



СЕЧЕНОВСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ

Федеральное государственное автономное образовательное
учреждение высшего образования Первый Московский
государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова
Министерства здравоохранения Российской Федерации
(Сеченовский Университет)

Под редакцией
Г. В. Раменской

РУКОВОДСТВО К ЛАБОРАТОРНЫМ ЗАНЯТИЯМ ПО ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ ХИМИИ



СЕЧЕНОВСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ

Федеральное государственное автономное образовательное
учреждение высшего образования Первый Московский
государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова
Министерства здравоохранения Российской Федерации
(Сеченовский Университет)

Под редакцией
Г. В. Раменской

РУКОВОДСТВО К ЛАБОРАТОРНЫМ ЗАНЯТИЯМ ПО ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ ХИМИИ

3-е издание, электронное

Рекомендовано Координационным советом по области
образования "Здравоохранение и медицинские науки"
в качестве учебного пособия для использования
в образовательных учреждениях, реализующих
программы высшего образования по направлению
подготовки 33.05.01 "Фармация" по дисциплине
"Фармацевтическая химия"



Москва
Лаборатория знаний
2021

УДК 615.1/4 (076)
ББК 52.8я73
Р85

Руководство к лабораторным занятиям по фарма-
Р85 **цевтической химии : практикум / под ред. Г. В. Ра-**
менской. — 3-е изд., электрон. — М. : Лаборатория
знаний, 2021. — 355 с. — Систем. требования: Adobe
Reader XI ; экран 10". — Загл. с титул. экрана. —
Текст : электронный.

ISBN 978-5-00101-387-7

Учебное пособие по курсу фармацевтической химии составлено на основе многолетнего опыта работы студенческого практикума по фармацевтической химии фармацевтического факультета Первого Московского государственного медицинского университета им. И. М. Сеченова. Содержит методики синтеза веществ различных классов. Изложены общие правила и методы работы в органическом практикуме, даны общие указания по интерпретации спектров веществ.

Пособие подготовлено в комплекте с учебником «Фармацевтическая химия» (под редакцией Г. В. Раменской), составленном в соответствии с программой по дисциплине «Фармацевтическая химия» по специальности «33.05.01, 060301, 060108 — Фармация».

Для студентов, аспирантов и преподавателей фармацевтических вузов и факультетов медицинских университетов.

УДК 615.1/4 (076)
ББК 52.8я73

Деривативное издание на основе печатного аналога: Руководство к лабораторным занятиям по фармацевтической химии : практикум / под ред. Г. В. Раменской. — М. : Лаборатория знаний, 2016. — 352 с. : ил. — ISBN 978-5-906828-18-7.

ISBN 978-5-00101-387-7

© Лаборатория знаний, 2016
© ФГАОУ ВО Первый МГМУ
им. И. М. Сеченова Минздрава России
(Сеченовский Университет), 2016

Дорогому учителю — Александру Павловичу Арзамасцеву



25.03.1933–23.12.2008

Александр Павлович Арзамасцев — выдающийся ученый, первый академик РАМН в области фармации, заслуженный деятель науки, лауреат премии правительства Российской Федерации в области науки и техники, доктор фармацевтических наук, профессор.

Ведущий специалист в области фармакопейного анализа и фармацевтической химии, руководил фармакопейным комитетом Министерства здравоохранения РФ. Более 20 лет возглавлял фармацевтический факультет и более 30 лет (до последнего дня жизни) заведовал кафедрой фармацевтической химии ММА им. И. М. Сеченова (в настоящее время Первый Московский государственный медицинский университет им. И. М. Сеченова).

Автор приоритетных исследований по синтезу, стандартизации, контролю качества и фармакокинетики лекарственных средств; пяти монографий, учебников, более 450 научных статей и 26 изобретений.

Под его руководством подготовлено 10 докторов и 75 кандидатов фармацевтических наук. Его ученики работают по всей России и во многих странах.

Двери его кабинета всегда были открыты для каждого.

Предисловие

Фармацевтическая химия — одна из основополагающих наук современного фармацевтического образования. Главные задачи фармацевтической химии: моделирование и синтез новых лекарственных веществ, изучение фармакокинетики и др.; особое место занимают вопросы стандартизации и оценки качества лекарственных средств.

