).

Задание 2. Подтвердить подлинность эргокальциферола. Результат оформить в виде таблицы (Приложение 2).

Методика. 0,1 мл масляного раствора препарата растворяют в 1 мл хлороформа, прибавляют 6 мл раствора хлорида сурьмы в хлороформе – образуется оранжево-желтое окрашивание.

Задание 3. Изучить и провести общие реакции определения подлинности карденолидов и стероидных гормонов. (Приложение 2)

Общим внутригрупповым реактивом, подтверждающим наличие стероидного цикла в структуре производных циклопентанпергидрофенантрена, является концентрированная кислота серная.

3.1. Реакция с концентрированной кислотой серной

По окраске продуктов реакции кристаллических лекарственных веществ группы с концентрированной кислотой серной, наличию или отсутствию флюоресценции в УФ-области спектра, изменению окраски после разбавления водой (а в некоторых случаях хлороформом) можно отличить лекарственные средства в данной группе.

Реакция используется для качественного анализа и определения примесей родственных соединений в лекарственных препаратах (например, фотоколориметрическое определение примеси гитоксина в дигитоксине).

а) М е т о д и к а . 2 мг препарата (строфантин К, кортизона ацетат, гидрокортизон, преднизон, преднизолон, метилтестостерон, тестостерона пропионат, метиландростендиол, метандростенолон, этинилэстрадиол, местранол) растворяют в 2 мл концентрированной кислоты серной. Наблюдают окраску, а через 20 минут флюоресценцию в УФ-свете. Прибавляют воды 5 мл, встряхивают. Определяют окраску и флюоресценцию (табл. 2.1).

б) М е т о д и к а . 2 мг препарата (дезоксикортикостерона ацетат, прогестерон, прегнин) растворяют в 2 мл концентрированной кислоты серной. Прибавляют 3 мл воды, встряхивают. Наблюдают окраску и флюоресценцию. После охлаждения раствора прибавляют 3 мл хлороформа, встряхивают. Определяют окраску нижнего и верхнего слоев (табл. 2.2).

3.2. Реакция Либермана-Бурхардта

Второй общегрупповой реакцией подлинности на лекарственные средства, производные циклопентанпергидрофенантрена, является реакция с уксусным ангидридом в среде концентрированной кислоты серной

Таблица 2.1

Окраска продуктов реакции стероидов с концентрированной кислотой серной

Лекарственное вещество	После добавления концентрированной кислоты серной		После добавления воды	
	Окраска	Флюоресценция в УФ-свете	Окраска	Флюоресценция в УФ-свете
Строфантин К	Зеленая, переходящая в коричневую	Зеленая	Светло-желтая	—
Кортизона ацетат	Желтая	Желтая	Светло-желтая	—
Гидрокортизон	Интенсивно-желтая с зеленой	Зеленая	—	Зеленая
Преднизолон	Красная	—	Серый хлопьевидный осадок	—

Преднизон	Зеленовато-желтая	Зеленовато-желтая	Светло-коричневая	Слабо-желтая
Метилтестостерон	Желтая	Зеленая	Желтовато-оранжевая	–
Тестостерона пропионат	Слабо-желтая	Слабо-зеленая	Зеленовато-желтая	Зеленая
Метиландростендиол	Желтовато-оранжевая	Зеленая	Желтовато-оранжевая	Слабо-зеленая
Метандростенолон	Красная	–	Опалесценция красная	–
Этинилэстрадиол	Оранжево-красная с зеленой флюоресценцией в отраженном свете	Красная	Осадок красный	–

Таблица 2.2

Окраска продуктов реакции стероидов с концентрированной кислотой серной в хлороформе

Лекарственное вещество	После добавления воды		После добавления Хлороформа	
	Окраска	Флюоресценция в УФ-свете	Окраска	Флюоресценция в УФ-свете
Дезоксикортикостерона ацетат	Фиолетово-красная с флюоресценцией	Голубая	Желтая	Зеленая
Прогестерон	Желтая	Зеленая	Бесцветная	Бесцветная
Прегнин	Малиновая	–	Светло-оранжевая	Почти бесцветная

Методика. 2 мг препарата растворяют в 1 мл уксусного ангидрида. Раствор осторожно вливают в пробирку с 1 мл концентрированной кислоты серной. Слой уксусного ангидрида приобретает желтовато-зеленое окрашивание.

Задание 4. Изучить и провести реакции определения подлинности карденолидов. Результат оформить в виде таблицы (Приложение 2).

Карденолиды (гликозиды сердечного действия) по своему химическому строению являются полными ацеталями, образованными при взаимодействии спиртового гидроксила С-3 агликона с полуацетальным гидроксилом углевода.

В анализе используются физико-химические свойства гликозидов: поглощение в УФ-области спектра (спектрофотометрия), способность к вращению плоскости поляризации (поляриметрия).

Показатель удельного вращения регламентируется для:

1 % раствора дигитоксина в хлороформе 16-18°;

10 % раствора дигоксина 13,6-14,2°;

2 % раствора целанида 32-35°.

Для установления подлинности лекарственных веществ этой группы используются реакции, обусловленные наличием агликона и углеводного остатка.

4.1. Качественные реакции на агликон

Реакции на агликон можно подразделить на 2 группы:

1. Реакции на стероидную часть (с концентрированной кислотой серной, а также реакция Либермана-Бурхардта) (методику см. выше);

2. Реакции на α - β -ненасыщенное пятичленное лактонное кольцо (табл.2.3): реакция Легалья (натрия нитропруссид в щелочной среде); реакции с нитропроизводными ароматического ряда; реакция Бальета (щелочной раствор кислоты пикриновой); реакция Раймонда (щелочной раствор м-динитробензола); реакция Кедде (щелочной раствор 3,5-динитробензойной кислоты).

Таблица 2.3

Реакции на α - β -ненасыщенное пятичленное лактонное кольцо

Реактив и название Реакции	Концентрация гликозида, подчиняющаяся закону Бугера-Ламберта-Бера, мкг/мл	Окраска продуктов реакции	Время появления интенсивной окраски, мин	Температура реакции, °С	λ_{max} поглощения продуктов реакции
Щелочной раствор пикриновой кислоты (реакция Бальета)	1-5	Оранжево-красная	20	20	490
Щелочной раствор м-динитробензола в 50 % спирте (реакция Раймонда)	1-10	Фиолетовая	10	0	620
Щелочной раствор Нитропруссиды натрия в пиридине (реакция Легалья)	1-10	Темно-красная	10	20	610

а) *Реакция Бальета*. М е т о д и к а . К раствору или суспензии 2 мл препарата (дигитоксин, дигоксин) в 1 мл 95 % спирта прибавляют 1 мл 2 % спиртового раствора кислоты пикриновой и 2 капли раствора натрия гидроксида. Образуется оранжевый осадок. Реакция используется для качественного и количественного анализа дигитоксина, дигоксина.

б) *Реакция Раймонда*. М е т о д и к а . К раствору 2 мг препарата (дигитоксин, дигоксин) в 1 мл 95 % спирта прибавляют 1 мл 2 % раствора *m*-динитробензола в 50 % спирте и 2 капли раствора натрия гидроксида. Появляется фиолетовое окрашивание, которое со временем исчезает.

в) *Реакция Легалья*. М е т о д и к а . К 1-2 мг препарата в 1 мл 95 % спирта прибавляют 1 мл нитропруссид натрия и 1-2 капли раствора натрия гидроксида. Появляется красное окрашивание, которое затем исчезает.

4.2. Качественные реакции на углеводы

1. *Идентификацию сахарного компонента* можно провести с помощью известных окислительно-восстановительных реакций («серебряного зеркала», с реактивом Фелинга). Необходимым условием в этом случае является проведение кислотного гидролиза молекулы гликозида с высвобождением полуацетального гидроксила сахара.

Реакция с реактивом Фелинга. М е т о д и к а . 0,05 г строфантина К растворяют в 1 мл 95 % спирта, добавляют 0,1 мл 8 % кислоты хлороводородной, нагревают на пламени горелки в течение 30 с. Добавляют 0,2 мл 10 % раствора натрия гидроксида и 0,5 мл реактива Фелинга. Нагревают в течение 30 с, через 2 мин образуется оранжевый осадок.

2. *Обнаружение дезоксисахаров*. В качестве сахарного компонента сердечные гликозиды могут содержать дигитоксозу, цимарозу, олеандрозу и т.д., у которых при С-2 и С-6 отсутствуют оксигруппы. Присутствие дезоксисахаров обнаруживают по реакции с ксантгидролом и реакции Келлера-Килиани.

Реакция Келлера-Килиани. М е т о д и к а . 0,002 г препарата (строфантин К, дигитоксин, дигоксин, ацетилдигитоксин) растворяют в 2 мл раствора ледяной кислоты уксусной при нагревании. После охлаждения добавляют 1 каплю раствора железа (III) хлорида и по стенке осторожно вливают в пробирку 2 мл концентрированной кислоты серной. На границе двух слоев появляется бурое окрашивание. Верхний слой постепенно окрашивается в желто-зеленый или синий цвет.

Реакция Пезеца. М е т о д и к а . При действии концентрированных кислот на углеводы образуются фурфурол или его производные, которые с ксантгидроловым реактивом образуют продукты конденсации светло-зеленого или синезеленого цвета ($\lambda_{\max} - 512 \text{ нм}$).

Задание 5. Изучить и провести реакции определения подлинности стероидных гормонов. Результат оформить в виде таблицы (Приложение 2).

5.1. Реакции присоединения (элиминирования)

Все изучаемые природные гормоны и их синтетические аналоги из групп кортикостероидов, андрогенных и гестагенных гормонов имеют в своей структуре Δ^4 -3-оксогруппу, наличие которой позволяет использовать для подтверждения подлинности этих гормонов реакции присоединения (элиминирования). При взаимодействии с гидросиламином, семикарбазидом, изониазидом и т.д. вследствие реакции (A_N) присоединения с последующим отщеплением воды образуются оксимы, семикарбазоны, гидразоны. В случае прогестерона образуются дипроизводные (по С-3 и С-20).

Методика. К 2 мл 1 % спиртового раствора препарата прибавляют 4 мл 0,2 % спиртового раствора изониазида. Через 10 мин желтая окраска усиливается.

Приготовление раствора изониазида. 0,2 г гидразида изоникотиновой кислоты растворяют в 100 мл 95 % спирта, добавляют 0,25 мл концентрированной кислоты хлороводородной, перемешивают и доводят объем раствора 95 % спиртом до 200 мл.

Эта реакция используется и в фотоколориметрических методах определения препаратов группы (см. Тема 3).

5.2. Реакции, связанные с наличием α -кетольной группы (20-кето-21-гидрокси)

α -кетольная группа входит в состав молекул кортикостероидов и обуславливает их восстановительные свойства. Препараты группы легко окисляются реактивами, проявляющими окислительные свойства (реактивом Фелинга, реактивом Несслера, аммиачным раствором серебра нитрата, раствором 2,3,5-трифенилтетразолия хлорида):

а) *реакция с раствором Несслера.*

Методика. К 0,1 г субстанции или к 0,5 г растертых таблеток дезоксикортикостерона ацетата, кортизона ацетата, преднизона ацетата или преднизолона прибавляют 3 мл реактива Несслера – наблюдается желтое окрашивание, переходящее в желто-оранжевое, через 2-3 мин выпадает осадок металлической ртути;

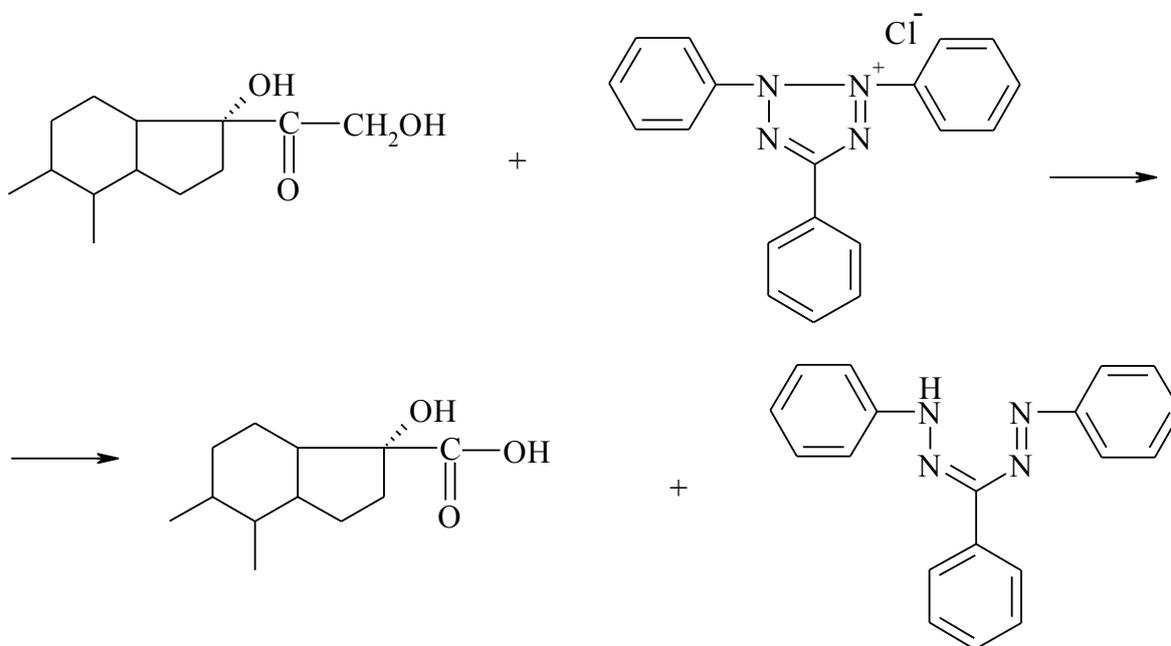
б) *реакция с реактивом Фелинга.* **Методика.** К 1 мл 1 % спиртового раствора препарата прибавляют 1 мл реактива Фелинга и нагревают на кипящей водяной бане. Образуется красно-оранжевый осадок;

в) *реакция с аммиачным раствором серебра нитрата (реактив Толленса).*

Методика. К 1 мл 1 % спиртового раствора препарата прибавляют 2 мл аммиачного раствора серебра нитрата. Нагревают на кипящей водяной бане в течение 4-5 мин. Образуется «серебряное зеркало»;

г) реакция с 2,3,5-трифенилтетразолия хлоридом (специфичная реакция Гереза).

Методика. К 5 мл 0,05 % спиртового раствора препарата прибавляют 2 мл свежеприготовленного 0,5 % спиртового раствора 2, 3, 5-трифенилтетразолия хлорида и 0,5 мл 0,5 н. спиртового раствора натрия гидроксида. Появляется красное окрашивание (красный формазан):



Фотоколориметрический метод количественного определения лекарственных препаратов основан на этих вышеперечисленных реакциях.

5.3. Реакция, обусловленная сложноэфирной группой (гидроксамовая реакция)

Препараты стероидных гормонов, являющиеся сложными эфирами (содержащие сложноэфирную группу в молекуле) с гидроксиламином в щелочной среде образуют гидроксамовые кислоты. При добавлении солей тяжелых металлов получают окрашенные соли гидроксамовых кислот - гидроксаматы. Цвет окрашивания зависит от того, какой металл входит в состав гидроксамата.

Реакцию дают: кортизона, дезоксикортикостерона и преднизона ацетаты, тестостерона пропионат; ципротерона ацетат (андрокур); нандролон фенилпропионат (феноболин); медроксипрогестерона ацетат (депо-провера).

Методика. К 2 мл 0,5 % спиртового раствора препарата прибавляют 2 мл щелочного раствора гидроксиламина. Встряхивают в течение 5 мин, прибавляют 2 мл разведенной кислоты хлороводородной и 0,5 мл 10 % раствора железа (III) хлорида в 0,1 н. кислоте хлороводородной. Появляется темно-вишневое окрашивание.

5.4. Реакции, обусловленные фенольным гидроксилем в структуре молекул эстрогенов и их аналогов

Для идентификации данных соединений используют реакции электрофильного замещения в бензольном ядре (бромирование, нитрование, образование азокрасителя); реакции солеобразования с солями тяжелых металлов, образования простых (местранол) и сложных эфиров (получение этинилэстрадиола бензоата и определение его температуры плавления).

Реакция образования азокрасителя.

Методика. 5 мг этинилэстрадиола (или 0,5 г порошка растертых таблеток) растворяют в смеси из 3 мл 10 % раствора натрия гидроксида и 2 мл воды (в случае анализа таблеток раствор фильтруют), добавляют 2-3 мл свежеприготовленного диазореактива. Образуется красное окрашивание.

Физико-химические методы в фармакопейном анализе производных циклопентанпергидрофенантрена

Физико-химические методы широко используются на всех этапах фармакопейного анализа лекарственных веществ группы, в частности, для подтверждения подлинности производных циклопентанпергидрофенантрена. Современная НД широко использует метод ИК-спектроскопии, позволяющий дать объективную оценку подлинности сложных по химической структуре лекарственных веществ группы. Полученный ИК-спектр препарата, снятый в вазелиновом масле или после прессования в таблетках с бромидом калия сравнивают с ИК-спектром ГСО, полученным в тех же условиях, или с рисунком ИК-спектра, прилагаемым к ФС. Таким образом подтверждают подлинность индивидуальных сердечных гликозидов, кальциферолов, большинства стероидных гормонов.

Помимо ИК-спектроскопии для установления подлинности и проведения испытаний на посторонние примеси ФС рекомендуют метод ТСХ и ВЭЖХ.

С помощью хроматографии в тонком слое определяют подлинность и доброкачественность лекарственных средств в случае присутствия в них близких по структуре посторонних примесей, являющихся полупродуктами или побочными продуктами синтеза.

Так, метод ТСХ рекомендован ФС для испытания подлинности тестостерона пропионата путем сравнения с ГСО. Методом ТСХ подтверждают подлинность ретаболила, дексаметазона, прогестерона, медроксипрогестерона ацетата в их лекарственных формах – идентификацию проводят по величине R_f в сравнении со стандартным образцом.

Методом ТСХ на пластинах Силуфол, Сорбфил, Кизельгель и других устанавливают во всех лекарственных веществах наличие примесей посторонних стероидов. При проведении подобных испытаний на пластину помимо исследуемого раствора наносят стандартные образцы, содержащие различные коли-

чества стероидов, примеси которых подлежат определению. Состав элюента нормируется частными ФС на препараты. Обнаружение зон примесей обычно проводят в УФ-свете с длиной волны 254 и 365 нм. В некоторых случаях зоны обнаруживают специальными реагентами: фосфорномолибденовой кислотой (при определении примесей в кортикостероидах, феноболоне); толуолсульфоновой кислотой (примеси в андрокуре) и т.д. При проведении подобных определений стандарты примесей наносят количественно, чтобы было возможно сделать заключение о наличии примесей в испытуемом препарате и об их содержании. Суммарное содержание примесей в каждом конкретном препарате нормируется частной ФС, но, как правило, оно не должно превышать 2-4 %.

Для качественного и количественного определения большинства сердечных гликозидов и стероидных гормонов ФС рекомендуют метод УФ-спектрофотометрии. Для сердечных гликозидов метод оказался применим благодаря избирательному поглощению при $\lambda=215-220$ нм, обусловленному

наличием в агликонах α,β -ненасыщенного лактонного цикла. Все изучаемые природные гормоны и их синтетические аналоги из группы кортикостероидов, гестагенных и андрогенных гормонов обладают свойством селективного поглощения УФ-излучения при $238-242\pm 2$ нм, обусловленного наличием в структуре их молекул Δ^4 -3-оксогруппы. Максимум поглощения эстрогенных гормонов за счет ароматического кольца наблюдается при 280 нм. В качестве растворителей для стероидных гормонов чаще всего применяют 95 % этиловый или метиловый спирт, для эстрогенов – раствор натрия гидроксида.

Подлинность лекарственных средств группы устанавливают по наличию характерного максимума поглощения в УФ-спектре при указанной в ФС длине волны. Метод неспецифичен и его обычно сочетают с ТСХ-определениями.

Расчет количественного содержания лекарственного вещества выполняют по удельному показателю поглощения или сравнением с оптической плотностью ГСО. Расчет количественного содержания индивидуального вещества в процентах или граммах проводится по формулам (6 – 9).

Условия спектрофотометрического определения некоторых лекарственных веществ из группы стероидных гормонов приведены в таблице 2.4.

Определение количественного содержания стероидных соединений может быть также выполнено фотоколориметрически. Предварительно на определяемое вещество действуют одним из реагентов, используемых в качественном анализе и позволяющих получить растворимый продукт взаимодействия с устойчивой окраской.

Спектральные характеристики лекарственных веществ

Лекарственное Вещество	Растворитель	Максимум поглощения λ_{\max} , нм	Удельный показатель поглощения, E
Дезоксикортикостерона ацетат	Этанол	241	430-450
Кортизона ацетат	Этанол	238	390
Гидрокортизона ацетат	Этанол	241	395
Преднизолон	Метанол	242	400-430
Дексаметазон	0,1М р-р NaOH	241	383
Метилтестостерон	Этанол	241	540
Метандростенолон	Этанол	245	516
Феноболин	Этанол	240	430
Андрокур	Метанол	282	414
Этилэстрадиол	Этанол	280	65-69
Местранол	Этанол	279	59-64

Так, для определения сердечных гликозидов используют реакцию их взаимодействия с нитропроизводными ароматического ряда, чаще всего с пикриновой кислотой (см. Тема 2, задание 3.1). Для определения некоторых гестагенных препаратов (прегнин, медроксипрогестерона ацетат), а также андрогенов (метилтестостерон), анаболиков (ретаболил) и кортикостероидов (кортизона ацетат) используют реакцию образования гидразонов (присоединение по оксогруппе в положении С-3) с последующим колориметрическим определением окрашенных продуктов. На восстановительных свойствах α -кетольной группы в молекулах кортикостероидов основаны реакции с солями таразона (см. Тема 2, задание 4.2), образующийся растворимый краситель красный формазан легко определяется колориметрически с $\lambda_{\max}=485$ нм.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА 2

Методы ТСХ, УФ- спектрофотометрии и фотоколориметрии в фармакопейном анализе лекарственных средств, производных циклопентанпергидрофенантрена

Цель работы. Освоить физико-химические методы оценки качества лекарственных средств, производных циклопентанпергидрофенантрена.

Задание 1. Определить подлинность и доброкачественность лекарственных средств группы кортикостероидов и андрогенов методом ТСХ.

1.1. Провести идентификацию метилтестостерона и метандростеналона в смеси методом ТСХ (обучающее задание)

Методика. На линию старта хроматографической пластинки марки Сорбфил-УФ-254 размером 5×10 см наносят 0,01 мл 0,1 % стандартных растворов препаратов в этаноле и смесь веществ. Хроматографируют восходящим методом в системе растворителей гексан- ацетон 7:3. Когда фронт растворителя поднимется на 8 см, пластину вынимают и сушат на воздухе. Детекцию пятен проводят в УФ-свете или опрыскиванием пластины 10 %-ным раствором фосфорно-молибденовой кислоты в ацетоне. После обработки пластину нагревают в сушильном шкафу при 110-120°С в течение 1-2 мин. Идентификацию индивидуальных веществ в смеси проводят, рассчитывая и сравнивая величину R_f зон метилтестостерона и метандростеналона в смеси и стандартах.

1.2. Определить примесь посторонних стероидов в гидрокортизона ацетате методом ТСХ

Методика. На линию старта пластинки «Сорбфил-УФ-254» размером 8×15 см наносят 0,01 мл 0,01 % раствора (100 мкг) субстанции гидрокортизона ацетата в смеси 95 % спирт-хлороформ (1:1); 0,005 мл (0,5 мкг); 0,01 мл (1 мкг); 0,015мл (1,5кг) и 0,02мл (2мкг) растворов стандартных образцов веществ-свидетелей (СОВС) гидрокортизона и гидрокортизона ацетата.

Хроматографируют восходящим методом в камере со смесью растворителей хлороформ – метиловый спирт – вода (95:5:0,2). Длина пробега растворителя – 13 см. Высушенную на воздухе пластинку просматривают в УФ-свете при 254 нм.

Пятна посторонних примесей на хроматограмме испытуемого препарата сравнивают по величине и интенсивности окраски с пятнами СОВС: пятно примеси гидрокортизона сравнивают с пятном СОВС гидрокортизона, пятна других возможных примесей сравнивают с пятнами СОВС гидрокортизона ацетата. Суммарное содержание примесей не должно превышать 4 %.

Приготовление растворов СОВС. 0,01 г гидрокортизона (стандарт) и 0,01 г гидрокортизона ацетата растворяют в 70 мл смеси 95 % спирт-хлороформ (1:1) в мерной колбе вместимостью 100 мл, доводят объем раствора той же смесью растворителей до метки и перемешивают.

1.3. Подтвердить подлинность дексаметазона в лекарственной форме «Раствор дексаметазона 0,1 % (глазные капли)» методом ТСХ

Состав:

Дексаметазона натрия фосфата в пересчете на дексаметазон	0,1 г
Вспомогательные вещества	
Воды для инъекций	до 100 мл

Методика. 0,005 мл препарата (5 мкг в пересчете на дексаметазон) наносят на линию старта пластинки Сорбфил UV-254 размером 5×10 см. Рядом на-

носят 0,005 мл 0,13 % раствора свидетеля – дексаметазона натрия фосфата (5 мкг в пересчете на дексаметазон). Пластинку высушивают на воздухе 10 мин. Хроматографируют в системе: н-пропиловый спирт (ТУ 6-09-4344-77, х.ч.) – аммиака раствор концентрированный (7:3). Когда фронт подвижной фазы дойдет до конца пластинки, ее вынимают из камеры, подсушивают на воздухе в течение 10 мин и просматривают в УФ-свете при длине волны 254 нм. Основное пятно на хроматограмме испытуемого препарата должно находиться на уровне основного пятна на хроматограмме раствора свидетеля – дексаметазона натрия фосфата.

Задание 2. Подтвердить подлинность и провести количественный анализ лекарственных средств на основе стероидных гормонов методом УФ-спектрофотометрии. Результат оформить в виде таблицы (Приложение 3).

2.1. Подтвердить подлинность и определить количественное содержание дексаметазона в глазных каплях

Состав:

Дексаметазона натрия фосфата в пересчете на дексаметазон	0,1 г
Вспомогательные вещества	
Воды для инъекций	до 100 мл

Подлинность. Ультрафиолетовый спектр поглощения раствора препарата, приготовленного для количественного определения, снятый в области от 220 до 330 нм, должен иметь максимум при 241 нм ± 2 нм и пологое плечо в интервале длин волн от 260 до 270 нм.

Количественное определение. 0,5 мл препарата помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл. Доводят объем раствора до метки 0,1М раствором натра едкого, перемешивают. Измеряют оптическую плотность полученного раствора на спектрофотометре при длине волны 241 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. В качестве раствора сравнения используют 0,1М раствор натра едкого.

Содержание дексаметазона натрия фосфата в пересчете на дексаметазон в 1 мл препарата вычисляют по формуле:

$$X = \frac{A \cdot 50}{383 \cdot 1 \cdot 100} = 0,0013055 \cdot A,$$

где: A – оптическая плотность спектрофотометрируемого раствора препарата, см⁻¹.

383 – удельный показатель поглощения дексаметазона при длине волны 241 нм, (Е, см · %)⁻¹.

Содержание C₂₂H₂₈FNa₂O₈P (дексаметазона натрия фосфата) в пересчете на дексаметазон в 1 мл препарата должно быть от 0,0009 до 0,0011 г.

2.2. Определить количественное содержание преднизолона в таблетках по 0,001 г и 0,005 г

Методика. Точную навеску растертых в порошок таблеток, содержащую около 0,001 г преднизолона, помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, прибавляют 25-30 мл 95 % спирта, встряхивают в течение 5-6 мин, доводят до метки 95 % спиртом и снова перемешивают, фильтруют в сухую колбу, отбрасывая первые 10-15 мл фильтрата; 25 мл фильтрата вносят пипеткой в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят 95 % этанолом до метки, перемешивают и измеряют оптическую плотность полученного раствора при длине волны 242 нм в кювете с толщиной слоя 1 см, применяя в качестве контрольного раствора 95 % этанол. Повторяют такое же измерение с 0,001 % раствором РСО преднизолона.

Содержание преднизолона должно быть 0,0009-0,0011 г или 0,0045-0,0055 г в пересчете на среднюю массу одной таблетки. Расчет проводят по формуле (3).

2.3. Определить количественное содержание преднизолона и преднизолона ацетата в мази

Методика. К точной навеске мази, которая содержит около 0,0025 г преднизолона (или преднизолона ацетата), приливают 10 мл горячего 95 % этанола, перемешивают и фильтруют в мерную колбу вместимостью 50 мл. Экстракцию повторяют тремя порциями по 10 мл горячего этанола. После охлаждения до комнатной температуры фильтрат доводят до метки 95 % этанолом и перемешивают. 10 мл полученного раствора вносят пипеткой в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят до метки 95 % этанолом, перемешивают и измеряют оптическую плотность в кювете с толщиной слоя 1 см при длине волны 242 нм, применяя в качестве нулевого раствора 95 % этанол.

Повторяют такое же измерение с 0,001 % раствором РСО преднизолона (или преднизолона ацетата) в 95 % спирте. Расчет проводят по формуле (2).

2.4. Определить количественное содержание метилтестостерона в таблетках по 0,005 г

Методика. Около 0,05 г растертых в порошок таблеток (точная навеска) помещают в мерную колбу с притертой пробкой вместимостью 50 мл, доводят объем раствора до метки 95 % этанолом и встряхивают в течение 5 мин. Фильтруют в сухую колбу через беззольный фильтр, отбрасывая первые 10-15 мл фильтрата. Вносят пипеткой 5 мл фильтрата в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят объем до метки 95 % этанолом и измеряют оптическую плотность полученного раствора при длине волны 241 нм в кювете с толщиной слоя 1 см; нулевой раствор – 95 % этанол.

Расчет проводят по формуле (4). Значение удельного показателя поглощения метилтестостерона, $E=540$ (табл. 2.4).

Содержание метилтестостерона должно быть 0,0045-0,0055 г в пересчете на среднюю массу одной таблетки.

Задание 3. Определить количественное содержание веществ в лекарственных формах, содержащих стероидные гормоны, методом фотоколориметрии или спектрофотометрии в видимой области спектра. Результат оформить в виде таблицы (Приложение 3).

3.1. Определить количественное содержание метилтестостерона, прегнина или кортизона ацетата в таблетках, соответственно по 0,005 г; 0,01 г и 0,025 г

Определение основано на реакции Δ^4 -3-кетогруппы исследуемых лекарственных средств с гидразидом кислоты изоникотиновой с образованием желтого цвета изоникотиноилгидразонов.

В качестве растворителей для лекарственных средств и реактивов применяют 95 % этанол. Максимум поглощения растворов изоникотиноилгидразонов наблюдается при 370 нм, удельный показатель поглощения – 150.

При фотоколориметрическом определении для расчета используют калибровочный график или проводят измерение оптической плотности раствора, полученного из рабочего стандартного образца (РСО).

Методика. 0,05 г порошка растертых таблеток (точная навеска) помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл и при легком взбалтывании растворяют в 10 мл 95 % этанола в течение 5-6 мин при легком нагревании. После охлаждения доводят этанолом до метки, перемешивают и фильтруют через складчатый фильтр, отбрасывая первые 5 мл фильтрата. К 5 мл фильтрата прибавляют 5 мл изониазида и через 50 мин определяют оптическую плотность раствора на фотоэлектроколориметре при длине волны 400 нм в кювете с толщиной рабочего слоя 1 см. Параллельно проводят реакцию с 5 мл стандартного раствора препарата. В качестве раствора сравнения используют 95 % этанол.

В качестве стандартных используют растворы препаратов, отвечающих требованиям ГФ, с концентрацией метилтестостерона – 0,01 %; прегнина – 0,02 %; кортизона ацетата – 0,05 %.

Расчет проводят по формуле (3). Содержание метилтестостерона, прегнина и кортизона ацетата в расчете на среднюю массу таблетки должно быть, соответственно: 0,0045-0,0055 г; 0,009-0,011 г и 0,022-0,028 г.

3.2. Определить количественное содержание строфантина К в 0,025 % (0,00025 г/мл) растворе для инъекций

Методика. К 0,5 мл раствора строфантина К прибавляют 1 мл нейтрального раствора пикрата натрия, 3 мл дистиллированной воды и 0,5 мл 2 % раствора гидроксида натрия и перемешивают. Через 10 мин определяют оптическую плотность раствора на фотоэлектроколориметре при длине волны 490-500 нм (сине-зеленый фильтр) в кювете с толщиной рабочего слоя 1 см.

В качестве контрольного раствора используют смесь, состоящую из 1 мл нейтрального раствора пикрата натрия, 0,5 мл 2 % раствора гидроксида натрия и 3,5 мл дистиллированной воды. В качестве эталонного раствора – 0,025 % раствор строфантина К. Расчет проводят по формуле:

$$X = \frac{A_x \cdot C_0}{A_0},$$

где: $C_0=0,025$ % (0,00025 мг/мл) – содержание строфантина К в эталонном растворе.

Содержание строфантина К: 1 мл препарата должен содержать 11-14,5 ЛЕД или 1,45-1,75 КЕД или 0,96-1,19 ГЕД.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА 3

Деловая игра по теме: «Анализ лекарственных средств, производных циклопентанпергидрофенантрена»

Цель деловой игры. Освоить навыки оценки качества лекарственных средств, производных циклопентанпергидрофенантрена.

Основные этапы деловой игры.

1. Изучение химической структуры, физических и химических свойств препаратов, производных циклопентанпергидрофенантрена.
2. Изучение ФС «Таблетки» ГФ XI (с. 154, т. 2) и требований по контролю качества данной лекарственной формы.
3. Знакомство со сценарием деловой игры.
4. Распределение обязанностей.
5. Самостоятельный выбор в справочной литературе оптимальных методик по контролю качества предлагаемых лекарственных форм.
6. Изучение химических и физико-химических методов идентификации указанных лекарственных препаратов, уравнений реакций, лежащих в основе метода.
7. Изучение особенностей количественного определения лекарственных веществ, вывод формулы для расчета содержания лекарственного вещества в предложенной лекарственной форме, проведение предварительных аналитических расчетов.
8. Проведение анализа лекарственного средства и выполнение соответствующих расчетов.
9. Оценка качества лекарственного средства в соответствии с НД.
10. Обсуждение полученных результатов.

Сценарий деловой игры.

В качестве объекта игрового сценария выбрана контрольно-аналитическая лаборатория г. Воронежа.

В контрольно аналитическую лабораторию поступили из областного отдела здравоохранения следующие лекарственные вещества:

1. Таблетки этинилэстрадиола по 0,00005 г.

После приема ЛС у больной Иванниковой С.К. (1956 г.р.) произошла потеря сознания, и она была доставлена «скорой помощью» в неврологическое отделение ОКБ с диагнозом «артериальная гипертензия».

2. Таблетки метилтестостерона по 0,005 г.

После прохождения курса лечения анорексии (по 1 табл. 3 раза в день) больная Кутырев И.П.. (1995 г.р) был госпитализирован в инфекционное отделение 12 клинической больницы с диагнозом «холестатический гепатит».

3. Таблетки кортизона по 0,05 г.

После приема ЛП у больного Шумина В.Ф. (1998 г.р.) произошло желудочное кровотечение. Он был доставлен «скорой помощью» в гастроотделение ОКБ.

В связи со случившимся областной отдел здравоохранения начинает административное расследование. Лекарственные формы направляются в контрольно-аналитическую лабораторию. Назначается экспертная комиссия из двух групп специалистов КАЛ для проведения арбитражного анализа лекарственных форм.

Роль председателя экспертной комиссии берет на себя преподаватель, роли руководителей рабочих групп и провизоров-аналитиков КАЛ – студенты, роль представителя областного отдела здравоохранения – инженер.

Студентам выдаются для анализа остатки лекарственных форм. Студенты должны провести независимо друг от друга анализ полученных лекарственных форм.

На отдельном участке лаборатории, играющей роль библиотеки, находится учебная литература, приказы, справочники, ГФ, методические указания, предназначенные для работы членов комиссии. Каждый студент внутри экспертной группы получает индивидуальное задание. Суть задания заключается в практическом выполнении качественного и количественного анализа одной лекарственной формы. Распределяет задание председатель комиссии (преподаватель). Провизоры-аналитики (студенты) проводят полный химический контроль качества предложенных лекарственных форм. На основании проведенного анализа выдается заключение о качестве ЛФ в соответствии с НД. Выполненное задание оформляется в виде протокола. После проведения всех анализов проходит совещание каждой экспертной группы. Затем, после обсуждения полученных результатов, оформляется акт экспертизы (образец прилагается), в котором приводятся результаты работы экспертной комиссии. Правильно проведенный анализ одной лекарственной формы оценивается в 3 балла.

Затем руководители каждой рабочей группы делают доклады (3-5 мин) по результатам проведенной работы и высказывают предположение о возможных причинах случившегося.

В конце занятия преподаватель проводит обсуждение деловой игры с помощью контрольных вопросов.

Контрольные вопросы

1. Какие нормативные документы регламентируют качество лекарственной формы «Таблетки»?
2. Дайте определение ЛФ «Таблетки».
3. По каким параметрам проводится оценка качества данной ЛФ?
4. Как рассчитывается средняя масса таблетки?
5. Как проводится определение содержания ЛВ в таблетках?
6. Что включает в себя испытание однородности дозирования?
7. Каким образом определяются распадаемость и растворимость таблеток?
8. Какими методами проводится установление подлинности таблеток, содержащих производные циклопентанпергидрофенантрена?
9. Какими методами проводится количественное определение ЛВ, производных циклопентанпергидрофенантрена в таблетках?
10. Какие предварительные расчеты проводит провизор-аналитик и по каким формулам?
11. Какие ЛФ относятся к группе нестабильных? В каких условиях следует хранить эти ЛФ?

АКТ ЭКСПЕРТИЗЫ (образец)

Наименование лекарственного средства _____
Серия _____
Организация изготовитель _____
Заказчик _____
Дата изготовления _____
Анализ выполнен _____ (указывается нормативный документ) _____

Наименование показателя качества по НД	Требования к качеству по НД	Результаты анализа
1		
2 и т.д.		

Заключение _____
Дата анализа _____

Председатель экспертной комиссии (ФИО)
Член экспертной комиссии (ФИО)

Контрольные вопросы по теме «Производные циклопентанпергидрофенантрена»

1. В чем состоит значение ЛВ стероидной структуры для медицины?
2. К каким фармакологическим группам относятся производные циклопентанпергидрофенантрена?
3. Каковы физические и химические свойства сердечных гликозидов, кортикостероидных гормонов, андрогенных и гестагенных ЛВ?
4. Каковы особенности структуры сердечных гликозидов? Какие функциональные группы и фрагменты входят в состав этих веществ? Чем обусловлена специфическая активность на сердечную мышцу сердечных гликозидов?
5. Гликозидная связь в сердечных гликозидах образуется при взаимодействии полуацетального гидроксила сахара и вторичного спиртового гидроксила. Назовите условия, при которых происходит гидролиз гликозидной связи. С какими веществами (обладающими кислыми или основными свойствами) следует избегать прописывания сердечных гликозидов?
6. Какие функциональные группы и фрагменты входят в состав кортикостероидных гормонов? Чем обусловлена фармакологическая активность этих веществ?
7. Какие функциональные группы и фрагменты входят в состав андрогенов, гестагенов и эстрогенов? В чем заключается андрогенная, анаболическая и эстрогенная активность? Какими структурными фрагментами обусловлен каждый вид перечисленных выше активностей?
8. Приведите примеры ЛС группы стероидных гормонов, которые взаимодействуют с реактивом Фелинга, с аммиачным раствором нитрата серебра. Укажите тип реакций и структурные фрагменты, обуславливающие взаимодействие с перечисленными реактивами. Напишите схему реакций.
9. Назовите общие и специфические реакции подлинности сердечных гликозидов. Приведите уравнения соответствующих реакций.
10. Назовите общие и специфические реакции подлинности кортикостероидных гормонов. Приведите уравнения соответствующих реакций.
11. Назовите общие и специфические реакции подлинности андрогенных гормонов и анаболиков. Приведите уравнения соответствующих реакций.
12. Назовите общие и специфические реакции подлинности гестагенных и эстрогенных гормонов. Приведите уравнения соответствующих реакций.
13. Какие методы количественного анализа используются для определения содержания лекарственных веществ стероидной структуры?
14. В чем заключаются способы биологической оценки активности препаратов сердечных гликозидов?
15. Какие лекарственные формы стероидных веществ используются в фармацевтической практике? К какому списку они относятся и как их следует отпускать в аптеках?

Тема 3. ТЕРПЕНЫ

Лекарственные средства, предложенные для изучения:

Моноциклические терпены: ментол, валидол, терпингидрат.

Бициклические терпены: камфора, бромкамфора, кислота сульфокамфорная, сульфокамфокаин.

Ретинолы и их производные (витамины группы А).

АКТУАЛЬНОСТЬ ТЕМЫ: Лекарственные средства изучаемой группы широко применяются в медицинской практике в составе однокомпонентных и многокомпонентных лекарственных форм. Изучаемые лекарственные средства оказывают разнообразное фармакологическое действие: антисептическое, болеутоляющее (ментол), спазмолитическое (валидол), отхаркивающее (терпингидрат), успокаивающее (бромкамфора), стимулирующее ЦНС, кардиотоническое (камфора, кислота сульфокамфорная, сульфокамфокаин); обладают А-витаминной активностью (ретинола ацетат).

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА 4

Контроль качества лекарственных средств из группы терпенов

Цель работы. Освоить методы контроля качества лекарственных средств, производных терпенов.

Задание 1. Написать формулы, латинские и химические названия производных терпенов, предложенных для изучения, описать их внешний вид, физические свойства и применение. Результаты занести в таблицу (Приложение 1).

Задание 2. Подтвердить подлинность препаратов группы при помощи общегрупповой реакции терпенов. Результат оформить в виде таблицы (Приложение 2).

Общегрупповая реакция терпенов – взаимодействие с альдегидами в присутствии концентрированной кислоты серной с образованием различно окрашенных продуктов

Методика. 0,01 г препарата (для валидола на испытание отбирают несколько капель препарата) растворяют в 1 мл концентрированной кислоты серной и прибавляют 1 % раствор ванилина или *n*-диметиламинобензальдегида в концентрированной кислоте серной. Наблюдают появившееся окрашивание, добавляют 1 мл воды и отмечают изменение окрашивания.

Сравнивают полученные результаты с приведенными в табл. 3.1, делают вывод о соответствии.

Окраска продуктов реакции терпенов с ароматическими альдегидами

Лекарственное вещество	Реагент	Окрашивание под действием реагента	Изменение окрашивания при добавлении воды
Ментол	Ванилин	Желтое	Малиново-красное
Валидол	Ванилин	Красно-оранжевое	Малиново-красное
Камфора	<i>n</i> -диметиламино-бензальдегид	Красное	Бесцветный

Задание 3. Подтвердить подлинность и провести количественный анализ сульфокамфокаина (10 % раствор для инъекций). Результаты занести в протокол (Приложение 2, 3,4)

Подлинность (качественные реакции)

Испытание подлинности сульфокамфокаина проводят по реакции образования гидразона (реакция на кетогруппу), реакции на сульфат-анион, образующийся после минерализации (реакция на сульфогруппу) и реакции выделения новокаина-основания (далее может быть проведена реакция образования азокрасителя (реакция на первичную ароматическую аминогруппу)).

а) *Реакция на кето-группу.* М е т о д и к а : 0,05 г сульфокамфокаина растворяют в пробирке в 1 мл воды (0,5 мл раствора для инъекций разбавляют водой до 1 мл), прибавляют 5 мл раствора 2,4-динитрофенилгидразина в кислоте хлороводородной и нагревают до кипения, через 5 мин образуется желто-оранжевый осадок фенилгидразона.

б) *Реакция на сульфогруппу.* М е т о д и к а : 2 мл препарата помещают в выпарительную чашку, прибавляют 0,05 г натрия нитрита и 2 г натрия карбоната. Смесь выпаривают на водяной бане досуха и прокалывают. После охлаждения к остатку прибавляют концентрированную кислоту хлороводородную до конца вспенивания и выпаривают досуха. К остатку прибавляют 20 мл воды, перемешивают и отфильтровывают нерастворившуюся часть. К фильтрату прибавляют 5 мл концентрированной кислоты хлороводородной и нагревают до кипения. К кипящему раствору при перемешивании прибавляют 5 мл 5 % горячего раствора бария хлорида – выпадает белый осадок.

в) *Реакция на новокаин.* М е т о д и к а : К 2 мл раствора препарата прибавляют 1 мл 1М раствора гидроксида натрия – образуются бесцветные маслянистые капли новокаина-основания.

Количественное определение

а) *Новокаин*. М е т о д и к а : К 2 мл сульфокамфокаина прибавляют 5 мл разведенной соляной кислоты и воды дистиллированной до общего объема 40 мл, 0,5 г калия бромида и при постоянном перемешивании титруют 0,05М раствором нитрита натрия (*индикатор – тропеолин 00 в смеси с метиленовым синим*) до перехода красно-фиолетового окрашивания в голубое. Параллельно проводят контрольный опыт.

1 мл 0,05М раствора нитрита натрия соответствует 0,001182 г новокаина-основания, которого в 1 мл препарата должно быть 0,0479-0,0529.

Содержание новокаина в препарате рассчитывают по формуле:

$$X_1 = \frac{(V_1 - V_0) \cdot K_1 \cdot T_1 \cdot P}{a},$$

где X_1 – содержание новокаина в 1 мл препарата, г;

V_1 и V_0 – объем 0,05 М раствора натрия нитрита, пошедшего на титрование в прямом и контрольном опыте, соответственно, мл;

a – объем препарата, взятый для определения, мл;

P – общий объем инъекционного раствора препарата (2 мл).