Фармакопейный анализ лекарственных веществ включает оценку качества по множеству показателей. Первоначально для такого анализа применяли исключительно химические методы: реакции подлинности, реакции на содержание примесей, титрование при количественном определении. В современных условиях обеспечение качества лекарственных средств достигается за счет повышения уровня стандартизации и приведения нормативной базы в соответствие с международными требованиями.

В этих условиях возрастает исключительная роль фармакопеи как основного документа, направленного на унификацию и стандартизацию испытаний и норм, обеспечивающих надлежащее качество лекарственных средств. Стандартизации подвергаются общие и частные статьи при обеспечении их научного уровня в соответствии с современными достижениями в химии синтетических и природных лекарственных веществ, путем установления новых характеристик (кристалличность, дифракция рентгеновских лучей и др.), разработки новейших технологий их получения.

Для оценки подлинности, посторонних примесей, тестов растворения, однородности дозирования, количественного определения и других показателей широко применяются спектральные методы (инфракрасная и ультрафиолетовая спектрофотометрия), спектроскопия ЯМР, различные виды хроматографии — тонкослойная, высокоэффективная, газовая.

Руководство составлено в соответствии с программой по дисциплине «Фармацевтическая химия» по специальности «33.05.01, 060301, 060108 — Фармация» и предназначено для студентов фармацевтических вузов и факультетов, аспирантов и провизоров.

Авторский коллектив

Аксенова Элеонора Николаевна, кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармацевтической и токсикологической химии ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова

Андрианова Ольга Павловна, кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармацевтической и токсикологической химии ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова

Арзамасцев Александр Павлович, доктор фармацевтических наук, академик РАМН, профессор кафедры фармацевтической и токсикологической химии ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова

Горпинченко Наталия Васильевна, кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармацевтической и токсикологической химии ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова

Коваленко Людмила Ивановна, кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармацевтической и токсикологической химии ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова

Кузина Вера Николаевна, кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармацевтической и токсикологической химии ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова

Ноздрин Константин Владимирович, кандидат фармацевтических наук, ассистент кафедры фармацевтической и токсикологической химии ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова

Печенников Валерий Михайлович, кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармацевтической и токсикологической химии ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова

Прокофьева Вера Ивановна, доктор фармацевтических наук, профессор кафедры фармацевтической и токсикологической химии ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова

Раменская Галина Владиславовна, доктор фармацевтических наук, заведующая кафедрой фармацевтической и токсикологической химии ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова

Рыженкова Александра Петровна, кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармацевтической и токсикологической химии ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова

Садчикова Наталья Петровна, доктор фармацевтических наук, профессор кафедры фармацевтической и токсикологической химии ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова

Чернова Светлана Викторовна, кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармацевтической и токсикологической химии ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова

Чугаев Дмитрий Владиславович, кандидат фармацевтических наук, ассистент кафедры фармацевтической и токсикологической химии ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова

Щепочкина Ольга Юрьевна, кандидат фармацевтических наук, доцент кафедры фармацевтической и токсикологической химии ГБОУ ВПО Первый МГМУ им. И. М. Сеченова

Общие методы и приемы исследования качества лекарственных средств

ГЛАВА 1

Физические и физико-химические методы исследования лекарственных средств

1.1. Рефрактометрия

Общие положения

Если луч света пересекает границу раздела двух прозрачных однородных сред, то направление луча изменяется — происходит его преломление, или *рефракция*. Согласно закону преломления света, отношение синусов углов падения и преломления — величина постоянная:

$$n = \frac{\sin \alpha}{\sin \beta}$$

Коэффициент n называется *показателем преломления*. Это безразмерная величина, которая указывает, во сколько раз скорость света в «среде 1» больше скорости света в «среде 2» (рис. 1.1):

$$n = \frac{v_1}{v_2}$$

Если «среда 1» — это вакуум, то v_1 — скорость света в вакууме ($\approx 3 \cdot 10^8$ м/с), а коэффициент n — *абсолютный показатель преломления* (обычно его определяют для газов). Для жидкостей и твердых тел наиболее часто определяют показатель преломления относительно воздуха. В этом случае n — *относительный*