б) Кислота сульфокамфорная. М е т о д и к а : К 2 мл препарата прибавляют 2,5 мл дистиллированной воды и смесь из 10 мл спирта и 5 мл хлороформа, предварительно нейтрализованного по фенолфталеину, титруют при слабом взбалтывании 0,1н. раствором гидроксида натрия до слабо-розового окрашивания водного слоя. В конце титрования при расслоении смеси прибавляют еще 1 каплю индикатора.

1 мл 0,1н. раствора гидроксида натрия соответствует 0,02323 г кислоты сульфокамфорной, которой в 1 мл препарата должно быть 0,0471-0,0521.

Расчет содержания кислоты сульфокамфорной в препарате (X_2 , г) проводят по формуле:

$$X_2 = \frac{V_2 \cdot K_2 \cdot T_2 \cdot P}{a},$$

где: X_2 – содержание кислоты сульфокамфорной в 1 мл препарата, г;

V_2 – объем 0,1М раствора гидроксида натрия, пошедшего на титрование, мл;

a – объем препарата, взятый для определения, мл;

P – общий объем инъекционного раствора препарата (2 мл).

Задание 4. Подтвердить подлинность и провести количественный анализ ретинола ацетата (3,44 % раствор в масле) – 10,0. Результаты занести в протокол (Приложения 2, 3,4).

Подлинность. Методика: 1 каплю препарата растворяют в 1 мл хлороформа. К полученному раствору прибавляют 5 мл раствора хлорида сурьмы; появляется синее окрашивание.

Приготовленный для количественного определения раствор препарата в абсолютном спирте для спектрофотометрии имеет максимум поглощения при 326 ± 1 нм, а раствор в циклогексане – при $327,5 \pm 1$ нм.

Поглощающие примеси. Измеряют оптическую плотность раствора препарата в абсолютном спирте, приготовленного для количественного определения, при длинах волн 311,5 нм, 326 нм и 337 нм.

Количественное определение. Методика: Около 0,1 г препарата (точная навеска) растворяют в абсолютном спирте для спектрофотометрии в мерной колбе емкостью 100 мл, доводят объем раствора тем же спиртом до метки и перемешивают. Отбирают точное количество полученного раствора и разводят тем же спиртом до получения концентрации ретинола ацетата около 3 мкг (8-10 МЕ) в 1 мл. Измеряют оптическую плотность полученного раствора на спектрофотометре при длине волны 326 нм в кювете с толщиной слоя 1 см. В качестве контрольного раствора применяют абсолютный спирт для спектрофотометрии.

Содержание ретинола ацетата в 1 мл препарата в граммах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{D \cdot 100 \cdot V_1 \cdot \rho}{a \cdot V \cdot 1550 \cdot 100},$$

где: D – оптическая плотность испытуемого раствора;

V_1 – объем раствора первого разведения, взятого для приготовления раствора второго разведения, мл;

V_0 – объем раствора второго разведения, мл;

ρ – плотность препарата;

a – навеска препарата, г;

1550 – удельный показатель поглощения $E_{1\text{см}}^{1\%}$ при длине волны 326 нм для раствора 100 % ретинола ацетата в абсолютном спирте.

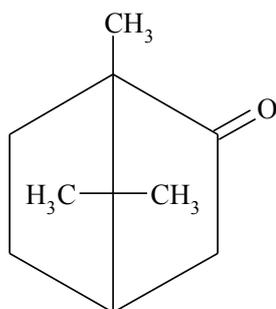
Содержание $C_{22}H_{32}O_2$ в 1 мл препарата должно быть 0,0310-0,0378 г (90000-110000 МЕ).

Задание 5. Ознакомиться с современной НД на одно из лекарственных средств группы терпенов, ответить на вопросы, приведенные в конце задания.

Фармакопейная статья

Camphora
Камфора

ФС 42-2315-99



Препарат, применяемый для инъекций, содержит не менее 97,0 % $\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{O}$. Препарат для наружного применения содержит не менее 94,0 % $\text{C}_{10}\text{H}_{16}\text{O}$.

Описание. Белые кристаллические куски, белый или бесцветный кристаллический порошок, или прессованные плитки с кристаллическим строением, легко режущиеся ножом и слипающиеся в комки. Обладает сильным характерным запахом и приятным горьковатым, затем охлаждающим вкусом. Камфора легко растирается в присутствии небольшого количества спирта 95 % или хлороформа.

Растворимость. Практически нерастворима в воде, легко растворима в спирте 95 %, очень легко растворима в эфире и хлороформе, легко растворима в маслах жирных и эфирных (ГФ XI, вып. 1, с. 175).

Подлинность. Метод газожидкостной хроматографии. Для анализа применяется хроматограф, снабженный детектором по теплопроводности или детектором ионизации в пламени. Колонка из нержавеющей стали 200,0×0,4 см (или 300,0×0,3 см), заполненная сорбентом – смесь 15 % полиэтиленгликоля 4000 и 10 % апиезона L на хроматоне N или N-AW одного из зернений (0,15-0,20; 0,20-0,25; 0,25-0,32) мм. Температура колонки и испарителя поддерживается в изотермическом режиме при 130°C и 200°C, соответственно; скорость газоносителя, гелия или азота 50±10 мл/мин.

0,3 г препарата растворяют в 6 мл ацетона и с помощью микрошприца вводят в прибор 4 мкл раствора.

В приготовленный раствор препарата прибавляют 0,3 г камфоры левовращающей в случае анализа камфоры рацемической или 0,3 г камфоры рацемической в случае анализа камфоры левовращающей. С помощью микрошприца вводят в прибор 4 мкл вновь полученного раствора.

Время анализа от 25 до 35 мин. О подлинности препарата судят по значительному увеличению основного пика камфоры.

1 мл препарата растворяют в 20 мл спирта 95 % и прибавляют 45 мл раствора 2,4-динитрофенилгидразина. После 24 ч выдержки выпавший осадок отделяют на стеклянном фильтре ПОР 16 по ГОСТ 25336-82, промывают 3 раза спиртом 95 % и высушивают в течение 1 ч при температуре от 100 до 105°C.

0,06 г полученного осадка растворяют в 100 мл спирта 95 % (раствор А), 1 мл раствора А переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора спиртом 95 % до метки и перемешивают (раствор Б).

Ультрафиолетовый спектр раствора Б в области от 220 до 450 нм имеет максимумы поглощения при 231 ± 2 нм; 365 ± 2 нм; плечо от 273 до 277 нм.

Температура плавления полученного осадка должна быть от 174 до 176°C для камфоры левовращающей или от 164 до 167°C для камфоры рацемической (ГФ XI, вып. 1, с. 16).

Препарат при осторожном нагревании улетучивается, не обугливаясь.

Примечание. Приготовление раствора 2,4-динитрофенилгидразина. 1,2 г 2,4-динитрофенилгидразина смешивают с 6 мл кислоты серной концентрированной и тщательно перемешивают до максимально возможного растворения. Осторожно прибавляют 9 мл воды, перемешивают до полного растворения и прибавляют 30 мл спирта 95 %. Срок годности раствора 3 мес.

Температура затвердевания. От 174 до 179°C для камфоры левовращающей из пихтового масла и рацемической для инъекций; от 171 до 177°C для камфоры рацемической для наружного применения (ГФ XI, вып. 1, с. 20).

Примечание. Допускается вместо температуры затвердевания определять температуру плавления по ГФ XI, вып. 1, с. 16.

Удельное вращение. От -39° до -44° для камфоры левовращающей из пихтового масла. От $-1,0^\circ$ до $+1^\circ$ для камфоры рацемической из скипидара (10 % раствор в спирте 95-м %, ГФ XI, вып. 1, с. 30).

Прозрачность раствора. Раствор 1,25 г препарата в 5 мл спирта 95 % должен быть прозрачным (ГФ XI, вып. 1, с. 198).

Цветность раствора. Раствор 1,25 г препарата в 5 мл спирта 95 % должен быть бесцветным (ГФ XI, вып. 1, с. 194).

Вода. При растворении 1 г препарата в 10 мл эфира петролейного (ТУ 6-02-1244-83) не должно быть помутнения.

Масло. При отжимании препарата между листами белой писчей бумаги не должно оставаться жирных пятен.

Нелетучий остаток. Около 2 г препарата (точная навеска) нагревают при температуре 100-105°C до полного улетучивания. Остаток не должен превышать 0,05 % (ГФ XI, вып. 1, с. 176).

*Микробиологическая чистота. Препарат в условиях проведения испытания (разведение 1:10) обладает антимикробным действием в отношении грамположительной спорообразующей палочки *Bacillus cereus* и *Staphylococcus aureus*, и гриба *Candido albicans*.*

В 1 г препарата камфоры для инъекций допускается не более 10^2 аэробных бактерий и грибов суммарно при отсутствии бактерий семейства *Enterobacteriaceae*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*.

В 1 г препарата камфоры для наружного применения допускается не более 10^3 аэробных бактерий и 10^2 дрожжевых и плесневых грибов при отсутствии бактерий семейства *Enterobacteriaceae*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*.

Испытания следует проводить в соответствии с требованиями ГФ XI (вып. 2) и изменениями к статье ГФ XI «Методы микробиологического контроля лекарственных средств» от 28.12.95 (категория 1.2 для камфоры для инъекций и категория 2.2 для камфоры для наружного применения).

Для посева на питательные среды № 1 и № 2 следует использовать препарат в разведении 1:20, на питательную среду № 3 – 1:10, на питательную среду № 8 – 1:50.

Количественное определение. Содержание камфоры определяют методом газожидкостной хроматографии, используя метод внутренней нормализации (ГФ XI, вып. 1, с. 109-110). Условия хроматографирования те же, что в разделе «Подлинность». Около 1 г препарата помещают в колбу и растворяют в 1 мл ацетона. 4 мкл приготовленного раствора вводят микрошприцем в испаритель хроматографа. За результаты анализа принимают среднее арифметическое двух параллельных определений.

Полное время анализа 25-35 мин. Относительные времена удерживания основных возможных примесей по отношению к времени удерживания камфоры равны приблизительно 0,25 (трициклен), 0,37 (камфен), 0,74 (фенхон), 0,81 (изофенхон), 0,88 (изофенхол), 1,25 (изоборнеол), 1,30 (борнеол), 1,37 (изокамфанон).

Содержание камфоры (X , %) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{S_k \cdot 100}{\sum S_i},$$

где: S_k – площадь пика камфоры;

$\sum S_i$ – сумма площадей всех пиков компонентов препарата на хроматограмме, за исключением пика ацетона.

Примечание. При записи хроматограммы чувствительность прибора устанавливают такой, чтобы высота пика камфоры составляла не менее 2/3 ширины ленты самописца.

Упаковка. От 10 до 50 кг в ящики деревянные по ГОСТ 18573-86, барабаны металлические оцинкованные тип II по ГОСТ 5044-79, барабаны картонные навивные тип III ГОСТ 17065-77, а также бочки деревянные сухотарные по ГОСТ 8777-80, вместимостью от 100 до 200 л и другую тару по согласованию с потребителем. Тару выстилают пергаментом по ГОСТ 1342-84 в два слоя, снаружи наклеивают этикетку из бумаги этикеточной по ГОСТ 7625-86 или писчей по ГОСТ 18540-87. Транспортная тара в соответствии с ОСТ 64-034-87.

Маркировка. На этикетке указывают предприятие-изготовитель и его товарный знак, название препарата на латинском и русском языках, его вид, количество, условия хранения, регистрационный номер, номер серии, срок годности.

Маркировка транспортной тары в соответствии с ГОСТ 14192-77 с указанием манипуляционного знака «Бойтесь нагрева», знака опасности по ГОСТ 19433-88 (чертеж 4, класс 4, подкласс 4.1, классификационный шифр 4133).

Хранение. В сухом, прохладном месте. Срок годности. 6 лет.

Стимулятор центральной нервной системы, кардиотоническое средство.

Вопросы к заданию 5

1. Почему при разработке НД на лекарственные препараты группы терпенов предпочтение отдается методу ГЖХ?
2. Охарактеризуйте кратко метод газожидкостной хроматографии и его применение в фармакопейном анализе.
3. В чем заключается «метод добавок», используемый при газохроматографическом подтверждении подлинности камфоры по ФС. Ответ мотивируйте демонстрацией соответствующих хроматограмм?
4. В чем заключается метод внутренней нормализации, используемый для количественного определения камфоры по ФС?
5. Что такое «время удерживания» и «относительное время удерживания» компонентов смеси при хроматографических определениях? Как рассчитать относительное время удерживания примесей при газохроматографическом анализе камфоры по ФС?
6. Проведите расчет содержания камфоры в препарате, используя одну из готовых хроматограмм, предложенных преподавателем.
7. Каким еще способом подтверждают подлинность камфоры по ФС? Приведите уравнение реакции, лежащее в основе определения.
8. Какие физические константы определяют при проведении анализа камфоры по ФС? Что характеризуют эти константы?
9. Какими еще общими фармакопейными статьями ГФ XI вы должны были бы воспользоваться, проводя контроль качества камфоры по ФС?

Контрольные вопросы по теме 3 «Терпены»

1. Напишите структурные формулы ментола, камфоры, кислоты сульфокамфорной, сульфокамфокаина, валидола, рктинола. Выделите изопреновые фрагменты в основе строения этих соединений. Дайте обоснование для классификации терпенов по их химическому строению.
2. Объясните значение показателя удельного вращения в оценке качества камфоры и ментола, исходя из их химического строения и способов получения.
3. Дайте обоснование условий хранения терпингидрата, ментола, камфоры, ретинола ацетата. Укажите неблагоприятные факторы внешней среды, влияющие на качество указанных лекарственных веществ.
4. Рассмотрите возможность применения спектрофотометрии в УФ- или видимой области спектра в анализе камфоры, ментола, ретинола ацетата.
5. Напишите уравнения реакций, лежащих в основе определения подлинности препаратов группы терпенов.
6. Напишите уравнения реакций, лежащих в основе количественного определения бромкамфоры, кислоты сульфокамфорной, сульфокамфокаина. Приведите формулы для расчета молярной массы эквивалента, титра и содержания указанных веществ.
7. Обоснуйте применение спирто-хлороформной смеси для растворения навески при количественном определении кислоты сульфокамфорной и сульфокамфокаина. Почему спирто-хлороформную смесь предварительно нейтрализуют по фенолфталеину?

Тема 4. ФЕНОЛЫ И ИХ ПРОИЗВОДНЫЕ

Химические и физико-химические методы установления подлинности производных фенолов

АКТУАЛЬНОСТЬ ТЕМЫ. К группе лекарственных веществ, производных фенолов относятся: антисептические средства - фенол, резорцин; антигельминтное средство – тимол; синтетические аналоги эстрогенов – синестрол, диэтилстильбэстрол; противоопухолевое средство – тамоксифена цитрат.

Для подтверждения качества препаратов проводится комплекс испытаний, основанных как на физических, так и на химических свойствах лекарственных веществ.

Исследуемые лекарственные препараты имеют характерные спектры поглощения в УФ-области с максимумами в диапазоне 230-300 нм, что обусловлено наличием фенольного гидроксила ($\lambda_{\max}=280$ нм) в структуре соединений. Спектральные характеристики некоторых лекарственных средств представлены в таблице 4.1.

Таблица 4.1

Спектральные характеристики некоторых лекарственных веществ

Препарат	Растворитель	λ_{\max} , нм
Фенол	Вода	280
Резорцин	Этанол-вода	275
Тамоксифен	Этанол- HCl	237, 277
Синестрол	Этанол	280
Диэтилстильбэсторл	Этанол	242

Химические свойства препаратов изучаемой группы обусловлены присутствием фенольного гидроксила. Эти соединения вступают в реакции кислотно-основного, окислительно-восстановительного типа и электрофильного замещения.

Применение общих типов реакций и их сочетание, использование различных реагентов и растворителей позволяют идентифицировать и дифференцировать препараты.

Фенолы проявляют значительно большую кислотность, чем спирты и вода, однако они слабее угольной и карбоновых кислот.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА № 5

Определение подлинности лекарственных веществ, производных фенолов

Цель работы: Освоить методы определения подлинности лекарственных средств, производных фенолов.

Задание 1. Написать формулы, латинские и химические названия производных фенолов, предложенных для изучения, описать их внешний вид и физико-химические свойства. Результаты оформить в виде таблицы (Приложение 1).

Задание 2. Изучить и провести общие реакции определения подлинности фенола и его производных. Результаты анализа оформить в виде таблицы (Приложение 2).

2.1. Реакция с хлоридом железа (III)

Характерной качественной реакцией на фенолы является реакция с хлоридом железа (III). Различная растворимость препаратов в воде и цвет образующегося комплекса используются для дифференцирования соединений данной группы. Так фенол и резорцин образуют с хлоридом железа (III) комплексное соединение в водной среде без нагревания; синестрол и тимол - в спиртовой среде.

При выполнении данной реакции необходимо контролировать pH, т.к. в щелочной среде может образовываться гидроксид железа бурого цвета, который маскирует цвет образующегося комплекса железа с фенолами.

М е т о д и к а. К 0,01 г препарата, растворенного в 1 мл воды (для фенола и резорцина) или в 1 мл 95 % спирта (для синестрола, диэтилстильбестрола и тимола) добавляют 2 капли раствора железа (III) хлорида – наблюдается характерное окрашивание (см. табл. 4.2).

Таблица 4.2

Окраска комплексов препаратов с железа (III) хлоридом

Препарат	Растворитель	Окраска комплекса
Фенол	Вода	Фиолетовая
Резорцин	Вода	Сине-фиолетовая
Тимол	Этанол	Светло-зеленая
Синестрол	Этанол	Зеленая
Диэтилстильбэсторл	Этанол	Желто-зеленая

2.2. Реакции электрофильного замещения

а) Нитрование. Фенолы нитруются разбавленной кислотой азотной при комнатной температуре с образованием о- и п- нитрофенола.

М е т о д и к а. К 0,001 г препарата, растворенного в 2 мл воды или спирте (см. п. 2.1), добавляют 1-2 мл разведенной кислоты азотной и нагревают на водяной бане. Постепенно появляется желтое окрашивание.

б) Бромирование. Если бромирование производных фенола вести бромной водой, то образуется белый осадок трибромфенола.

М е т о д и к а. 0,05 г лекарственной формы растворяют в 2 мл воды или спирта (см. п. 2.1.). Прибавляют по каплям бромную воду. Выпадает белый осадок.

2.3. Реакция сочетания фенолов с солью диазония

При взаимодействии фенолов с солью диазония образуется азокраситель. Сочетание идет в о- и п- положениях по отношению к фенольному гидроксилу в щелочной среде (рН=9,0-10,0). В нейтральной среде выпадает осадок красного цвета. При рН>10 реакция азосочетания протекать не будет из-за перехода соли диазония в соль диазогидрата.

М е т о д и к а. К 0,05 г препарата, растворенного в 5 мл воды или спирта (см. п. 2.1), добавляют 1 мл диазореактива. Появляется красное или оранжевое окрашивание. При добавлении 0,5 г натрия ацетата образуется желтый осадок.

2.4. Реакции окисления

а) Индофеноловая проба. Проба проводится в растворе аммиака при действии такими окислителями, как хлорная известь, хлорамин, бромная вода.

М е т о д и к а. 0,05 г препарата растворяют в 0,5 мл раствора аммиака и добавляют 3-4 капли раствора хлорамина. Нагревают смесь на кипящей водяной бане. Через несколько минут появляется окрашивание, изменяющееся от добавления кислот. Результаты сравнивают с данными таблицы 4.3.

Таблица 4.3

Окраска индофенолов

Вещество	Без добавления кислот	При последующем добавлении кислот
Фенол	Сине-зеленая	Красная
Тимол	Слабо-розовая	Желтая
Резорцин	Буро-желтая	Красная

б) Нитрозореакция Либермана. Эта реакция является разновидностью индофеноловой реакции. Реакция используется для дифференциации препаратов данной группы.

М е т о д и к а. 0,01 г препарата помещают на предметное стекло, смачивают 2-3 каплями 1 % раствора натрия нитрита в концентрированной кислоте серной. Наблюдается окрашивание, изменяющееся при добавлении раствора щелочи. Результаты сравниваются с данными таблицы 4.4.

Таблица 4.4

Окраска индофенолов

Вещество	Без добавления щелочи	После добавления щелочи
Фенол	Темно-зеленая	Вишнево-красная
Тимол	Сине-зеленая	Фиолетовая
Резорцин	Фиолетово-черная	Фиолетовая
Синестрол	Красно-фиолетовая	Вишневая

а) Реакция Марки (с формальдегидом и концентрированной кислотой серной). При взаимодействии фенолов с реактивом Марки образуется окрашенный арилметановый краситель.

М е т о д и к а. 10 мг препарата помещают на часовое стекло и добавляют 3 капли реактива Марки. При стоянии появляется красное окрашивание.

б) Реакция тимола с концентрированной азотной кислотой.

М е т о д и к а. 5 мг тимола растворяют в 1 мл ледяной уксусной кислоты, прибавляют 6 капель концентрированной кислоты серной и 1 каплю концентрированной кислоты азотной. В отраженном свете наблюдается сине-зеленое окрашивание, в проходящем свете – темно-красное.

в) Реакция резорцина с фталевым ангидридом.

М е т о д и к а. 0,01 г резорцина сплавляют в фарфоровом тигле с избытком фталевого ангидрида в присутствии нескольких капель концентрированной кислоты серной. Полученный плав желто-красного цвета после охлаждения выливают в разбавленный раствор щелочи. Появляется интенсивная зеленая флюоресценция образующегося в результате реакции флюоресцеина.

Задание 3. Подтвердить подлинность резорцина методом СФ в УФ. Полученные результаты и УФ-спектр занести в протокол (Приложение 3).

М е т о д и к а. Приготовить 0,003 % водно-спиртовой раствор резорцина (3 мг резорцина растворить в смеси спирт этиловый 95 % - вода (1:2), перенести количественно в мерную колбу вместимостью 100 мл, довести до метки растворителем). Снять УФ-спектр полученного раствора на спектрофотометре СФ-46 в области от 250 до 280 нм. Спектр раствора резорцина должен иметь максимум при 275 ± 2 нм. Допускается наличие плеча в области 278-280 нм.

Задание 4. Подтвердить подлинность синестрола методом СФ в УФ. Полученные результаты и УФ-спектр занести в протокол (Приложение 3).

М е т о д и к а. Приготовить 0,005 % водно-спиртовой раствор синестрола (5 мг синестрола растворить в спирте этиловом 95 %, перенести количественно в мерную колбу вместимостью 100 мл). Снять УФ-спектр полученного раствора на спектрофотометре СФ-46 в области от 230 до 350 нм. Спектр раствора синестрола должен иметь максимум при 280 ± 2 нм, минимум при 247 нм. Допускается наличие плеча в области 283-287 нм.

Контрольные вопросы по теме «Фенолы»

1. Какие лекарственные вещества относятся к производным фенолов?
2. Какие физические свойства фенолов могут быть использованы для характеристики подлинности и доброкачественности?
3. Какие химические реакции подлинности являются для производных фенола общегрупповыми и дифференцирующими?
4. В чем сходство и в чем отличие реакций Либермана и индофеноловой пробы?
5. Какие химические реакции используются для количественного определения производных фенола?
6. Какие особенности химического строения позволяют проводить контроль качества лекарственных средств, производных фенола физико-химическими методами?
7. В чем суть прямого и обратного броматометрического количественного определения? Для каких лекарственных веществ производных фенолов включены в НД эти методы?
8. С какой целью применяют препараты производных фенолов в медицинской практике?
9. Условия хранения препаратов, производных фенолов.

Тема 5. АРОМАТИЧЕСКИЕ КИСЛОТЫ И ИХ ПРОИЗВОДНЫЕ. ПРОИЗВОДНЫЕ ПАРА-АМИНОФЕНОЛА

АКТУАЛЬНОСТЬ ТЕМЫ. Лекарственные средства изучаемой группы широко применяются в медицинской практике в составе однокомпонентных и многокомпонентных лекарственных форм промышленного и внутриаптечного производства.

Изучаемые лекарственные средства оказывают разнообразное фармакологическое действие: антисептическое (кислоты бензойная и салициловая, фенолсалицилат), противовоспалительное, болеутоляющее, жаропонижающее (кислота ацетилсалициловая, натрия салицилат, салициламид, парацетамол), отхаркивающее (натрия бензоат), желчегонное (оксафенамид).

Лекарственные средства, предложенные для изучения:

Ароматические кислоты и их соли: кислота бензойная, натрия бензоат, кислота салициловая, натрия салицилат.

Амиды салициловой кислоты: оксафенамид, салициламид.

Сложные эфиры салициловой кислоты: кислота ацетилсалициловая, фенолсалицилат.

Производные п-аминофенола: парацетамол.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА 6

Контроль качества экстенпоральных лекарственных форм, содержащих ароматические кислоты и их производные

Цель работы: Освоить методы оценки качества лекарственных средств, содержащих ароматические кислоты и их производные; производные п-аминофенола.

Задание 1. Написать формулы, латинские и химические названия ароматических кислот и их производных, предложенных для изучения, описать их внешний вид, физические свойства и применение. Ответ оформить в виде таблицы (Приложение 1).

Задание 2. Изучить и провести качественные реакции на лекарственные средства группы, результаты занести в протокол (Приложение 2).

Реакция с железа (III) хлоридом

Характерной качественной реакцией на ароматические кислоты и их производные является реакция с железа (III) хлоридом.

Различная растворимость препаратов в воде и цвет комплекса могут быть использованы для дифференцирования соединений данной группы. Так, парацетамол, натрия салицилат, натрия бензоат образуют комплекс непосредственно с железа (III) хлоридом при обычной температуре; салициловая кислота – при нагревании, оксафенамид – в спиртовой среде; ацетилсалициловая кислота – только после гидролиза; бензойная кислота – после перевода ее в диссоциируемое соединение (натриевую соль).

При выполнении данной реакции необходимо контролировать щелочность. В щелочной среде может образоваться гидроксид железа бурого цвета, который будет маскировать окраску комплекса. Реакция не проходит и в сильноокислой среде из-за низкой диссоциации фенольного гидроксила.

а) Реакция с железа (III) хлоридом.

М е т о д и к а . К навеске препарата, указанной в таблице 5.1, растворенного в соответствующем объеме растворителя, добавляют 2-3 капли 3 % раствора хлорида железа (III), наблюдается характерное окрашивание (табл. 5.1).

Таблица 5.1

Условия образования и окраска комплексов препаратов с железа (III) хлоридом

Препарат	Навеска, г	Растворитель	Дополнительные условия	Окраска комплекса
Кислота бензойная	0,02	0,1М р-р NaOH 2 мл	нет	Розовато-желтый (телесный) осадок
Натрия бензоат	0,02	Вода 2 мл	нет	Розовато-желтый (телесный) осадок
Кислота салициловая	0,01	Вода 3 мл	нет	Сине-фиолетовое, исчезающее от прибавления неск. капель разв. HCl и не исчезающее при добавлении разведенной уксусной кислоты
Натрия салицилат	0,05	Вода 5 мл	+ 2-3 капли разв. HCl	Красно-фиолетовая
Оксафенамид	0,01	Этанол 2 мл + вода 5 мл	нет	Красно-фиолетовая
Кислота ацетилсалициловая	0,25	Р-р NaOH 3 мл	Кипячение 3 мин, подкисление H ₂ SO ₄ разв.; к осадку прибавляют 5 мл воды	Сине-фиолетовая
Парацетамол	0,05	Вода 3-5 мл	нет	Сине-фиолетовая

б) *Провести реакции подлинности на салициловую кислоту.*

Методики. 1. К 0,02 г препарата прибавляют 0,5 мл реактива Марки и нагревают, появляется малиновое окрашивание (ауриновый краситель).

2. К 0,1 г препарата прибавляют 0,3 г натрия цитрата и нагревают, появляется запах фенола.

в) *Провести реакции подлинности на бензоат- и салицилат-ионы.*

Реакция с меди сульфатом

Реакция с меди сульфатом позволяет не только обнаружить бензоат- и салицилат-ионы в натрия бензоате и натрия салицилате, но и отличить два этих соединения друг от друга. Для повышения специфичности реакции вводится органический растворитель – хлороформ. Комплекс бензоат–медь переходит в хлороформный слой и окрашивает его в голубой цвет, а комплекс салицилат–медь остается в водном слое. Данная модификация методики позволяет идентифицировать эти соединения в смеси.

Методики. 1. 0,05 г натрия бензоата растворяют в 1,5 мл воды и добавляют 1-2 капли раствора меди сульфата. Появляется голубое окрашивание. При добавлении 1 мл хлороформа слой органического растворителя окрашивается в голубой цвет, а водный - обесцвечивается.

2. 0,05 г натрия салицилата растворяют в 2 мл воды и прибавляют несколько капель раствора меди сульфата. Раствор окрашивается в зеленый цвет. При добавлении хлороформа окраска водного слоя сохраняется.

г) *Провести реакцию подлинности на оксафенамид.*

Методика. К 0,05 г препарата прибавляют 3 мл концентрированной кислоты хлороводородной, кипятят 3 мин и охлаждают, после чего прибавляют 2 мл 0,5 % раствора резорцина и 10 мл раствора гидроксида натрия, образуется красно-фиолетовое окрашивание (индофеноловый краситель).

д) *Провести реакции подлинности на кислоту ацетилсалициловую.*

Методики. 1. 0,25 г препарата кипятят с 3 мл раствора гидроксида натрия в течение 3 мин, охлаждают и подкисляют разведенной серной кислотой, выпадает белый кристаллический осадок салициловой кислоты, который отфильтровывают. К фильтрату прибавляют 2 мл этанола и 1 мл концентрированной серной кислоты, появляется запах этилацетата. К осадку прибавляют 5 мл воды, переносят в пробирку и прибавляют 2-3 капли 3 % раствора хлорида железа (III), появляется сине-фиолетовое окрашивание.

2. 0,2 г препарата помещают в фарфоровую чашку и прибавляют 0,5 мл концентрированной серной кислоты – появляется запах уксусной кислоты, после чего прибавляют несколько капель раствора формальдегида (формалина) – появляется розовое окрашивание.

е) *Провести реакцию подлинности на парацетамол.*

Методики. 1. К 0,05 г препарата прибавляют 2 мл разведенной соляной

кислоты, кипятят в течение 1-2 мин и охлаждают, после чего прибавляют 1-2 капли бихромата калия, появляется фиолетовое окрашивание, не переходящее в красное (отличие от фенацетина).

2. К 0,1 г препарата прибавляют 2 мл разведенной серной кислоты и 1 мл этанола, нагревают, появляется запах этилацетата.

Задание 3. Провести контроль качества раствора натрия бензоата 10 %. Результаты занести в протокол (Приложения 2, 3, 4)

Пропись № 1

Раствор натрия бензоата 10 % - 100 мл
Solutio Natrii benzoatis 10 % - 100ml

Подлинность (качественные реакции)

1. *Натрий-ион.* Часть раствора на графитовой палочке вносят в бесцветное пламя; пламя окрашивается в желтый цвет.

2. *Бензоат-ион.* К 2-3 каплям раствора прибавляют 1 мл воды и 1—2 капли раствора железа (III) хлорида; образуется розовато-желтый осадок.

Количественное определение

5 мл раствора помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводят объем раствора водой до метки. К 4 мл полученного раствора прибавляют 2 мл воды, 8-10 мл эфира, 2 капли раствора метилового оранжевого, 1 каплю раствора метиленового синего и титруют при взбалтывании 0,1 н раствором кислоты хлороводородной до сине-фиолетового окрашивания водного слоя.

1 мл 0,1 н раствора кислоты хлороводородной соответствует 0,0144 г бензоата натрия.

Расчет содержания натрия бензоата (X, %) в растворе проводят по формуле:

$$X = \frac{V \cdot K \cdot T \cdot V_2 \cdot 100}{a \cdot V_1},$$

где: V- объем хлороводородной кислоты (0,1н), пошедший на титрование, мл;

V₁ - объем анализируемого раствора, взятый для анализа (5мл);

V₂ - объем раствора, полученный при первом разведении, мл (50мл);

a - аликвота разведенного раствора, отобранная для титрования (4мл);

K - поправочный коэффициент к концентрации титранта;

T- титр стандартного раствора по определяемому веществу (0,0144 г/мл).

Задание 4. Провести контроль качества мази салициловой 2 или 4 %. Результаты занести в протокол (Приложения 2, 3, 4).

Пропись № 2

Мазь салициловая 4 %-10,0
Unguentum salicylicum 4 %-10,0

Кислоты салициловой	0,4	<i>Acidi salicylici</i>	0,4
Вазелина	9,6	<i>Vaselini</i>	9,6

Органолептический контроль

Мазь белого цвета без постороннего запаха.

Подлинность (качественные реакции)

Кислота салициловая. К 0,2 г мази прибавляют 2 мл воды, взбалтывают в течение 1 минуты, затем прибавляют 1 каплю раствора железа окисного хлорида. Появляется фиолетовое окрашивание, сохраняющееся при добавлении небольшого количества уксусной кислоты, но исчезающее от добавления 0,5 мл разведенной хлороводородной кислоты.

Количественное определение

К 0,3 г мази прибавляют 2 мл спирта и растворяют кислоту салициловую при нагревании на водяной бане. После охлаждения прибавляют 4-5 капель раствора фенолфталеина и титруют раствором натра едкого (0,1 моль/л) до розового окрашивания.

1 мл раствора натра едкого (0,1 моль/л) соответствует 0,01381 г кислоты салициловой.

Расчет содержания кислоты салициловой (X , г) в мази проводят по формуле:

$$X = \frac{V \cdot K \cdot T \cdot b}{a},$$

где: V - объем раствора гидроксида натрия (0,1 М), пошедший на титрование, мл;

a - навеска мази, взятая на анализ (0,3 г);

b - масса мази по прописи, г;

K - поправочный коэффициент к концентрации титранта;

T - титр стандартного раствора по определяемому веществу (0,01381 г/мл).

Пропись № 3

Мазь салициловая 2 % - 25,0
Unguentum salicylicum 2 % - 10,0

Кислоты салициловой	0,5	<i>Acidi salicylici</i>	0,5
Вазелина	24,5	<i>Vaselini</i>	24,5

Органолептический контроль

Мазь белого цвета без постороннего запаха.

Подлинность (качественные реакции)

0,05 г мази растирают с 8-10 каплями 95 % спирта и прибавляют 1-2 капли раствора железа (III) хлорида; появляется сине-фиолетовое окрашивание.

Количественное определение

1,0 г мази помещают в колбу для титрования, прибавляют 8-10 мл спирта, нагревают (при перемешивании) до расплавления основы. Затем прибавляют 6-7 капель раствора фенолфталеина и титруют при взбалтывании 0,1 н. раствором натрия гидроксида до розового окрашивания водного слоя.

1 мл 0,1 н. раствора натрия гидроксида соответствует 0,01381 г кислоты салициловой.

Расчет содержания кислоты салициловой (X , г) в мази проводят по формуле:

$$X = \frac{V \cdot K \cdot T \cdot b}{a},$$

где: V - объем раствора гидроксида натрия (0,1 М), пошедший на титрование, мл;

a - навеска мази, взятая на анализ (1,0 г);

b - масса мази по прописи, г;

K - поправочный коэффициент к концентрации титранта;

T - титр стандартного раствора по определяемому веществу (0,01381 г/мл).

Задание 5. Провести контроль качества спиртового раствора, содержащего лекарственные вещества изучаемой группы. Результаты занести в паспорт аналитического контроля (Приложение 5).

При изготовлении спиртовых растворов сухие вещества отвешивают, а спирт дозируют по объему в количестве, прописанном в рецепте. При этом происходит увеличение общего объема лекарственной формы, что следует учитывать при проведении анализа. В расчетную формулу подставляют объем лекарственного средства, рассчитанный с учетом количества сухих веществ и коэффициентов увеличения объема (КУО) (приказ № 308 МЗ РФ). При этом не учитывают плотность анализируемого объекта. Аликвоту для анализа берут по объему (пипеткой). Концентрация спирта в спирто-водных растворах определяется рефрактометрически.

Пропись № 4

Кислоты салициловой	1,0
Резорцина	0,5
Спирта этилового 70 %	50,0 мл

В связи с тем, что компоненты раствора являются производными фенола, для их идентификации не пригодны групповые реакции железа окисного хлорида или с реактивом Марки, поэтому для качественного анализа применяют неофициальные реакции (см. методику анализа ниже).

Количественное определение ингредиентов проводят в два этапа. Определяют в сумме резорцин и кислоту салициловую как производные фенола методами обратной броматометрии или йодхлорметрии.

Кислоту салициловую определяют в отдельной навеске алкалиметрически. При расчете рН в точке эквивалентности (т.э.) с целью выбора индикатора следует учитывать вклад в суммарную кислотность обоих компонентов: для резорцина $pK_a = 9,44$, для кислоты салициловой $pK_a = 3,99$ (спирт 50 %-й). Величина pK_a зависит от растворителя. Так как отношение констант диссоциации составляет величину, большую, чем 10^4 , значение $pH_{т.э.}$ для кислоты салициловой можно рассчитать по формуле:

$$pH = \frac{pK_{a1} + pK_{a2}}{2} = \frac{3,99 + 9,44}{2} = 6,72.$$

Такому значению рН соответствует индикатор бромтимоловый синий. При количественном определении учитывают КУО: КУО резорцина для 70 %-го спирта – 0,77 мл/г, КУО кислоты салициловой – 0,77 мл/г. Объем лекарственной формы равен $50 + 1 \cdot 0,77 + 0,5 \cdot 0,77 = 51,15$ мл. Навеску берут по объему, и плотность раствора в расчетах можно не учитывать.

Методика анализа

Органолептический контроль

Бесцветная прозрачная жидкость с характерным запахом спирта.

Подлинность

Резорцин. К 0,5 мл раствора прибавляют 1 мл раствора натра едкого, 2-3 капли хлороформа и нагревают до кипения. Появляется красное окрашивание.

Кислота салициловая. В фарфоровую чашку помещают 1 каплю раствора, прибавляют 1-2 капли раствора натра едкого (0,1 моль/л) и 1-2 капли раствора меди сульфата. Появляется зеленое окрашивание.

Количественное определение

Кислота салициловая. К 2 мл анализируемого раствора прибавляют 1-2 капли раствора бромтимолового синего и титруют раствором натра едкого (0,1 моль/л) до голубого окрашивания.

Резорцин. 1 мл раствора помещают в мерную колбу (или цилиндр), прибавляют 3 мл раствора натра едкого и воды до 10 мл, перемешивают. К 2 мл полученного разведения (1:10) прибавляют 2 мл 50 %-ой серной кислоты, 0,3 г калия бромид, 5 мл раствора калия бромата (0,1 моль/л) и ставят в темное место. Через 15 мин прибавляют 2 мл раствора калия йодида и через 5 мин титруют выделившийся йод раствором натрия тиосульфата (0,1 моль/л) (индикатор – раствор крахмала).

Содержание резорцина рассчитывают по разности двух результатов титрований, учитывая, что количество раствора натра едкого (0,1 моль/л), израсходованного на титрование кислоты салициловой, в 6 раз меньше эквивалентного количества раствора калия бромата (0,1 моль/л).

Содержание резорцина (в граммах) рассчитывают по формуле обратного титрования с учетом разведения.

Задание 6. Провести фармакопейный анализ кислоты ацетилсалициловой в таблетках. Результаты анализа занести в паспорт аналитического контроля (Приложение 5).

Таблетки кислоты ацетилсалициловой 0,25 г или 0,5 г
Tabulettae Acidi acetylsalicylici 0,25 aut 0,5

Состав:

Кислоты ацетилсалициловой - 0,25г или 0,5 г
Вспомогательных веществ – достаточное количество

Описание

Таблетки белого цвета, слабокислого вкуса.

Подлинность

0,5 г порошка растертых таблеток кипятят в течение 3 минут с 5 мл раствора едкого натра, затем охлаждают и подкисляют разведенной серной кислотой; выделяется белый кристаллический осадок. Раствор сливают в другую пробирку и добавляют к нему 2 мл спирта и 2 мл концентрированной серной кислоты: раствор имеет запах уксусноэтилового эфира.

К полученному осадку добавляют 1-2 капли раствора хлорида окисного железа, появляется фиолетовое окрашивание.

0,2 г препарата помещают в фарфоровую чашку, добавляют 0,5 мл концентрированной серной кислоты, перемешивают и добавляют 1-2 капли воды: ощущается запах уксусной кислоты. Затем добавляют 1-2 капли формалина: появляется розовое окрашивание.

Примесь свободной салициловой кислоты

Навеску порошка растертых таблеток, соответствующую 0,3 г ацетилсалициловой кислоты, растворяют в 5 мл спирта и прибавляют 25 мл воды (испытываемый раствор).

В один цилиндр помещают 15 мл этого раствора, в другой – 15мл того же раствора, 0,5 мл 0,01 % водного раствора салициловой кислоты, 2 мл спирта и доводят водой до 15 мл (эталонный раствор). Затем в оба цилиндра добавляют по 1 мл кислого 0,2 % раствора железоаммониевых квасцов.

Окраска испытуемого раствора не должна быть интенсивнее эталонного раствора (не более 0,05 % в препарате).

Содержание свободной салициловой кислоты должно быть соответственно не более 0,00062 г или 0,00125 г, считая на средний вес одной таблетки.

Количественное определение

Около 0,3 г (точная навеска) порошка растертых таблеток взбалтывают с 10 мл нейтрализованного по фенолфталеину спирта в течение 10 минут. Затем жидкость охлаждают до 8-10⁰С и титруют с тем же индикатором 0,1 н. раствором едкого натра до розового окрашивания.

1 мл 0,1 н. раствора едкого натра соответствует 0,01802 г C₉H₈O₄, которой соответственно должно быть 0,238-0,262 г или 0,475-0,525 г, считая на средний вес одной таблетки.

Расчет содержания кислоты ацетилсалициловой (X, г) в таблетках проводят по формуле:

$$X = \frac{V \cdot K \cdot T \cdot b}{a},$$

где: V- объем раствора гидроксида натрия (0,1 М), пошедший на титрование, мл;

a - навеска порошка растертых таблеток, взятая для анализа (0,3 г);

b - средняя масса одной таблетки в граммах, определенная по методике ГФ XI, ч. II, С. 156;

K - поправочный коэффициент к концентрации титранта;

T - титр стандартного раствора по определяемому веществу;

Задание 8. Провести контроль качества лекарственной формы заводского изготовления. Колдрекс Найт (сироп). Результаты анализа занести в паспорт аналитического контроля (Приложение 5).

Пропись № 5

Колдрекс Найт (сироп)

Состав на 20 мл сиропа:

Парацетамола	1 г
Прометазина гидрохлорида	0,02 г
Декстрометорфана гидробромида	0,015 г

Органолептический контроль

Бесцветная вязкая прозрачная жидкость.

Подлинность

Содержание парацетамола значительно превышает содержание других лекарственных веществ. Определение лекарственного вещества, как качественное, так и количественное, возможно с применением УФ-спектрофотометрии.

Количественное определение

Около 1 г сиропа (точная навеска) помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, добавляют небольшое количество воды, перемешивают и доводят объем раствора до метки.

2 мл полученного раствора переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл, добавляют 10 мл 0,1 н. раствора натрия гидроксида и доводят объем водой до метки (*испытываемый раствор*).

Приготовление раствора стандартного образца: около 0,1 г стандартного образца парацетамола (точная навеска) помещают в мерную колбу вместимостью 200 мл, добавляют воду, энергично встряхивают до растворения лекарственного вещества и доводят объем водой до метки.

2 мл полученного раствора переносят в колбу вместимостью 100 мл, добавляют 10 мл 0,1 моль/л раствора натрия гидроксида и доводят объем водой до метки.

Измеряют оптическую плотность испытуемого раствора и раствора стандартного образца на спектрофотометре при длине волны 257 нм, используя в качестве раствора сравнения 0,01 моль/л раствор натрия гидроксида.

Содержание *парацетамола* (X , г) (в г/1 мл сиропа) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{A_x \cdot 100 \cdot 100 \cdot 0,00001 \cdot 20}{A_{ст} \cdot 1 \cdot 2},$$

где: X – содержание парацетамола, г/20 мл;

A_x – оптическая плотность испытуемого раствора;

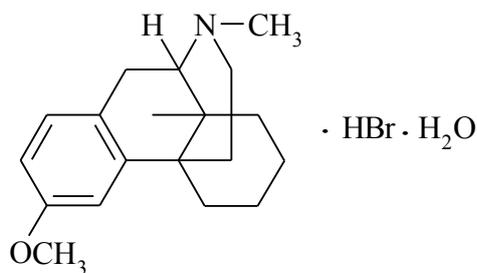
$A_{ст}$ – оптическая плотность раствора стандартного образца парацетамола;

0,00001 – содержание парацетамола в 1 мл раствора стандартного образца, г.

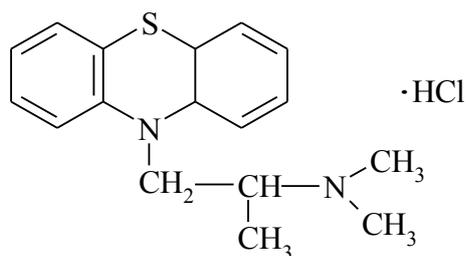
Методики анализа других ингредиентов сиропа приведены ниже для ознакомления и на практическом занятии не выполняются.

Прометазина гидрохлорид (дипразин) и декстрометорфана гидробромид качественно и количественно определяют методом ВЭЖХ.

Декстрометорфана гидробромид (9S, 13S, 14S)-метокси-9 α -метилморфина гидробромид:



Прометазина гидрохлорид (10-(2-диметиламинопропил)фенотиазина гидрохлорид):



Условия разделения

1. Колонка типа Spherisorb с внутренним диаметром 4,6 мм, длиной 15 см.
2. Скорость потока 2 мл/мин.
3. Объем вводимой пробы 20 мкл.
4. УФ-детектор с рабочей длиной волны 220 нм.
5. Подвижная фаза – 2 г натрия дигидрофосфата помещают в мерную колбу вместимостью 1 л, растворяют в 800 мл воды и доводят объем до метки ацетонитрилом.
6. Растворитель – 5 г натрия дигидрофосфата и 4 г кислоты аскорбиновой растворяют в 3 л воды, добавляют 2 л ацетонитрила и хорошо перемешивают.

Приготовление испытуемого раствора. 6 г сиропа (точная навеска) помещают в мерную колбу вместимостью 250 мл, доводят объем растворителем до метки и хорошо перемешивают.

Приготовление раствора стандартного образца. 0,075 г стандартного образца декстрометорфана гидробромида и 0,01 г стандартного образца прометазина гидрохлорида (точные навески) помещают в мерную колбу вместимостью 250 мл, растворяют в небольшом объеме растворителя и доводят объем им же до метки.

5 мл полученного раствора переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводят объем растворителем до метки.

Содержание декстрометорфана гидробромида и прометазина гидрохлорида (в г/20 мл сиропа) рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{S_i \cdot a_{oi} \cdot b}{S_{oi} \cdot a}$$

где X - прометазина гидрохлорида или декстрометорфана гидробромида, г/20мл сиропа;

S_i - площадь пика определяемого компонента на хроматограмме испытуемого раствора;

S_{0i} - площадь пика определяемого компонента на хроматограмме рабочих стандартных образцов;

a_{0i} - навеска рабочего стандартного образца определяемого компонента, г;

a - навеска сиропа, г;

b - содержание стандартного образца препарата в 1 мл раствора стандартного образца, г.

Контрольные вопросы по теме 5 «Ароматические кислоты и их производные»

1. Напишите структурные формулы и рациональные названия лекарственных веществ, предложенных для изучения в данной теме. Охарактеризуйте внешний вид изучаемых веществ, растворимость и реакцию среды растворов.

2. Охарактеризуйте химические свойства лекарственных веществ данной группы:

а) кислотно-основные;

б) окислительно-восстановительные;

в) способность к гидролитическому расщеплению;

г) характерные реакции и степень их специфичности;

д) значение химических превращений данных веществ для решения вопросов хранения и стабильности.

3. Могут ли взаимодействовать перечисленные ниже лекарственные вещества щелочью, с кислотой (при нагревании, без нагревания): кислота бензойная, кислота ацетилсалициловая, фенилсалицилат? Напишите химизм реакций.

4. На основе химической структуры лекарственных веществ (кислота салициловая, натрия салицилат, оксафенамид, кислота бензойная, натрия бензоат) объясните растворимость в воде некоторых из них.

5. Напишите реакции, лежащие в основе установления подлинности веществ данной группы.

6. Напишите уравнения реакций, лежащих в основе количественного определения изучаемых веществ. Приведите формулы для расчета молярной массы эквивалента, титра и содержания указанных веществ.

Тема 6. ЛЕКАРСТВЕННЫЕ СРЕДСТВА ПРОИЗВОДНЫЕ АРОМАТИЧЕСКИХ АМИНОКИСЛОТ. ДИЭТИЛАМИНОАЦЕТАНИЛИДЫ

Лекарственные вещества, предложенные для изучения:

Производные пара-аминобензойной кислоты: анестезин, новокаин, дикаин, новокаинамид.

Производные пара-аминосалициловой кислоты: натрия п-амино-салицилат

Производные фенилуксусной кислоты: диклофенак натрия (ортофен).

Диэтиламиноацетанилиды: тримекаина гидрохлорид, лидокаина гидрохлорид.

АКТУАЛЬНОСТЬ ТЕМЫ. Лекарственные средства изучаемой группы широко применяются в медицинской практике в составе однокомпонентных и многокомпонентных лекарственных форм промышленного и внутриаптечного производства.

Изучаемые лекарственные средства оказывают разнообразное фармакологическое действие: местноанестезирующее (анестезин, новокаин, дикаин, тримекаина гидрохлорид, лидокаина гидрохлорид), антиаритмическое (новокаинамид), противовоспалительное, анальгезирующее (натрия диклофенак), противотуберкулезное (натрия п-аминосалицилат).

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА 7

Определение подлинности лекарственных средств, производных *para*-аминобензойной кислоты

Цель работы: Освоить способы определения подлинности лекарственных средств производных *para*-аминобензойной кислоты

Задание 1. Написать формулы, латинские и химические названия изучаемых лекарственных веществ, описать их физические свойства, растворимость. Ответ оформить в виде таблицы (Приложение 1).

Задание 2. Изучить и провести реакции подлинности на лекарственные вещества группы, результаты занести в протокол (Приложение 2).

2.1. Реакция образования азокрасителя (на первичную ароматическую аминогруппу в молекулах анестезина, новокаина, новокаиамида и натрия п-аминосалицилата)

Методика. 0,5 г препарата растворяют в 2 мл воды и прибавляют последовательно 3-5 капель разведенной соляной кислоты, 3-5 капель 0,1М раствора нитрита натрия. К полученному раствору прибавляют 3 мл щелочного раствора β-нафтола – появляется красное окрашивание.

2.2. Реакции окисления (новокаин, анестезин).

Анестезин и новокаин легко окисляются, образуя как окрашенные, так и бесцветные продукты. В качестве окислителей применяют растворы калия перманганата, хлорамина, водорода пероксида.

а) *Реакция обесцвечивания перманганата калия (новокаин).*

М е т о д и к а . 0,05 г препарата растворяют в 2 мл воды и прибавляют 3 капли разведенной серной кислоты и 1 мл 0,1М $\left(f = \frac{1}{5}\right)$ раствора калия перманганата – фиолетовая окраска моментально исчезает.

б) *Реакция окисления анестезина.* М е т о д и к а . 0,02 г препарата растворяют в 2 мл воды, прибавляют 4-5 капель разведенной хлороводородной кислоты, 1 мл раствора хлорамина. Через 2-3 мин добавляют 1-2 мл эфира и взбалтывают, эфирный слой окрашивается в оранжевый цвет.

2.3. Реакция образования гидроксамовых кислот – «гидроксамовая проба» (на сложноэфирную группу в молекулах анестезина и новокаина).

Методика. 0,1 г новокаина растворяют в 2 мл воды (анестезин в 2 мл 95 % этанола), прибавляют 2 мл щелочного раствора гидроксилamina, встряхивают 5 мин, прибавляют 2 мл разведенной кислоты хлороводородной и 0,5 мл 10 % раствора железа (III) хлорида. Анестезин дает красно-бурое окрашивание, новокаин – вишневое.

Реакция образования Шиффовых оснований – «лигниновая проба» (на первичную ароматическую аминогруппу в молекулах анестезина и новокаина).

М е т о д и к а . К 0,005 г препарата на газетной бумаге прибавляют каплю разведенной кислоты хлороводородной; появляется оранжевое пятно.

Реакция выделения нерастворимого органического основания из его соли (новокаин).

М е т о д и к а . 0,1 г препарата растворяют в 1 мл воды, прибавляют 0,5 мл раствора гидроксида натрия – выделяются бесцветные маслянистые капли основания новокаина.

2.6. Реакция на третичную аминогруппу в молекуле новокаинамида

М е т о д и к а . 0,01 г препарата растворяют в 1-2 мл воды и прибавляют 0,01 г *мета*-ванадата аммония, 1-2 капли концентрированной серной кислоты и нагревают – появляется вишнево-красное окрашивание.

2.7. Реакция образования комплексных солей с железа (III) хлоридом (натрия *п*-аминосалицилат, натрия диклофенак).

М е т о д и к а . К 0,05 г диклофенака натрия, растворенной в 3-5 мл воды (0,01 г натрия *п*-аминосалицилата растворяют в 10 мл воды, подкисленной 2-3 каплями разведенной HCl), добавляют 2-3 капли 3 % раствора железа (III) хлорида – наблюдается выпадение желто-коричневого осадка (диклофенак) или сине-фиолетовое окрашивание, переходящее в желтое при добавлении 3-4 капель раствора аммиака (ПАСК-натрий).

2.8. Реакции подлинности дикаина

а) *Реакция нитрования.* М е т о д и к а . К 0,005 г препарата прибавляют 1-2 капли концентрированной кислоты азотной и выпаривают на водяной бане; появляется желтое окрашивание.

б) *Реакция окисления.* М е т о д и к а . В раствор препарата вносят 1-2 капли раствора калия перманганата или калия бихромата; появляется тошнотворный запах изонитрила.

2.9. Реакции подлинности натрия диклофенака.

М е т о д и к и . 1. Помещают несколько крупинок препарата на часовое стекло и смывают концентрированной серной кислотой. Кристаллы приобретают малиновое окрашивание.

2. После прокаливания навески препарата (около 0,2 г) в тигле и растворения содержимого в воде натрия диклофенак дает характерную реакцию на ион натрия и на хлориды в фильтрате (ГФ XI, ч. 1).

3. 0,02 г натрия диклофенака растворяют в 2 мл воды и прибавляют 1 мл разведенной HCl – образуется нерастворимая кислотная форма диклофенака и выпадает белый осадок индолинона.

2.10. Реакция подлинности тримекаина (реакция конденсации с формальдегидом).

М е т о д и к а . К 0,001 г препарата прибавляют 5 капель реактива Марки, нагревают на водяной бане в течение 10 мин; появляется красное окрашивание. При внесении 10 капель воды появляется голубая флюоресценция.

2.11. Реакция на связанную кислоту хлороводородную в составе молекул препаратов, являющихся гидрохлоридами (новокаина гидрохлорид, новокаинамида гидрохлорид, дикаина гидрохлорид, тримекаина гидрохлорид, лидокаина гидрохлорид).

М е т о д и к а . 0,001-0,002 г препарата растворяют в 10 каплях воды, прибавляют по 1 капле разведенной кислоты азотной и раствора серебра нитрата; образуется белый творожистый осадок, растворимый в растворе аммиака.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА 8

Экспресс-анализ экстемпоральных лекарственных форм, содержащих новокаин

Цель работы: Освоить приемы, используемые в экспресс-анализе экстемпоральных лекарственных форм, содержащих новокаин.

Задание 1. Провести качественный и количественный анализ лекарственной формы. Результаты анализа занести в паспорт аналитического контроля (Приложение 5).

Пропись №1

Растворы новокаина: 0,25; 0,5; 1; 2 % - 100 мл.

Solutio Novocaini : 0,25; 0,5; 1; 2 % - 100 ml

Подлинность (качественные реакции)

1. *Новокаин*. К 3-4 каплям исследуемого раствора прибавляют 1 каплю разведенной соляной кислоты, 1 каплю 0,1 М раствора нитрита натрия, 0,5 мл щелочного раствора β-нафтола, появляется вишнево-красное окрашивание.

2. *Реакция на хлорид-анион*. С раствором нитрата серебра образует белый творожистый осадок.

Количественное определение

К 0,5-2 мл исследуемого раствора (в зависимости от концентрации раствора – см. таблицу 6.1) прибавляют 2 капли раствора бромфенолового синего и по каплям – разведенную уксусную кислоту, пока фиолетовое окрашивание не перейдет в зеленовато-желтое. Титруют 0,02 н. или 0,1 н. раствором нитрата серебра до фиолетового окрашивания.

1 мл 0,02 н. раствора нитрата серебра соответствует 0,005454 г новокаина.

1 мл 0,1 н. раствора нитрата серебра соответствует 0,02727 г новокаина.

Таблица 6.1

Значения факторов пересчета новокаина в зависимости от его концентрации

№ п/п	Содержание новокаина и объем лекарственной формы	Объем исследуемого раствора, взятый для титрования	Предел расхода раствора серебра нитрата в мл с учетом норм отклонений		Фактор пересчета
			0,02 н	0,01 н	
1	0,25 % - 100,0	2	0,80 – 1,00	—	0,2730
2	0,5 % - 100,0	2	1,68 – 1,97	—	0,2730
3	1 % - 100,0	2	—	0,69 – 0,77	1,3635
4	2 % - 100,0	2	—	1,39 – 1,54	1,3635

Значения факторов пересчета (Φ) рассчитаны ранее по формуле:

$$\Phi = \frac{T \cdot 100}{a}$$

Расчет содержания новокаина (X, %) в растворе проводят по формуле:

$$X = V \cdot K \cdot \Phi, \%$$

где: V- объем стандартного раствора (0,02 или 0,1н. AgNO₃), пошедший на титрование, мл.;

K - поправочный коэффициент к концентрации титранта;

Φ - фактор пересчета согласно таблице 6.1.

Задание 2. Провести качественный и количественный анализ двухкомпонентных лекарственных форм. Результаты анализа занести в паспорт аналитического контроля (Приложение 4).

Пропись № 2

Новокаин	0,5	<i>Novocainum</i>	0,5
Раствор борной кислоты 2 % - 100 мл		<i>Solutio Acidi borici 2 % - 100 ml</i>	

Подлинность (качественные реакции)

1. *Новокаин*. К 3-4 каплям исследуемого раствора прибавляют 1 каплю разведенной соляной кислоты, 1 каплю 0,1 М раствора нитрита натрия, 0,5 мл щелочного раствора β-нафтола, появляется вишнево-красное окрашивание.

2. *Реакция на борную кислоту*. 2-3 капли исследуемого раствора помещают в выпарительную чашку и выпаривают на водяной бане досуха. К остатку прибавляют 2-3 капли этилового спирта, пламя спиртового раствора окрашивается в зеленый цвет.

Количественное определение

1. *Новокаин*. К 1 мл исследуемого раствора прибавляют 2 капли раствора бромфенолового синего, по каплям - разведенную уксусную кислоту (1-2 капли) до перехода фиолетового окрашивания в зеленовато-желтое и титруют 0,02 н. раствором нитрата серебра до фиолетового окрашивания жидкости.

1 мл 0,02 н. раствора нитрата серебра соответствует 0,005454 г новокаина.

На титрование расходуется 0,85 - 0,98 мл 0,02 н. раствора нитрата серебра.

Фактор пересчета (Ф) для вычисления процентного содержания новокаина в данной прописи равен 0,545.

2. *Борная кислота (суммарное титрование)*. К 0,5 мл исследуемого раствора прибавляют 1-1,5 мл воды, 2-3 мл глицерина, нейтрализованного по фенолфталеину, и титруют 0,1 н. раствором едкого натра до розового окрашивания.

Расчет содержания борной кислоты. От количества миллилитров 0,1 н. раствора едкого натра, израсходованного на титрование новокаина и борной кислоты в сумме, вычитают количество миллилитров 0,02 н. раствора нитрата серебра (израсходованного на титрование новокаина), деленного на 10. Полученную разность пересчитывают на содержание борной кислоты.

1 мл 0,1 н. раствора едкого натра соответствует 0,006184 г борной кислоты.

На титрование расходуется 1,54 - 1,67 мл 0,1 н. раствора едкого натра.

Фактор пересчета (Ф) для вычисления процентного содержания борной кислоты в данной прописи равен 1,2368.

Пропись № 3

Новокаин	- 2,0	<i>Novocainum</i>	- 2,0
Раствор натрия хлорида 0,85 % - 100 мл		<i>Solutio Natrii chloridi 0,85 % - 100 ml.</i>	

Подлинность (качественные реакции)

1. *Новокаин*. К 3-4 каплям исследуемого раствора прибавляют 1 каплю разведенной соляной кислоты, 1 каплю 0,1 М раствора нитрита натрия, 0,5 мл щелочного раствора бета-нафтола, появляется вишнево-красное окрашивание.

2. *Натрий-ион*. Графитовую палочку, смоченную исследуемым раствором, вносят в пламя горелки. Пламя окрашивается в желтый цвет.

Количественное определение

1. *Новокаин*. К 1 мл исследуемого раствора прибавляют 1 мл воды, 1,5 - 2 мл хлороформа, 6 капель смешанного индикатора (равные части растворов фенолфталеина и тимолфталеина) и титруют при взбалтывании 0,1 н. раствором едкого натра до фиолетового окрашивания водного слоя.

1 мл 0,1 н. раствора едкого натра соответствует 0,02727 г новокаина.

На титрование расходуется 0,7 - 0,76 мл 0,1 н. раствора едкого натра.

Фактор пересчета (Ф) для вычисления процентного содержания новокаина в данной прописи равен 2,727.

2. *Натрия хлорид (суммарное титрование)*. К 1 мл расходуемого раствора прибавляют 1 каплю раствора хромата калия и титруют 0,1 н. раствором нитрата серебра до буровато-желтого окрашивания.

Разность между количеством миллилитров, израсходованного на второе и первое титрования, пересчитывают на хлорид натрия.

1 мл 0,1 н. раствора нитрата серебра соответствует 0,005845 г хлорида натрия.

Предел расхода 0,1 н. раствора нитрата серебра, пересчитываемый на хлорид натрия, равен 1,33-1,57.

Фактор пересчета (Ф) для вычисления процентного содержания хлорида натрия в данной прописи равен 0,584.

Контрольные вопросы к теме № 6 «Производные пара-аминобензойной кислоты»

1. Напишите структурные формулы и рациональные названия лекарственных веществ, предложенных для изучения в данной теме. Охарактеризуйте внешний вид изучаемых веществ, растворимость и реакцию среды растворов.

2. Охарактеризуйте химические свойства лекарственных веществ данной группы:

а) кислотно-основные;

б) окислительно-восстановительные;

в) способность к гидролитическому расщеплению;

г) характерные реакции и степень их специфичности;

д) значение химических превращений данных веществ для решения вопросов хранения и стабильности.

3. Даны лекарственные соединения: анестезин, новокаин, фенолсалицилат, диклофенак натрий, дикаин. Выберите из них производные кислоты пара-аминобензойной и кислоты пара-аминосалициловой. Напишите их структурные формулы и рациональные названия.

4. Даны лекарственные вещества: анестезин, новокаин, диклофенак- натрий. Укажите, происходит ли их взаимодействие:

а) со щелочью (без нагревания);

б) с кислотой (без нагревания). Напишите уравнения реакций.

5. Вступают ли в окислительно-восстановительные реакции лекарственные вещества: анестезин, новокаин, дикаин, кислота бензойная, кислота салициловая? Укажите структурные элементы, обуславливающие эти свойства.

6. Одним из показателей, нормирующих качество препаратов (новокаин, натрия п-аминосалицилат), является цветность раствора. Обоснуйте введение этого показателя на основе химических свойств этих соединений.

7. Напишите реакции, лежащие в основе установления подлинности веществ данной группы.

8. Напишите уравнения реакций, лежащих в основе количественного определения изучаемых веществ. Приведите формулы для расчета молярной массы эквивалента, титра и содержания указанных веществ.

Тема 7.

ФЕНИЛАЛКИЛАМИНЫ И ИХ ПРОИЗВОДНЫЕ

Лекарственные средства, предлагаемые для изучения:

Производные фенилалкиламинов: эфедрина гидрохлорид; эпинефрина (адреналина) и норэпинефрина (норадреналина) гидрохлориды и гидротартраты; изопrenalина гидрохлорид (изадрин); сальбутамол, верапамил.

Производные гидроксипроаноламинов: пропранола гидрохлорид (анаприлин), атенолол, тимолол, флуоксетин (прозак).

АКТУАЛЬНОСТЬ ТЕМЫ: Лекарственные средства изучаемой группы широко применяются в медицинской практике в составе различных лекарственных форм.

Изучаемые лекарственные средства обладают разнообразными фармакологическими свойствами. Препараты группы находят применение в качестве адреномиметических средств (эфедрина гидрохлорид; адреналин, норадреналин и их соли; изадрин; сальбутамол); антиангинальных средств (верапамил); β -адреноблокаторов (анаприлин, атенолол, тимолол); антидепрессантов (флуоксетин).

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА 9

Контроль качества лекарственных средств на основе производных фенилалкиламинов

Цель работы. Освоить методы контроля качества лекарственных средств, производных фенилалкиламинов.

Задание 1. Написать формулы, латинские и химические названия изучаемых лекарственных веществ, охарактеризовать их физические свойства, растворимость в различных растворителях, применение, результаты занести в протокол (Приложение 1).

Задание 2. Изучить и провести реакции подлинности на эфедрина гидрохлорид, адреналина и норадреналина гидрохлорид и гидротартрат, результаты занести в протокол (Приложение 2).

2.1. Реакции подлинности на адреналин, норадреналин и их соли

а) *Реакция комплексообразования с солями тяжелых металлов.*

Методика. К 1-2 каплям 0,1 % раствора препарата (0,001 г препарата растворяют в 1 мл воды) прибавляют 1 каплю 3 % раствора железа (III) хлорида; появляется изумрудно-зеленое окрашивание, которое при добавлении 1-2 капель раствора гидроксида аммония постепенно переходит в вишнево-красное.

б) *Реакция окисления.* **Методика.** К 1 мл 0,2 % раствора препарата добавляют несколько кристалликов калия йодата и 1 мл 0,1 М свежеприготовленного раствора натрия нитрита (раствор можно слегка подогреть). Через 3-4 мин появляется красное окрашивание. Среди образующихся продуктов – адренохром (норадренохром).

в) *Реакция окисления (реакция образования адренохрома и норадренохрома).*

Реакция позволяет дифференцировать препараты друг от друга. Установлено, что образование адренохрома происходит при строго фиксированном значении pH.

Для идентификации этих соединений рекомендуется проводить окисление при pH 3,6 и 6,5. Адренохром образуется при обоих значениях pH, а норадренохром – только при pH 6,5.

Методика. К 1 мл 0,1 % раствора препарата добавляют 9 мл буферного раствора с pH 3,56 и 1 мл 0,05 моль/л раствора йода и оставляют на 5 мин. Прибавляют 2 мл 0,1 моль/л раствора натрия тиосульфата. Раствор окрашивается в красно-фиолетовый цвет (для адреналина) или остается бесцветным (для норадреналина). Повторяют определение с буферным раствором (pH 6,5). Появляется красное окрашивание (для адреналина и норадреналина).

г) *Реакции идентификации анионов в солях адреналина.*

Определение хлорид-иона. **Методика.** К 1 мл раствора препарата прибавляют 1 каплю раствора азотной кислоты и 0,5 мл 2 % раствора нитрата серебра – выпадает белый творожистый осадок хлорида серебра.

Определение гидротартрат-иона. **Методика.** К 1 мл раствора препарата прибавляют кристаллик хлорида калия, 0,5 мл этанола и протирают стеклянной палочкой о стенки пробирки – выпадает белый кристаллический осадок, растворимый в разведенных минеральных кислотах и растворах едких щелочей (реакция на тартраты).

2.2. Реакции подлинности на эфедрина гидрохлорид

а) *Реакция комплексообразования с солями меди.* **Методика.** 0,01 г препарата или около 0,02 г порошка растертых таблеток растворяют в 1 мл воды,

прибавляют 0,1 мл раствора меди (II) сульфата и 1 мл раствора натрия гидроксида. Появляется фиолетовое окрашивание. При добавлении к раствору 1 мл эфира и взбалтывании эфирный слой окрашивается в розовый цвет, а водный – в синий.

б) *Реакция окисления.* Методика. К 0,01 г препарата или 0,02 г порошка растертых таблеток прибавляют несколько кристалликов гексацианоферрата (III) калия или перманганата калия и нагревают – появляется запах бензальдегида.

в) *Реакция на хлорид-анион.* Методика. 0,05 г препарата или 0,1 г порошка растертых таблеток взбалтывают с 2 мл воды (для таблеток фильтруют). К фильтрату прибавляют 1-2 капли разведенной кислоты азотной и 0,5 мл 2 % раствора серебра нитрата; выпадает белый творожистый осадок.

2.3. Реакции подлинности на изопреналина гидрохлорид (изадрин), сальбутамол и верапамила гидрохлорид

а) *Реакция комплексообразования с солями железа.* Методика. К 1-2 каплям 0,1 % раствора изадрина или сальбутамола (0,001 г препарата растворяют в 1 мл воды) прибавляют 1 каплю 3 % раствора железа (III) хлорида.

Изадрин образует изумрудно-зеленое окрашивание, которое при добавлении 1-2 капель раствора гидроксида аммония переходит в вишнево-красное, а затем – в оранжево-красное.

Сальбутамол с железа (III) хлоридом образует фиолетово-красное окрашивание, не исчезающее после добавления 5 % раствора натрия гидрокарбоната. Если вместо него добавить раствор натрия гидроксида – выпадает аморфный осадок и выделяется газ. При последующем добавлении 2-3 капель концентрированной кислоты серной раствор становится бесцветным.

б) *Реакции окисления.* Методика. К 1 мл 1 % водного раствора верапамила гидрохлорида добавляют 2-3 капли разведенной кислоты серной и 3-5 капель 1 % раствора калия перманганата; образуется красно-фиолетовый осадок, быстро растворяющийся с образованием светло-желтого раствора.

Методика. К 1 мл 1 % водного раствора верапамила гидрохлорида по каплям добавляют разведенную кислоту азотную; выпадает белый осадок.

в) *Реакции выделения нерастворимого основания и определения хлорид-анионов.* Методика. К 2 мл 1 % водного раствора верапамила гидрохлорида по каплям добавляют 5 % раствор натрия гидроксида – выпадает белый осадок верапамила-основания. После отделения осадка через плотный бумажный фильтр в фильтрате определяют хлорид-анионы, добавляя 3-5 капель разведенной кислоты азотной и 0,5 мл 2 % раствора серебра нитрата; выпадает белый творожистый осадок.

Задание 3. Определить подлинность и чистоту препаратов методом УФ-спектрофотометрии, по полученным экспериментально данным начертить спектр определяемого соединения.

Результаты оформить в виде протокола (Приложения 3, 4).

Подлинность препаратов, производных фенилалкиламинов устанавливают, снимая спектр поглощения препаратов в 0,1М или 0,01М кислоте хлороводородной. Подтверждают наличие максимумов поглощения при длинах волн, указанных в ФС.

Спектр поглощения эфедрина гидрохлорида, имеющий в своей структуре фенольный радикал, характеризуется тремя полосами поглощения с максимумами при 251, 257 и 263 нм. Соединения, содержащие в своей структуре фенольный гидроксил, имеют полосу поглощения около 280 нм. Раствор изопреналина гидрохлорида в 0,1М HCl имеет два максимума поглощения – в области 223 и 279 нм; сальбутамол в том же растворителе поглощает при λ_{\max} 276 нм, там же поглощает и раствор беротена в 0,01М HCl. Верапамила гидрохлорид в 0,01М HCl поглощает при λ_{\max} 229 и 278 нм, а адреналина гидротартрат при 280 нм.

Следует помнить, что указание длин волн при максимумах поглощения является лишь ориентировочной характеристикой, так как не позволяет судить об общем виде спектра.

Чаще в ФС приводят максимумы при определенных длинах волн и указывают соответствующие им величины поглощения.

3.1. Подтвердить подлинность эфедрина гидрохлорида, адреналина гидротартрата и верапамила гидрохлорида методом УФ-спектрофотометрии

а) М е т о д и к а . Снимают спектр поглощения водного раствора эфедрина гидрохлорида с концентрацией 0,5 мг/мл в диапазоне длин волн 230-290 нм. Максимумы должны наблюдаться при длине волны 251, 257, 263 ± 2 нм.

б) М е т о д и к а . Снимают спектр поглощения 0,01 % раствора верапамила гидрохлорида в 0,01М кислоте хлороводородной в диапазоне длин волн 215-300 нм. Подтверждают наличие максимумов при 229 и 278 ± 2 нм. Измерения проводят относительно 0,01М HCl.

в) М е т о д и к а . Измеряют оптическую плотность 0,005 % раствора адреналина гидротартрата в 0,01М кислоте хлороводородной в максимуме поглощения $\lambda=279$ нм (раствор сравнения – 0,01М HCl). Рассчитывают удельный показатель поглощения E. Он должен быть в пределах 78-82.

3.2. Определить примеси в адреналина гидротартрате методом УФ-спектрофотометрии

Испытание на чистоту

УФ-характеристики в ряде случаев используются при испытаниях на чистоту и при исследовании стабильности лекарственных веществ, если изменения в характере спектра позволяют судить об изменениях вещества. При этом оптимальны те случаи, когда продукты разрушения поглощают в области, отличной от поглощения исследуемого вещества.

Примером может служить определение примесей адреналона и норадреналона, соответственно, в адреналине и норадреналине. Полоса поглощения «кетон» около 310 нм, для основных веществ – около 278 нм.

Методика. Примесь адреналона в адреналина гидротартрате определяют, измеряя оптическую плотность 0,05 % раствора препарата в 0,01М растворе кислоты хлороводородной при 310 нм в кювете с толщиной слоя 1 см. Измеренное значение A не должно превышать 0,1. Измерения проводят относительно 0,01 М HCl.

Задание 4. Провести количественное определение адреналина гидротартрата методами фотоколориметрии и неводного титрования. Результаты занести в таблицы (Приложение 3).

4.1. Определение содержания адреналина гидротартрата в субстанции.

Методика. Около 0,15 г тонкоизмельченного и высушенного препарата (точная навеска) растворяют в 20 мл ледяной уксусной кислоты, слегка нагревая до 40°C в случае медленного растворения, и титруют 0,1н. раствором хлорной кислоты до голубовато-зеленого окрашивания (индикатор - метиловый фиолетовый).

Параллельно проводят контрольный опыт.

1 мл 0,1н. раствора хлорной кислоты соответствует 0,03333 г $C_9H_{13}NO_3 \cdot C_4H_6O_6$, которого в препарате должно быть не более 101,0 %.

4.2. Определение содержания адреналина гидротартрата в 0,18 % растворе для инъекций

Состав:

Адреналина гидротартрата	1,82 г
Натрия метабисульфита	1 г
Натрия хлорида	8 г
Воды для инъекций	до 1 л

Методика. 1,5 мл препарата разводят водой в мерной колбе до 25 мл. К 10 мл полученного раствора прибавляют 0,2 мл железо-цитратного реактива и 1 мл аминоксусной буферной смеси, оставляют на 10 мин и измеряют оптическую плотность окрашенного раствора на фотоэлектроколориметре ФЭК-М с зеленым светофильтром или на спектрофотометре при длине волны 530 нм в кювете с толщиной слоя 1 см, используя в качестве контрольного раствора воду.

Одновременно измеряют оптическую плотность в 10 мл раствора стандартного образца, приготовленного аналогично испытываемому раствору.

Содержание адреналина гидротартрата в 1 мл (X , %) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{A_1 \cdot 0,000091 \cdot 25 \cdot 10}{A_0 \cdot 1,5 \cdot 10},$$

где A_1 – оптическая плотность испытуемого раствора;

A_0 – оптическая плотность раствора стандартного образца.

Содержание $C_9H_{13}NO_3 \cdot C_4H_6O_6$ в 1 мл препарата должно быть 0,0016-0,0020 г.

Задание 5. Провести количественный анализ препаратов, производных гидроксипропаноламинов. Результаты занести в таблицу (Приложение 3).

Для количественного определения большинства лекарственных веществ группы в субстанциях и лекарственных формах ФС рекомендуют метод ВЭЖХ, реже – метод УФ-спектрофотометрии и неводного титрования в среде уксусной кислоты. Последнее определение проводится по стандартной методике и может быть освоено на примере атенолола.

Количественное определение содержания атенолола в субстанции

Методика. Точную навеску субстанции атенолола около 0,2 г растворяют в 80 мл предварительно нейтрализованной ледяной уксусной кислоты, титруют 0,1 М раствором хлорной кислоты с индикатором кристаллическим фиолетовым.

1 мл 0,1М HClO₄ эквивалентен 0,02663 г C₁₄H₂₂N₂O₃ (атенолола), которого в препарате должно быть от 99,0 % до 101,0 % в пересчете на сухое вещество.

Контрольные вопросы по теме № 7 «Производные фенилалкиламинов»

1. Напишите структурные формулы, рациональные и латинские названия лекарственных веществ группы фенилалкиламинов и окси фенилалкиламинов. Охарактеризуйте кислотно-основные свойства препаратов, отметив соответствующие структурные фрагменты.

2. Исходя из структурных особенностей адреналина гидротартрата и эфедрина гидрохлорида, укажите отличия взаимодействия каждого из препаратов с сульфатом меди.

3. Приведите примеры химических реакций, подтверждающих принадлежность эфедрина гидрохлорида к солям азотистых оснований.

4. Приведите реакции, позволяющие дифференцировать адреналин, нор-адреналин и изадрин.

5. Приведите методики, позволяющие обнаружить примесь адренолона в адреналине.

6. Приведите схемы реакций гидраминного расщипления эфедрина в различных условиях.

7. Напишите реакции, используемые для количественного определения указанных веществ методом неводного титрования.

Тема 8.
ЛЕКАРСТВЕННЫЕ СРЕДСТВА, ПРОИЗВОДНЫЕ
ГИДРОКСИФЕНИЛАЛИФАТИЧЕСКИХ АМИНОКИСЛОТ,
НИТРОФЕНИЛАЛКИЛАМИНОВ И
АМИНОДИБРОМФЕНИЛАЛКИЛАМИНОВ

Лекарственные средства, предложенные для изучения:

Производные гидроксифенилалкилатических аминокислот: леводопа, метилдофа.

Производные нитрофенилалкиламинов: левомецетин.

Производные аминодибромфенилалкиламинов: бромгексин, амброксол.

АКТУАЛЬНОСТЬ ТЕМЫ: Лекарственные средства изучаемой группы широко применяются в медицинской практике в составе различных лекарственных форм.

Изучаемые лекарственные средства обладают разнообразными фармакологическими свойствами. Препараты группы находят применение в качестве муколитических средств (бромгексина гидрохлорид; амброксола гидрохлорид); антибиотиков (левомецетин); противопаркинсонных средств (леводопа); гипотензивных средств (метилдофа).

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА 10

Контроль качества лекарственных средств, содержащих леводопу, метилдофу, амброксол и бромгексин

Цель работы: Освоить способы оценки качества лекарственных средств производных гидроксифенилалкилатических аминокислот и аминодибромфенилалкиламинов.

Задание 1. Написать формулы, латинские и химические названия изучаемых лекарственных веществ, описать их физические свойства, растворимость, применение. Ответ оформить в виде таблицы (Приложение 1).

Задание 2. Провести качественный и количественный анализ лекарственных средств группы, результаты оформить в виде паспорта аналитического контроля (Приложение 5)

2.1. Идентификация и количественное определение леводопы и метилдофы

Качественные реакции

а) М е т о д и к а . 0,02 г препарата растворяют в 5 мл 0,1 М кислоты хлороводородной (метилдофа растворяется не сразу, а при перемешивании в течение 3-5 мин). К полученному раствору добавляют 0,1 мл 3 % раствора железа (III) хлорида; появляется зеленое окрашивание (реакция на фенольные гидроксилы в молекулах препаратов). Полученный раствор делят на 2 части. К половине раствора добавляют избыток 5 М раствора аммиака; появляется пурпурное окра-

шивание. К оставшемуся раствору добавляют избыток 5 М раствора натрия гидроксида; появляется красное окрашивание.

б) М е т о д и к а . 0,05 г препарата растворяют в 2 мл 1 % раствора натрия нитрита, подкисленного 3-5 каплями разведенной кислоты хлороводородной; появляется желто-оранжевое окрашивание, переходящее при добавлении 5М раствора гидроксида натрия в темно-красное.

в) М е т о д и к а . 0,01 г метилдофы субстанции или навеску таблеток, содержащую эквивалентное количество препарата смешивают с 3 каплями нингидрин-сульфатной кислоты; через 5 мин появляется темно-фиолетовое окрашивание, переходящее при добавлении трех капель воды в желто-коричневое. Для приготовления нингидрин-сульфатной кислоты 0,1 г нингидрина растворяют в 25 мл концентрированной кислоты серной – реактив должен быть свежеприготовленным.

Количественное определение

а) *Количественное определение леводопы в субстанции и капсулах методом неводного титрования.* М е т о д и к а . 0,6 г субстанции леводопы или такое же количество усредненного содержимого 20 капсул растворяют в 10 мл безводной муравьиной кислоты, добавляют 80 мл ледяной уксусной кислоты и титруют 0,1М раствором хлорной кислоты с индикатором кристаллическим фиолетовым до перехода окраски в синий цвет.

1 мл 0,1 моль/л раствора HClO_4 эквивалентен 0,01972 г леводопы, которой в субстанции должно быть 95,0-105,0 %. Содержание в 1 капсуле 475-500мг.

б) *Количественное определение метилдофы в таблетках по 250 мг, покрытых оболочкой.* М е т о д и к а . Навеску растертых таблеток, содержащую 125 мг метилдофы (обезвоженной) растворяют при нагревании в 20 мл ледяной уксусной кислоты, охлаждают, прибавляют 20 мл диоксана и 3 капли раствора кристаллического фиолетового. Титруют раствором хлорной кислоты (0,1 моль/л) до синего цвета. Параллельно титруют контрольную пробу.

1 мл 0,1 моль/л раствора HClO_4 соответствует 21,12 мг обезвоженной метилдофы, которой в одной таблетке должно быть от 225 до 275 мг.

2.2. Идентификация и количественное определение бромгексина в субстанции и таблетках

Качественные реакции

а) *Реакция на первичную ароматическую аминогруппу в молекуле.* М е т о д и к а . Около 0,1 г субстанции или эквивалентное количество таблеток растворяют в 2 мл 1 % раствора натрия нитрита, подкисленного 3-5 каплями разведенной кислоты хлороводородной. Через 1-2 мин к полученному раствору добавляют 1 мл щелочного раствора β -нафтола; появляется оранжево-красное окрашивание.

б) *Реакция на органически связанный бром.* М е т о д и к а . Около 0,025 г субстанции растворяют в 50 мл воды, подкисленной 1 мл 1М раствора кислоты серной. Добавляют 2 мл дихлорметана (или тетрахлорметана) и 5 мл свежепри-

готовленного 2 % (по массе) раствора хлорамина Т. Раствор хорошо перемешивают и через 10-15 мин наблюдают желто-коричневую окраску нижнего слоя (органического растворителя).

в) *Реакция на связанную кислоту хлороводородную (хлориды).*

Методика. 0,02 г субстанции растворяют в 1 мл этанола и добавляют 1 мл воды. Полученный раствор подкисляют 2М раствором кислоты азотной и прибавляют несколько капель раствора серебра нитрата – образуется белый творожистый осадок, растворимый в растворе аммиака.

Количественное определение

Количественное определение бромгексина в таблетках по 0,008 г. Методика. Около 1,0 г (точная навеска) порошка растертых таблеток помещают в мерную колбу вместимостью 200 мл, прибавляют около 150 мл спирта 95 % , энергично встряхивают в течение 5 мин, доводят объем раствора спиртом 95 % до метки и фильтруют через сухой бумажный фильтр «синяя лента» в сухую колбу, отбрасывая первые порции фильтрата.

10 мл фильтрата переносят в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 1 мл 0,1М раствора кислоты хлороводородной, доводят объем раствора спиртом 95 % до метки и перемешивают.

Измеряют оптическую плотность полученного раствора на спектрофотометре в максимуме поглощения при длине волны 318 нм в кювете с толщиной слоя 1 см.

Параллельно измеряют оптическую плотность раствора РСО бромгексина гидрохлорида.

В качестве раствора сравнения используют смесь 0,1М кислота хлороводородная – спирт 95 % (1:24).

Приготовление раствора РСО бромгексина гидрохлорида. Около 0,04 г (с точностью до 0,00005 г) бромгексина гидрохлорида (НД 42-10060-99 или другого импортного, зарегистрированного в РФ) помещают в мерную колбу вместимостью 200 мл, прибавляют 150 мл спирта 95 % и встряхивают на водяной бане при температуре от 60 до 70°C до полного растворения, охлаждают и доводят объем раствора спиртом 95 % до метки, перемешивают (раствор А).

Раствор А используют свежеприготовленным.

4 мл полученного раствора переносят в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 1 мл 0,1 М раствора кислоты хлороводородной, доводят объем раствора спиртом 95 % до метки и перемешивают.

Раствор используют свежеприготовленным.

Содержание бромгексина гидрохлорида в одной таблетке в граммах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{A_1 \cdot a_0 \cdot b}{A_0 \cdot a_1},$$

где A_1 – оптическая плотность испытуемого раствора препарата;
 A_0 – оптическая плотность раствора РСО бромгексина гидрохлорида;
 a_1 – навеска препарата, г;
 a_0 – навеска РСО бромгексина гидрохлорида, г;
 b – средняя масса таблетки, г.

Содержание $C_{14}H_{20}Br_2N_2 \cdot HCl$ (бромгексина гидрохлорида) должно быть от 0,0072 до 0,0088 г, считая на среднюю массу одной таблетки.

2.3. Идентификация и количественное определение амброксола в субстанции и каплях методом УФ-спектрофотометрии

Определение подлинности амброксола. Методика. Около 0,007 г амброксола субстанции или 1 мл капль, содержащих в 1 мл 6,75-7,88 мг амброксола, помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, прибавляют 30 мл 0,1М раствора кислоты хлороводородной, перемешивают и доводят до метки тем же раствором кислоты (исследуемый раствор).

Ультрафиолетовый спектр раствора препарата в области от 200 до 400 нм имеет максимумы поглощения при 210 ± 2 нм, 248 ± 2 нм и 308 ± 2 нм. В качестве контрольного раствора используют 0,1М раствор кислоты хлороводородной. Толщина кюветы 1 см.

Количественное определение амброксола. Для количественного определения используют раствор препарата, приготовленный для определения подлинности (пункт а).

Эталонный раствор готовят по навеске амброксола гидрохлорида фармакопейного качества (РСО) или ГСО, для чего 7,5 мг амброксола гидрохлорида (точная навеска) помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, прибавляют 30 мл 0,1М раствора кислоты хлороводородной и хорошо перемешивают в течение 5 мин. Доводят раствор в колбе до метки 0,1М HCl (эталонный раствор).

Определение проводят на спектрофотометре в максимуме поглощения при длине волны $\lambda = 308$ нм относительно 0,1М раствора HCl как раствора сравнения.

Количественное содержание амброксола гидрохлорида в субстанции (X_1 , %) рассчитывают по формуле (1), в каплях (X_2 , мг) – по формуле 2.

$$X_1 = \frac{A_x \cdot 100}{A_{э\tau}}, \quad (1),$$

$$X_2 = \frac{A_x}{A_{э\tau} \cdot a}. \quad (2),$$

где A_x и $A_{э\tau}$ – оптическая плотность испытуемого и эталонного растворов, соответственно;

a – объем капль, взятый для анализа, мл.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА 11

Контроль качества экстемпоральных лекарственных форм, содержащих левомецетин

Цель работы. Освоить методы контроля качества экстемпоральных лекарственных форм, содержащих левомецетин.

Задание 1. Изучить и провести реакции подлинности на левомецетин, результаты оформить в виде таблицы (Приложение 2).

а) М е т о д и к а . К 0,02 г препарата прибавляют 2 мл раствора гидроксида натрия и нагревают – появляется желтое окрашивание, которое усиливается при кипячении, одновременно появляется запах аммиака.

б) М е т о д и к а . К 0,05 г препарата прибавляют 2 мл концентрированной кислоты хлороводородной и 1 гранулу цинка, нагревают в течение 2-3 мин, после чего прибавляют 1 мл 5 % раствора натрия нитрита. К 0,5 мл полученного раствора прибавляют щелочной раствор β-нафтола – появляется красно-оранжевое окрашивание.

в) М е т о д и к а . 0,01 г левомецетина встряхивают с 1 мл 5 % раствора сульфата меди и прибавляют 1 мл раствора гидроксида натрия – появляется синий осадок, после прибавления к смеси 3 мл бутанола при перемешивании, слой органического растворителя окрашивается в фиолетовый цвет.

г) М е т о д и к а . Смесь подкисляют 2 мл разведенной азотной кислоты и фильтруют. К фильтрату прибавляют 3-5 капель 2 % раствора серебра нитрата – образуется белый творожистый осадок.

Задание 2. Провести контроль качества глазных капель с левомецетином, результаты занести в протокол (Приложения 2, 3, 4).

Пропись:

Раствор левомецетина 0,25 % -	10,0
Натрия хлорида	0,09

Подлинность

Левомецетин. а) К 0,5 мл раствора прибавляют 1-2 мл разведенной кислоты хлороводородной, 0,03 г цинковой пыли, нагревают до кипения. После охлаждения раствор фильтруют через воронку с небольшим ватным тампоном и к фильтрату, промывая ватный тампон, добавляют 2 мл воды, затем 3-5 капель 0,1 М раствора натрия нитрита. 1 мл полученной реакционной смеси приливают к 20 мл 1 % свежеприготовленного щелочного раствора β-нафтола; появляется красно-розовое окрашивание.

б) К 0,5 мл раствора прибавляют 5 капель 10 % раствора натрия гидроксида; при нагревании появляется желтое окрашивание.

Натрия хлорид. а) Графитовую палочку смачивают анализируемым раствором и вносят в бесцветное пламя. Пламя окрашивается в желтый цвет.

б) К 2 мл раствора прибавляют по 3 капли воды, разведенной кислоты азотной и серебра нитрата – образуется белый творожистый осадок.

Количественное определение

Левомецетин. а) 2 мл раствора помещают в пробирку, прибавляют 1 мл разведенной кислоты хлороводородной, 0,05 г цинковой пыли, затем добавляют еще 1 мл разведенной кислоты хлороводородной, смывая со стенок пробирки остатки цинковой пыли, и оставляют на 5 мин. Далее жидкость фильтруют через небольшой ватный тампон. Пробирку и воронку с ватным тампоном промывают 3-4 раза водой порциями по 1,5 мл, присоединяя их к основному фильтрату. К фильтрату добавляют 0,05 г калия бромида, 2 капли раствора тропеолина 00 и 1 каплю раствора метиленового синего, титруют 0,02М раствором натрия нитрита, добавляя его вначале по 3 капли через 1 мин, а в конце титрования (за 0,1-0,2 мл до эквивалентного количества) – по 1 капле через 1 мин до перехода красно-фиолетовой окраски в голубую. Параллельно проводят контрольный опыт.

1 мл 0,02М раствора натрия нитрита соответствует 0,006462 г левомецетина.

б) 2 мл раствора помещают в пробирку, прибавляют 0,2 мл 10 % раствора натрия гидроксида и тотчас же 0,1 мл 10 % раствора сульфата меди. Смесь взбалтывают 1 мин, затем фильтруют через воронку с небольшим ватным тампоном (тампон должен быть не очень плотным, входящим на 1 см в трубочку воронки). Пробирку и воронку с ватным тампоном промывают водой 3 раза по 1 мл, присоединяя промывные воды к основному фильтрату. К фильтрату прибавляют по каплям разведенную кислоту серную до обесцвечивания (1-2 капли), 0,2 мл калия йодида и выделившийся йод оттитровывают 0,01 н. раствором натрия тиосульфата до обесцвечивания. В конце титрования прибавляют 1-2 капли раствора крахмала.

1 мл 0,01 М раствора натрия тиосульфата соответствует 0,006462 г левомецетина.

Натрия хлорид. К 0,5 мл раствора прибавляют 1 мл воды, 1-2 капли раствора бромфенолового синего, по каплям разведенную кислоту уксусную до зеленовато-желтого окрашивания и титруют 0,1 н. раствором серебра нитрата до фиолетового окрашивания.

1 мл 0,1 н. раствора серебра нитрата соответствует 0,005844 г натрия хлорида.

Задание 3. Провести экспресс-анализ мази левомецетиновой, результаты занести в протокол (Приложения 2, 3, 4)

Протись:

Мазь левомецетиновая 0,5 % - 10,0

Описание

Мазь белого или белого с желтоватым оттенком цвета, без постороннего запаха.

Подлинность

Левомецетин. а) К 0,5 г мази прибавляют 2 мл раствора натрия гидроксида, нагревают до кипения. Появляется желтое окрашивание, переходящее при дальнейшем нагревании в красно-оранжевое.

б) К 0,5 г мази прибавляют 1-2 мл разведенной кислоты хлороводородной, 0,1 г цинковой пыли и нагревают на водяной бане 2-3 мин. После охлаждения раствор фильтруют. К фильтрату добавляют 1-2 мл воды, 3-4 капли 0,1М раствора натрия нитрита и 1 мл полученной реакционной смеси вливают в 1-2 мл щелочного раствора β-нафтола. Появляется вишнево-красное окрашивание.

Количественное определение

Левомецетин. 0,5 г мази помещают в коническую колбу на 50 мл и прибавляют 10 мл разведенной кислоты хлороводородной, постепенно 0,5 г цинковой пыли и 1 мл концентрированной кислоты хлороводородной. Нагревают на водяной бане 15 мин. Охлаждают, прибавляют 10 мл воды и фильтруют. Фильтр и колбу промывают водой (примерно 50-60 мл), присоединяя к основному фильтрату. Затем к фильтрату прибавляют 0,5 г калия бромида, 2 капли раствора тропеолина 00, 1 каплю раствора метиленового синего и при температуре 18-20°C медленно титруют 0,02М раствором натрия нитрита, добавляя его вначале по 0,2-0,3 мл в минуту, а в конце титрования (за 0,1-0,2 мл до точки эквивалентности) – по 1-2 капле в минуту до перехода красно-фиолетовой окраски в голубую.

Параллельно проводят контрольный опыт.

1 мл 0,02М раствора натрия нитрита соответствует 0,006463 г левомецетина.

Контрольные вопросы по теме № 8

«Производные гидроксифенилалифатических аминокислот, нитрофенилалкиламинов и аминодибромфенилалкиламинов»

1. Напишите структурные формулы, рациональные и латинские названия лекарственных веществ данной группы.
2. Опишите физико-химические свойства веществ данной группы исходя из их строения.
3. Приведите уравнение гидроксамовой пробы для левомецетина и левомецетина стеарата.

4. Исходя из химического строения левомецетина, приведите уравнения реакций различных методик количественного определения препарата.

5. Приведите уравнения реакций, подтверждающих принадлежность леводопы к аминокислотам.

6. Приведите уравнения возможных реакций количественного определения метилдофы.

7. Приведите биохимические предпосылки создания лекарств группы фенилалкиламинов на основе метаболизма аминокислот.

Тема 9.

ЛЕКАРСТВЕННЫЕ СРЕДСТВА ИЗ ГРУППЫ СУЛЬФАНИЛАМИДОВ

Лекарственные средства, предложенные для изучения:

Стрептоцид, сульфацил-натрий, сульфадиметоксин, сульфален, фталазол, салазопиридазин, бактрим,

АКТУАЛЬНОСТЬ ТЕМЫ: Лекарственные вещества изучаемой группы широко применяются в медицинской практике как антибактериальные средства в составе однокомпонентных и многокомпонентных лекарственных форм промышленного и внутриаптечного производства.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА 12

Деловая игра по теме:

«Контроль качества лекарственных средств из группы сульфаниламидов»

Цель работы. Освоить навыки оценки качества лекарственных средств индивидуального изготовления, содержащих вещества из группы сульфаниламидов.

Задачи деловой игры

- самостоятельно подобрать в справочной литературе и применить на практике оптимальные методы для качественного и количественного анализа лекарственных форм индивидуального изготовления, содержащих сульфаниламиды;
- теоретически обосновать выбор условий анализа;
- провести предварительные аналитические расчеты;
- показать практические умения по выполнению методик анализа предложенных лекарственных форм;
- уметь проанализировать возможные ошибки приготовления лекарственных форм и сделать правильное заключение об их качестве;
- провести обсуждение полученных результатов.

Основные этапы деловой игры

Изучение химической структуры, физических и химических свойств препаратов группы сульфониламидов;

Изучение химических и физико-химических методов идентификации указанных лекарственных препаратов, уравнений реакций, лежащих в их основе;

Изучение возможных методов количественного определения лекарственных препаратов. Умение писать уравнения реакций;

Изучение особенностей анализа различных лекарственных форм, содержащих лекарственные вещества данной группы;

Изучение требований к качеству и особенностей анализа лекарственной формы «глазные капли» (ГФ XI);

Знакомство со сценарием деловой игры;

Распределение ролей;

Выбор в справочной литературе и НД методик по контролю качества предложенных преподавателем лекарственных форм;

Проведение анализа лекарственного средства и выполнение соответствующих расчетов;

Оценка качества лекарственной формы в соответствии с приказами № 214 и № 305 МЗ РФ.

Обсуждение полученных результатов.

Сценарий деловой игры

В качестве объекта игрового сценария выбрана аптека № 5.

В аптеке были изготовлены и выданы:

1. Раствор сульфацил-натрия 30 % - 10 мл.

Состав: сульфацил-натрия 1,0;

натрия тиосульфата 0,015;

раствора соляной кислоты 1 моль/л – 0,035 мл;

воды до 10 мл.

После закапывания в глаза данного препарата у Ступицина П.И. (2000 г.р.) наблюдалось сильное жжение и покраснение глазного яблока. Родители больного обратились в областную глазную больницу и в департамент здравоохранения с просьбой разобраться в случившемся.

2. Порошок по прописи:

Норсульфазола 1,0

Стрептоцида 1,0

Эфедрин г/х 0,1

После вдвухания данного препарата в полость носа (с помощью специального порошковдувателя) для лечения острого насморка у больной Ивановой Н.П.

(1989 г.р.) возникло головокружение, тошнота, рвота. Гражданка обратилась в ОКБ, где при обследовании у нее был выявлен цианоз.

В связи со случившимся районный департамент здравоохранения начинает административное расследование. Назначается экспертная комиссия из двух групп специалистов – провизоров аптек № 1 и № 2 для проведения арбитражного анализа лекарственных форм, изготовленных в аптеке № 5.

Роль председателя комиссии берет на себя преподаватель, роли провизоров-аналитиков арбитражных аптек – студенты.

Студентам выдаются для анализа остатки двух лекарственных форм. Они должны провести независимо друг от друга анализ полученных лекарственных форм.

На отдельном участке лаборатории, играющей роль библиотеки находится учебная литература, приказы, справочники, ГФ и методические указания, предназначенные для работы членов комиссии. Каждый студент внутри экспертной группы получает индивидуальное задание. Суть задания заключается в практическом выполнении качественного и количественного анализа одной лекарственной формы. Распределяет задание председатель комиссии (преподаватель). Провизоры-аналитики проводят полный химический контроль качества предложенных лекарственных форм. На основании проведенного анализа выдается заключение о качестве ЛФ в соответствии с приказом № 305 МЗ РФ. Выполненное задание оформляется в виде протокола. После выполнения всех заданий проходит совещание каждой экспертной группы. Затем после обсуждения полученных результатов оформляется акт экспертизы (образец прилагается), в котором проводятся результаты работы экспертов. Оба акта экспертизы оглашает председатель комиссии. Правильно проведенный анализ одной лекарственной формы оценивается в 5 баллов.

После оглашения актов экспертизы преподаватель проводит обсуждение полученных результатов с помощью контрольных вопросов (см. Приложение).

АКТ ЭКСПЕРТИЗЫ

Наименование лекарственного средства _____

Серия _____

Организация изготовитель _____

Заказчик _____

Дата изготовления _____

Наименование показателей качества	Требования к качеству	Результаты анализа
1. Описание		
2. Подлинность		
3. Количественное определение		

Заключение:

Дата анализа:

Члены экспертной комиссии:

Председатель экспертной комиссии:

Контрольные вопросы по теме № 9 «Лекарственные средства из группы сульфаниламидов»

1. Напишите структурные формулы, русские и латинские названия лекарственных веществ, предложенных для изучения.
2. Проведите функциональный анализ лекарственных веществ из группы сульфаниламидов и на основе его данных обоснуйте физико-химические свойства веществ.
3. Какие сульфониламидные препараты являются производными гетероциклических систем? Назовите эти системы.
4. В соответствии с химической структурой обоснуйте методы идентификации этой группы веществ. Напишите соответствующие уравнения реакций.
5. По НД на изучаемые вещества укажите испытания на подлинность, применение которых основано на: а) кислотно-основных свойствах, б) окислительно-восстановительных свойствах. Охарактеризуйте специфичность этих реакций.
6. С какими веществами сульфониламиды несовместимы и почему?
7. Назовите фармакопейные методы количественного определения каждого вещества и напишите уравнения соответствующих реакций.
8. В чем заключается принцип конкурентного антагонизма? Почему сульфаниламидные препараты назначают в «ударных дозах»?

Тема 10.
ЛЕКАРСТВЕННЫЕ СРЕДСТВА, ПРОИЗВОДНЫЕ
СУЛЬФОНИЛМОЧЕВИНЫ И БИГУАНИДИНОВ

Лекарственные средства, предлагаемые для изучения:

Замещенные сульфонилмочевины: карбутамид (букарбан), глибенкламид (манинил), глипизид (минидаб), гликвидон (глюренорм), гликлазид (преддиан);

Бигуаниды: метформин

АКТУАЛЬНОСТЬ ТЕМЫ: Лекарственные вещества изучаемой группы широко применяются в медицинской практике как противодиабетические (гипогликемические) средства в составе различных лекарственных форм.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА 13

**Контроль качества лекарственных средств,
содержащих производные сульфонилмочевины**

Цель работы. Освоить методы контроля качества лекарственных средств, содержащих производные сульфонилмочевины

Задание 1. Написать формулы, латинские и химические названия, выделить в структуре молекул группу, обуславливающую гипогликемическое действие изучаемых лекарственных веществ. Перечислить другие функциональные группы и структурные фрагменты, имеющиеся в молекуле каждого изучаемого вещества. Охарактеризовать физические свойства и растворимость препаратов группы. Ответ оформить в виде таблицы (Приложение 1).

На основе знаний о химической структуре молекул предложить возможные способы подтверждения подлинности изучаемых лекарственных средств, а также предполагаемые способы их количественного определения.

Задание 2. Провести реакции, подтверждающие подлинность лекарственных средств, производных сульфонилмочевины, результаты оформить в виде таблицы (Приложение 2).

2.1. Общие реакции подлинности на карбутамид (букарбан),
гликлазид и глибенкламид

а) *Кислотный гидролиз с последующим выделением соответствующих аминов.* М е т о д и к а . К 0,05 г препарата или навеске растертых таблеток, содержащих такое же его количество прибавляют 2-3 мл 16 % серной кислоты и кипятят в течение 3 мин, затем осторожно прибавляют 3 мл 30 % раствора гидроксида натрия – на поверхности выделяются жирные кали аминов, имеющих характерный запах.

б) *Реакция щелочного гидролиза с выделением аммиака.* М е т о д и к а . К 0,05 г препарата или эквивалентной этому количеству навеске растертых таблеток прибавляют 3 мл 30 % гидроксида натрия. При нагревании в течение 2-3 мин препарат гидролизуется с образованием аммиака, который можно обнаружить по запаху или по посинению лакмусовой бумаги.

в) *Обнаружение органически связанной серы (сульфогруппа).* М е т о д и к а . Навеску, эквивалентную 0,2 г препарата, помещают в фарфоровую чашку или тигель, прибавляют 0,05 г натрия нитрата и 2 г натрия карбоната. Смесь спекают прокаливанием. После охлаждения к остатку прибавляют концентрированную кислоту хлороводородную и выпаривают досуха. К остатку прибавляют 50 мл воды и отфильтровывают нерастворившуюся часть. К фильтрату прибавляют 5 мл горячего раствора хлорида бария 5 %, образуется белый осадок сульфата бария.

г) *Реакция образования комплексных солей.* М е т о д и к а . 0,1 г субстанции или эквивалентную этому количеству навеску растертых таблеток растворяют в 5 мл 0,02М раствора натрия гидроксида и делят на 2 равные части (при работе с таблетками предварительно фильтруют и используют фильтрат). К одной части далее прибавляют 2-3 капли раствора меди (II) сульфата, к другой – 2-3 капли кобальта (II) хлорида. Наблюдают цвет образовавшихся осадков.

2.2. Частные реакции подлинности на букарбан (карбутаамид)

а) Букарбан отличается от других лекарственных веществ группы наличием в молекуле первичной аминогруппы, поэтому для него может быть проведена реакция образования азокрасителя. М е т о д и к а . К 0,05 г препарата прибавляют 2 мл воды, 3-5 капель разведенной кислоты хлороводородной, 3-5 капель 0,1М раствора натрия нитрита. К полученному раствору прибавляют 3 мл щелочного раствора β-нафтола, образуется вишнево-красное окрашивание.

б) *Реакция с нингидрином.* М е т о д и к а . К 0,2 г препарата прибавляют 1 мл 0,2 % раствора нингидрина в бутаноле. При нагревании смеси появляется фиолетовое окрашивание.

Задание 3. Провести фармакопейный анализ лекарственной формы, содержащей производные бигуанида. Результаты занести в паспорт аналитического контроля (Приложение 5)

Таблетки метформин-БМС 500 мг и 850 мг, покрытые оболочкой
(Бристол-Майерс Сквибб, отделение А/С ГЕА Фармасьютик Фабрик, Дания)

СПЕЦИФИКАЦИЯ

Показатель	Метод	Норма
Описание	визуальный	есть
Средняя масса	весовой (20 табл.)	500 мг: 603 мг \pm 5 % 850 мг: 1023 мг \pm 5 %
Однородность массы	весовой (20 табл.)	18/20 табл. – не $>\pm$ 5 % 2/20 табл. – не $>\pm$ 10 %
Подлинность	УФ- спектрофотометрия	Спектры образца и стандарта должны иметь максимум поглощения при длине волны 233 нм \pm 2 нм
Распадаемость	Евр.Ф. или ГФ XI	не более 30 мин
Высвобождение	ВР, метод вращающейся корзинки	не менее 75 % через 45 мин
Примеси	ВЭЖХ	Дициандиамид: не $>$ 0,02 % др. примеси: не $>$ 0,01 %
Количественное определение	УФ- спектрофотометрия	95-105 %
Микробиологическая чистота	ГФ XI	Категория 3 г
Упаковка	—	Пластиковый контейнер по 100 и 500 таблеток. Вторичная упаковка либо отсутствует, либо – прозрачная коробочка из поливинилхлорида
Маркировка	—	есть
Хранение	—	при комнатной температуре
Срок годности	—	5 лет
Фармакологическое действие	—	Гипогликемическое средство

Активное вещество – местформина гидрохлорид:

Лекарственная форма - таблетки

Внешний вид: 500 мг. Белые, круглые, выпуклые, покрытые оболочкой таблетки, имеющие код на одной стороне: I7 и LD. Ядро белого цвета.

Диаметр: I2 мм \pm 0,2 мм.

850 мг. Белые, круглые, выпуклые, покрытые оболочкой таблетки, имеющие код на одной стороне: 17 и LD. Ядро белого цвета.

Диаметр: I2 мм \pm 0,2 мм.

Белые, круглые, выпуклые, покрытые оболочкой таблетки, имеющие код на одной стороне: F 7 и LD. Ядро белого цвета.

Диаметр: I3 мм \pm 0,2 мм.

Средняя масса: 500 мг – 603 мг ± 5 %;
850 мг – 1023 мг ± 5 %.

Однородность массы: 18 из 20 таблеток 5 %,
2 из 20 таблеток 10 %.

Истираемость: не более 3 %.

Распадаемость: не более 30 мин (Евр.Ф. или ГФ XI).

Тест на растворение: Согласно Брит. Фармакопее метод «Вращающаяся корзинка», 100 оборотов в мин.

Норма: не менее 75 % через 45 мин.

Среда: 0,68 % раствор (в/об) калия дигидрофосфата с рН 6,8, установленный 40 % NaOH при 37°C, 1000 мл.

Методика: помещают по 1 таблетке в 6 стаканов. Через 45 минут отбирают по 10 мл раствора образца и фильтруют.

Тестируемый препарат разводят следующим образом:

1 мл – до 50 мл (для таблеток 500 мг)

1 мл – до 100 мл (для таблеток 850 мг)

Метод УФ-спектрофотометрия, максимум около анализа: 233 нм

Раствор сравнения – среда растворения

Расчеты: (X , %) высвободившегося вещества рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{A_{обр.} \cdot f \cdot 1000 \cdot 10 \cdot 100}{E_{1cm}^{1\%} \cdot b},$$

где: b – указанное содержание действующего вещества в таблетке, мг

$f = 50$ (для таблеток 500 мг)

$f = 100$ (для таблеток 850 мг)

$E_{1cm}^{1\%} = 806$.

Идентификация: УФ-спектрофотометрия.

Сканируют тестируемый раствор, приготовленный для количественного определения, и сравнивают со спектром стандарта.

Примеси (ВЭЖХ)

Колонка: Bondapak C₁₈ или Nucleosil C₁₈ 10 мкм, 300×3,9 мм внутреннего диаметра.

Подвижная фаза: 0,087 % водный раствор натрия пентасульфата (в/об) и 0,12 % натрия хлорида (в/об) с рН 3,5, устанавливаемый 1М раствором фосфорной кислоты

Скорость потока: Около 3 мл в минуту

Детектор: 218 нм

Исходный раствор. Экстрагируют навеску порошка таблеток, исследуемого образца: соответствующую содержанию 1,0 г метформина гидрохлорида в 100 мл воды и фильтруют (раствор 1)

Разведение раствора. Приготавливают разведение исследуемого образца раствора 1:1000 водой. Концентрация 0,001 % (раствор 2).

Приготовление стандарта. Растворяют 20 мг дициандиамида-стандарта в 100,0 мл воды. Разводят 1:100 водой. Концентрация 0,0002 %.

Вводят раствор стандарта в двукратной повторности, пока не получится двух одинаковых площадей пиков. Затем вводят раствор 2, и в заключении, раствор 1.

Для исходного раствора исследуемого образца записывают хроматограмму для трехкратного определения времени удерживания метформина гидрохлорида.

Расчеты: % содержание дициандиамида:

$$\frac{A_{\text{обр.}} \cdot \text{навеска стд.} \cdot \text{средняя масса} \cdot 100}{A_{\text{стд.}} \cdot \text{навеска обр.} \cdot \text{указанное содержание} \cdot 100}$$

Количественное определение. УФ-спектрофотометрия.

Тестируемый раствор:

Измельчают 10 таблеток и навеску порошка таблеток, эквивалентную 100 мг метформина гидрохлорида, помещают в мерную колбу на 500 мл. Добавляют 300 мл воды и встряхивают на механическом шейкере в течение 20 минут с последующей обработкой ультразвуком в течение 10 минут. Доводят объем раствора до метки водой. Раствор фильтруют, отбрасывая первые порции фильтрата – 20 мл, и разводят 5,00 мл фильтрата до 200,00 мл водой.

Раствор стандарта:

Помещают 100 мг метформина гидрохлорида – стандарта в мерную колбу на 500 мл. Добавляют 300 мл воды и встряхивают на механическом шейкере в течение 10 минут с последующей обработкой ультразвуком в течение 5 минут. Доводят объем раствора до метки водой и разводят 5,00 мл фильтрата до 200,00 мл водой.

Измеряют оптическую плотность тестируемого и стандартного растворов при максимуме поглощения приблизительно при 234 нм, используя в качестве раствора сравнения воду.

Расчет количественного содержания метформина гидрохлорида в 1 таблетке (X, %) проводят по формуле:

$$X = \frac{A_x \cdot m_{\text{ст}} \cdot P \cdot 100}{A_{\text{ст}} \cdot m_x \cdot b}$$

где A_x и $A_{\text{ст}}$ – оптическая плотность тестируемого и стандартного раствора, соответственно;

m_x и $m_{\text{ст}}$ – навески растертых таблеток и метформина гидрохлорида стандарта, соответственно, мг;

b – указанное содержание метформина гидрохлорида в таблетках, мг;

P – средняя масса 1 таблетки, мг

Полученное значение сравнивают с приведенным в спецификации и делают вывод о соответствии.

Специфические тесты

Идентификация красящего компонента титана диоксида E171:

Удаляют оболочки с такого количества таблеток, чтобы получить 50 мг. Сжигают оболочки в тигле в течение 15 минут, охлаждают, добавляют 2-3 капли концентрированной серной кислоты и нагревают еще 10 минут. Охлаждают приблизительно до 20°C и добавляют 13 мл почти кипящей воды, 5 мл 3 % перекиси водорода до получения 50 мл раствора.

Исследуют раствор методом спектрофотометрии.

Микробиологическая чистота: Испытания проводят в соответствии с требованиями и нормами XI. Категория 3.

Тема 11.

ПРОИЗВОДНЫЕ БЕНЗОЛСУЛЬФОХЛОРАМИДА И АМИДА ХЛОРБЕНЗОЛСУЛЬФОНОВОЙ КИСЛОТЫ И БЕНЗОТИАДИАЗИНА

Лекарственные вещества, предложенные для изучения:

Производные амида бензолсульфоновой кислоты: гидрохлоротиазид (дихлортиазид, гипотиазид), фуросемид, буметанид (буфенокс);

Производные бензолсульфохламида: хлорамин Б, галазон (пантоцид)

АКТУАЛЬНОСТЬ ТЕМЫ: Лекарственные вещества изучаемой группы широко применяются в медицинской практике в виде различных лекарственных форм как диуретики и гипотензивные средства (гипотиазид, фуросемид, буфенокс), а так же как активные антисептические средства (хлорамин Б, пантоцид).

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА 14

Контроль качества лекарственных средств, производных бензолсульфохламида и амида хлорбензолсульфоновой кислоты

Цель работы. Освоить методы контроля качества лекарственных средств, производных бензолсульфохламида и амида хлорбензолсульфоновой кислоты.

Задание 1. Напишите структурные формулы, русские и латинские названия лекарственных средств группы, охарактеризуйте их физические свойства, растворимость в различных растворителях. Ответ оформить в виде таблицы (Приложение 1).

Задание 2. Определите подлинность и количественное содержание хлорамина Б в субстанции по ГФ X с. 913. Результаты занести в таблицы (Приложение 2,3).

Описание

$C_6H_5ClNNaO_2S \cdot 3H_2O$ (М.в. 267, 68). Белые или слегка желтоватые кристаллы или кристаллический порошок со слабым запахом хлора. Растворим в воде, легче – в горячей воде, растворим в спирте с образованием мутноватых растворов. Очень мало растворим в эфире и хлороформе.

Содержание активного хлора не менее 25 % и не более 29 %.

Подлинность

Хлорамин Б при нагревании в тигле разлагается со вспышкой. После прокаливания остатка и внесения его в бесцветное пламя горелки оно окрашивается в желтый цвет (наличие ионов натрия).

Полученный после растворения остатка в воде фильтрат дает положительную реакцию на сульфаты, подтверждающую присутствие атома серы в молекуле. (ГФ Х1, ч. 1)

Количественное определение

М е т о д и к а. Около 1,5 г препарата (точная навеска) растворяют в 50 мл воды в мерной колбе емкостью 100 мл и доводят объем раствора водой до метки. 20 мл раствора переносят в коническую колбу с притертой пробкой емкостью 250 мл, прибавляют 10 мл раствора йодида калия, 10 мл разведенной соляной кислоты и выделившийся йод титруют 0,1 М раствором натрия тиосульфата (индикатор – крахмал).

1 мл 0,1М раствора натрия тиосульфата соответствует 0,003546 г Cl.

Хранят в хорошо укупоренной таре, в сухом, прохладном, защищенном от света месте.

Задание 3. Определить подлинность и количественное содержание буфенокса в субстанции по ФС 42-2979-93, результат оформить в виде паспорта аналитического контроля (Приложение 5)

3.1. Провести реакции подлинности на буфенокс

а) **М е т о д и к а.** 0,03 г препарата растворяют в 10 мл этанола 95 %; появляется фиолетовая флуоресценция.

б) **М е т о д и к а.** 0,02 г препарата нагревают с 1 мл кислоты азотной концентрированной на кипящей водяной бане в течение 2 мин; появляется коричневатое-красное окрашивание.

в) Снять УФ - спектр поглощения 0,002 % раствор препарата в смеси 95 % этанол – 0,1М HCl (1:1) в области от 250 до 400 нм.

Спектр препарата должен иметь максимум поглощения при $267 \text{ нм} \pm 2 \text{ нм}$ и $343 \text{ нм} \pm 2 \text{ нм}$.

3.2. Провести количественное определение буфенокса в субстанции алкалиметрическим титрованием

Методика. Около 0,5 г препарата (точная навеска) растворяют в 20 мл ацетона, прибавляют 10 мл воды, 0,1 мл индикатора бромтимолового синего 2 и титруют 0,1М раствором натрия едкого до синего окрашивания.

Параллельно проводят контрольный опыт.

1 мл 0,1М раствора натрия едкого соответствует 0,03644 г $C_7H_{20}N_2O_5S$, которого в препарате должно быть не менее 99,0 %.

УЧЕБНАЯ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКАЯ РАБОТА (УИРС)

Анализ инъекционной лекарственной формы, содержащей производные амида *o*-хлорбензолсульфоновой кислоты

Цель работы. Приобрести умения анализа и освоить способы расчета содержания действующего вещества в растворах для инъекций. Результаты испытаний оформить в виде паспорта аналитического контроля (Приложение 5).

Объект исследования: Раствор фуросемида 1 % для инъекций (ФС 42-3152-95).

Состав лекарственной формы и некоторые характеристики качества приведены в таблице 11.1.

Таблица 11.1

Некоторые характеристики качества раствора фуросемида 1 % для инъекций

Состав	Описание	Наполняемость (количество ампул для проверки)	Допустимый объем, мл	Цветность	рН препарата
Фуросемида – 10,0 г (ФС 42-2979-93) Раствора натрия едкого 1М – 32 мл Натрия хлорида – 7,5 г Воды для инъекций – до 1 л	Бесцветная прозрачная жидкость	по 2 мл (20 шт.)	2,0-2,15	Окраска препарата не должна быть интенсивнее эталона 7б	8,5-9,8

Задание 1. Определить цветность раствора для инъекций.

Провести испытание согласно ОФС «Определение окраски жидкости» (ГФ XI, вып. 2, с.194).

Полученные данные сравнить с данными нормативной документации (табл. 11.1).

Задание 2. Провести проверку наполняемости ампул (определение номинального объема) согласно ОФС «Инъекционные лекарственные формы» ГФ XI, вып. 2, с.140).

Объем инъекционных растворов в сосудах должен быть больше номинального (табл. 11.1). Объем инъекционного раствора в сосудах вместимостью до 50 мл проверяют калиброванным шприцем, сосудов вместимостью 50 мл и более – калиброванным цилиндром при температуре $(20\pm 2)^\circ\text{C}$.

Объем заполнения инъекционного раствора в сосудах зависит от вязкости (невязкие и вязкие растворы) и номинального объема. Количество сосудов для контроля заполнения зависит от номинального объема.

Провести измерения объема и результаты сравнить с НД (табл.).

Задание 3. Установить рН раствора потенциометрически.

Испытание провести согласно ОФС «Определение рН» (ГФ XI, вып. 1, с.113). Сделать заключение о соответствии данного показателя требованиям НД (табл.).

Задание 4. Провести испытание на механические включения в инъекционных лекарственных формах.

Данное испытание проводят в соответствии с действующей Инструкцией РД 42-501-98

Под механическими включениями подразумеваются посторонние нерастворимые частицы (кроме пузырьков газа), случайно присутствующие в лекарственных средствах.

Контроль на механические включения должен проводиться в условиях, исключающих возможность попадания посторонних частиц в контролируемые образцы.

Контроль и подсчет количества частиц может проводиться 3 методами: визуальным, счетно-фотометрическим, микроскопическим.

При визуальном методе контроля инъекционных препаратов на механические включения помещение и выполнение анализа защищают от прямого попадания солнечного света. Рабочее место контролера оснащают столом по ГОСТ 12.2.032-78 и источником освещения.

Визуальный контроль инъекционных препаратов на механические включения проводится контролером невооруженным глазом на черном и белом фонах. Зона контроля при просмотре освещается электрической лампой накаливания или лампой дневного света соответствующей мощности в зависимости от степени окраски растворов, так, чтобы освещенность зоны контроля составляла не менее 2000 лк.

Расстояние от глаз контролера до объекта контроля должно быть в пределах 25-30 см. Угол между оптической осью просмотра и направлением лучей света соответствует примерно 90° . Глаза контролера должны быть защищены от попадания света непосредственно от источника освещения. Линия зрения должна быть направлена несколько книзу при вертикальном положении головы.

Количество образцов, отбираемых от каждой серии инъекционного лекарственного средства, зависит от его агрегатного состояния (раствор или сухое вещество), объема инъекционного лекарственного средства (малого – 10 мл и менее, и большого – более 100 мл), объема серии и метода контроля (разрушающий или неразрушающий).

Для проведения визуального контроля инъекционных препаратов большого и малого объема, не требующих вскрытия и растворения (неразрушающий контроль), поверхность ампул, флаконов, бутылок, шприц-тюбиков и других емкостей из прозрачных полимерных материалов должна быть чистой и сухой.

Для просмотра инъекционных препаратов берут в руки ампулу за капилляры, флаконы и бутылки за горловины, шприц-тюбики – за колпачки, вносят их в зону контроля в положении «вверх доньшком» и просматривают на черном и белом фонах, переводят их в положение «вниз доньшком» и вторично просматривают на черном и белом фонах.

Емкости с инъекционными препаратами, в которых обнаружены видимые механические включения, считают забракованными и укладывают в отдельную тару с отметкой «Брак».

Проверить на наличие механических включений не менее 10 ампул.

Задание 5. Определить подлинность препарата.

Ультрафиолетовый спектр раствора препарата, приготовленного для количественного определения, в области от 220 до 300 нм имеет максимумы поглощения при $228 \text{ нм} \pm 2 \text{ нм}$ и $271 \text{ нм} \pm 2 \text{ нм}$ и минимум при $249 \text{ нм} \pm 2 \text{ нм}$.

Задание 6. Выполнить испытания на содержание примесей в препарате.

Испытание на первичные ароматические амины.

М е т о д и к а . 1,2 мл препарата помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, прибавляют 7 мл воды, 5 мл диметилформамида, перемешивают и охлаждают в ледяной бане. Не вынимая колбы из бани, прибавляют при перемешивании 2 мл 0,1М раствора кислоты хлористоводородной и 1 мл 0,1М раствора натрия нитрита. Через 5 мин прибавляют 1 мл 2,5 % раствора кислоты сульфаниловой и непрерывно перемешивают раствор в течение 3 мин. Затем колбу вынимают из бани, прибавляют 1 мл 0,5 % раствора N-(1-нафтил)-этилендиамин дигидрохлорида, перемешивают, доводят объем раствора диметилформамидом до метки и вновь перемешивают. Выдерживают в защищенном от света месте в течение 30 мин. Измеряют оптическую плотность полученного раствора на спектрофотометре при длине волны 530 нм в кювете с толщиной слоя 1 см.

В качестве раствора сравнения используют раствор, содержащий воду вместо раствора препарата. Оптическая плотность не должна превышать 0,2.

Задание 7. Выполнить количественное определение фуросемида в растворе для инъекций.

Методика. 2 мл препарата помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. 10 мл раствора помещают в мерную колбу вместимостью 250 мл, прибавляют 25 мл раствора натра едкого 0,1М, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Измеряют оптическую плотность полученного раствора на спектрофотометре при длине волны 271 нм в кювете с толщиной слоя 1 см.

Одновременно проводят определение оптической плотности раствора рабочего стандартного образца (PCO) фуросемида. В качестве раствора сравнения используют раствор натра едкого 0,01М.

Содержание фуросемида в 1 мл препарата в граммах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{D_p \cdot m \cdot 100 \cdot 250 \cdot 1}{D_0 \cdot 2 \cdot 10 \cdot 100 \cdot 100} = \frac{D_p \cdot m \cdot 0.125}{D_0},$$

где D_p – оптическая плотность испытуемого раствора;

D_0 – оптическая плотность раствора стандартного образца;

m – навеска фуросемида, г.

Содержание $C_{12}H_{11}ClN_2O_5S$ (фуросемид) в 1 мл препарата должно быть от 0,0090 до 0,011 г.

Примечание. Приготовление раствора PCO фуросемида. 0,08 г (точная навеска) фуросемида помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 80 мл раствора натра едкого 0,1М, доводят объем до метки и перемешивают. 1 мл полученного раствора переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 9 мл раствора натра едкого 0,1М, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. 1 мл раствора PCO содержит 0,000008 г фуросемида. Срок годности раствора 1 сутки.

Задание 8. Результаты проведенных испытаний оформить, заполнив аналитический паспорт на препарат по прилагаемой форме (Приложение 5).

Задание 9. Ответить на контрольные вопросы по теме УИРС

КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

по теме «Производные бензолсульфохлаорамида и амида хлорбензолсульфоновой кислоты и бензотиадиазина»

1. Какой нормативный документ регламентирует качество лекарственных форм для инъекций?
2. Какие требования предъявляются к инъекционным растворам в отношении прозрачности и цветности?
3. Как определяют объем инъекционных лекарственных форм в ампулах?
4. Какие требования в отношении наполняемости ампул предъявляет ГФ в зависимости от номинального объема и вязкости жидкости?
5. Какое количество ампул нужно взять для контроля заполнения в соответствии с требованиями ГФ, если номинальный объем ампул 5 мл?
6. Напишите структурные формулы ЛС, производных амида бензолсульфоновой кислоты, а также общую формулу этих соединений, выделите имеющиеся функциональные группы. В формулах фуросемида и буфенокса выделите структурный фрагмент, соответствующий бензолсульфоновой кислоте и ее амиду. Выделите этот же фрагмент в формуле гипотиазида. Поясните, почему по химической структуре гипотиазид может быть отнесен как к производным бензолсульфоновой кислоты, так и к производным бензотиадиазина. Выделите структурный фрагмент бензотиадиазина в структуре гипотиазида, пронумеруйте атомы в циклах.
7. Напишите структурные формулы ЛС, производных бензолсульфохлаорамида. Выделите структурный фрагмент бензолсульфоокислоты и ее амида, а так же другие функциональные группы и структурные фрагменты. Укажите структурный фрагмент, отвечающий за антисептическую активность изучаемых веществ, приведите их латинские, химические названия (синонимы).
8. Напишите латинские и химические (синонимы) названия изучаемых веществ.
9. Укажите фармакологическую группу и медицинское применение изучаемых веществ, а также их лекарственные формы;
10. Перечислите основные источники и методы получения изучаемых веществ.
11. Охарактеризуйте внешний вид изучаемых веществ и их растворимость в воде и органических растворителях. Охарактеризуйте растворимость ЛС группы в растворах кислот и щелочей. Покажите связь этих свойств с химической структурой изучаемых соединений;
12. Поясните, подлинность каких из изучаемых ЛС может быть определена по реакциям (там, где возможно, приведите уравнения):
 - а) образования окрашенных солей с тяжелыми металлами;
 - б) осаждения сульфатаниона после предварительной минерализации препарата;
 - в) образования азокрасителя после щелочного гидролиза ЛС;
 - г) образования ауринового красителя с хромотроповой кислотой после кислотного гидролиза ЛС;

д) образования характерного окрашивания при взаимодействии с концентрированной кислотой серной или азотной;

е) обесцвечивания окраски индикаторов.

13. Какие химические процессы происходят при гидролизе хлорамина Б и галазона? Приведите схемы происходящих при этом реакций. Почему этот процесс получил название «кислородного распада»? Как это свойство препаратов связано с проявляемым ими антисептическим действием и как его используют при подтверждении их подлинности и количественном определении?

14. Поясните, как в одном испытании хлорамина Б на подлинность можно сразу подтвердить наличие в его составе ионов натрия и органически связанной серы. Какой еще характерный эффект имеет место при выполнении этого испытания?

15. Опишите условия, в которых может происходить «хлорный распад» галазона и хлорамина. Как это свойство используют для количественного определения препаратов? Приведите необходимые уравнения реакций. Укажите титрант, индикатор, условия проведения определения. Проведите расчет фактора эквивалентности определяемых веществ. Поясните, в чем заключается особенность расчета титра по определяемому веществу в этом методе. В каких единицах принято выражать активность хлорамина Б, пантоцида и почему?

16. Какие примеси нормируют по НД в гидрохлоротиазиде и фуросемиде? Какие методы для этого используют?

17. Приведите схемы реакций, лежащих в основе количественного определения гипотиазиды, фуросемида и буфенокса методом неводного титрования. Что используют в качестве растворителя в этом методе? На каких свойствах препаратов основано определение? Какие функциональные группы отвечают за эти свойства? Укажите титрант, индикатор, условия проведения титрования. Проведите расчет фактора эквивалентности определяемых веществ в этой реакции.

18. Приведите схему реакций, лежащих в основе количественного определения гидрохлоротиазиды методом цериметрии. Укажите титрант, индикатор, условия проведения определения. Проведите расчет фактора эквивалентности определяемого вещества в этой реакции.

19. Какие физико-химические методы анализа используют при проведении контроля качества лекарственных препаратов данной группы?

Укажите условия хранения ЛС группы, ответ мотивируйте.

ЛИТЕРАТУРА

Основная

1. Фармацевтическая химия : учеб. для студ. фарм. ин-тов и фарм. фак. мед. ин-тов. – в 2 ч. :– Ч.1: Общая фармацевтическая химия. – 1993. – 432 с.
2. Фармацевтическая химия : учеб. для студ. фарм. ин-тов и фарм. фак. мед. ин-тов. в 2 ч. : – Ч.2: Специальная фармацевтическая химия. – 1996. – 608 с.
3. Беликов В.Г. Фармацевтическая химия : учебник по фарм. химии для студ. фарм. вузов и фак. / В.Г. Беликов. в 2 ч. : – Пятигорск: Пятигорская гос. фарм. акад., 2003. – 713 с.
4. Анализ лекарственных смесей : учеб. пособие для студ. фарм. ин-тов и фарм. фак. мед. вузов / А. П. Арзамасцев и др. – М. : Компания Спутник, 2000. – 275 с.
5. Руководство к лабораторным занятиям по фармацевтической химии : учеб. пособие для студ. фарм. вузов и фак. / Э.Н.Аксенова и др. – М. : Медицина, 2001. – 379 с.

Дополнительная

6. Государственная фармакопея Союза Советских социалистических республик / М-во здравоохранения СССР ; редкол. : М.Д.Машковский (гл.ред.) и др. – 10-е изд. – М.: Медицина, 1968. – 1035 с.
7. Государственная фармакопея СССР / МЗ РФ. – Вып. 1,2. – Репр. изд. 11-го изд. 1987 и 1990 гг., 1998. – 333 с., 397 с.
8. Лабораторные работы по фармацевтической химии : учеб. пособие / В.Г. Беликов и др. – Пятигорск, 2003. – 341 с.
9. Сливкин А.И. Контроль качества экстенпоральных лекарственных форм : учеб. пособие / А.И. Сливкин, Н.П. Садчикова. – Воронеж : Изд-во Воронеж. гос. ун-та, 2003. – 260 с.
10. Сливкин А.И. Физико-химические и биологические методы оценки качества лекарственных средств : учеб. пособие / А.И. Сливкин, В.Ф. Селеменев, Е.А. Суховерхова. – Воронеж : Изд-во Воронеж. гос. ун-та, 1999. – 366 с.
11. Государственный реестр лекарственных средств: Официальное издание (по сост. на 1 февр. 2002 г.) / М-во здравоохранения Рос. Федерации; Пред. кол. Катлинский А.В. – 2002. – Т. 1. – 1300 с.
12. Экспресс-анализ с целью выявления фальсифицированных лекарственных средств : Фторхинолоны и цефалоспорины Практическое руководство / А.П. Арзамасцев и др. – М. : Русский врач, 2003. – 130 с.
13. Типовые тестовые задания для итоговой государственной аттестации выпускников высших медицинских и фармацевтических учебных заведений по специальности 040500 "Фармация" / сост. А.П. Арзамасцев и др. – М. : ВУНМЦ, 2004. – 202 с.

14. Типовые ситуационные задачи для итоговой государственной аттестации выпускников медицинских и фармацевтических вузов по специальности 040500 "Фармация" / сост. А.П. Арзамасцев и др. – М. : ГОУ ВУНМЦ , 2004. – 139 с.
15. Лекарственные средства : пособие для врачей : в 2 т. / М.Д. Машковский; науч. ред. С.Д. Южаков. – 2002. – Т.1. – 539 с.
16. Лекарственные средства: пособие для врачей : в 2 т. / М. Д. Машковский; науч. ред. С.Д. Южаков. – 2002. – Т.2. – 608 с.
17. Международная фармакопея : Спецификации для контроля качества фармацевтических препаратов / пер. с англ. А.П. Арзамасцева; под ред. М.Д. Машковского. – М. : Медицина, 1969. – 982 с.
18. European Pharmacopoeia : Supplement, 2001 : Publ. in accordance with the Convention on the Elaboration of a European Pharmacopoeia (European Treaty Series No. 50. – 3rd ed. – Strasbourg: Council of Europe, 2000. – XIV.
19. European Pharmacopoeia, 1997 : Publ. in accordance with the Convention on the Elaboration of a European Pharmacopoeia (European Treaty Series No) – 3rd ed. – Strasbourg : Council of Europe, 1996. – XVIII.
20. The United States Pharmacopoeia (электронный ресурс). Version 4.00. – United States Pharmacopoeial Convention, 2000. – 1 электрон. опт. диск (CD-ROM).

ПРИЛОЖЕНИЯ

Приложение 1

Таблица 1

Результаты определения физических и физико-химических свойств лекарственных веществ

Лекарственное вещество (латинское и русское название, синонимы)	Формула и химическое название	Внешний вид	Цвет	Запах	Вкус	Растворимость в различных растворителях

Приложение 2

Таблица 2

Результаты определения подлинности лекарственных средств

Исследуемое лекарственное средство	Используемые реагенты	Результаты испытаний	Уравнения реакций

Приложение 3

Таблица 3

Результаты количественного определения лекарственного вещества химическими методами

Масса навески, взятая для анализа, г (аликвота, мл)	Молярная масса эквивалента, г/моль	Титр, г/мл	Объем титранта, мл	Найдено, % или г	Требования ФС

Таблица 4

Результаты количественного определения лекарственного вещества физико-химическими методами

Масса навески, взятая для анализа, г (аликвота, мл)	Результаты измерений физико-химических характеристик	Найдено, % или г	Требования ФС

Приложение 4

Протокол результатов анализа лекарственного вещества (латинское и русское названия)

Структурная формула

Молекулярная масса

Время начала анализа

1. Свойства лекарственного вещества.
2. Испытания на подлинность.
3. Испытания на чистоту.
4. Количественное определение.
5. Заключение.

Время окончания анализа

Дата
Подпись студента

Приложение 5

Аналитический паспорт

Наименование _____

Серия _____

Испытания проведены по НД _____

Показатель качества по НД	Требования к качеству по НД (метод анализа)	Результаты анализа	Химические реакции. Предварительные расчеты
1. Описание 2. Подлинность 3. Испытания на чистоту Хлориды и т.д. 4. Количественное определение 5. Упаковка 6. Маркировка 7. Срок годности			

Заключение:

Дата анализа:

Анализ провел:

Учебно-методическое издание

Практикум по фармацевтической химии

Методическое пособие
по специальности 060108 (040500) «Фармация»

Тираж 150. Заказ 548.
Формат 60x84/16. Объем 8 п.л.

Подписано в печать

Воронежский государственный университет
394006, г. Воронеж, Университетская пл., 1

Отпечатано в типографии ИПЦ ВГУ
394000, г. Воронеж, ул. Пушкинская, 3