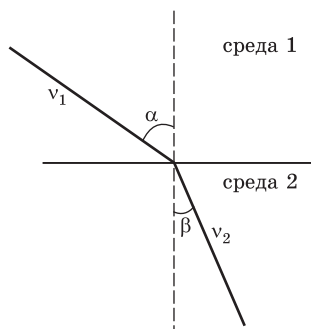


Рис. 1.1. Показатель преломления

показатель преломления вещества. Связь между абсолютным $n_{\text{абс}}$ и относительным $n_{\text{отн}}$ показателями преломления имеет вид:

$$n_{\text{абс}} = n_{\text{возд}} \times n_{\text{отн}}$$

где $n_{\text{возд}}$ — абсолютный показатель преломления воздуха ($\approx 1,00027$). Проводить подобный расчет, однако, обычно нет необходимости, так как в рефрактометрических таблицах для жидких и твердых веществ (и для растворов лекарственных веществ) также приводят значения $n_{\text{отн}}$.

В фармакопейном анализе метод рефрактометрии в основном применяется для установления подлинности и анализа чистоты лекарственных веществ (в последнем случае — как косвенный показатель). В экспресс-анализе (т. е. нефармакопейном) данный метод широко используется для количественного анализа растворов лекарственных веществ. С этой целью применяются рефрактометры, позволяющие определять показатель преломления с относительно высокой точностью: $n \pm 0,0001$.

Анализ жидких лекарственных форм, содержащих одно растворенное вещество

В этом разделе мы рассмотрим рефрактометрический анализ двухкомпонентных систем, состоящих из растворителя и растворенного лекарственного вещества.

Наиболее точный количественный рефрактометрический анализ возможен только в определенном диапазоне концентраций. Для большинства лекарственных веществ верхний предел этого диапазона находится в области 20—30%. При этом важно отметить, что регламентируется и нижний предел концентрации: *в общем случае* он составляет 3%. Это связано с тем, что при низком содержании вещества в растворе недопустимо возрастает относительная погрешность рефрактометрического анализа. В частности, необходимо отметить, что *изотонический раствор натрия хлорида (т. е. 0,9%) не анализируют методом рефрактометрии*.

Для определения концентрации раствора по показателю преломления существуют два подхода:

Первый подход заключается в использовании рефрактометрических таблиц, в которых приводятся значения показателей преломления и соответствующих им концентраций (или наоборот). В том случае, если в таблице отсутствует найденная экспериментально величина, для нахождения промежуточных значений используют метод интерполяции.

Методика

Раствора магния сульфата 25% — 10 мл.

Измеренный показатель преломления составил 1,3551. Находим в рефрактометрической таблице ближайшие значения — 1,3550 и 1,3560. Им соответствуют концентрации 24,70% и 25,92%. Рассчитываем, на сколько изменяется концентрация при изменении показателя преломления на 0,0001: $(25,92\% - 24,70\%) / 10 = 0,122\%$. Отсюда, показателю преломления 1,3551 соответствует концентрация:

$$24,70\% + 0,122\% \approx 24,82\%$$

Сущность *второго подхода* состоит в нахождении уравнения, описывающего зависимость показателя преломления раствора от концентрации растворенного вещества (и наоборот). Если эта зависимость линейна, то искомое уравнение в общем случае имеет вид:

$$n = n_0 + F_X \cdot C_X$$

где n_0 — показатель преломления растворителя (для воды $n_D^{20} \approx 1,3330$);
 F_X — фактор показателя преломления вещества X, физический смысл которого заключается в том, что он равен величине прироста показателя преломления при увеличении концентрации на 1%;
 C_X — концентрация раствора вещества X, %.

Отсюда, для нахождения концентрации раствора вещества X в процентах по показателю преломления, определенному с помощью рефрактометра, расчет ведут по формуле:

$$C_X = \frac{n - n_0}{F_X} \quad (1)$$

Если содержание определяемого компонента в препарате необходимо получить в граммах (m_X), расчет ведут по формуле:

$$m_X = \frac{n - n_0}{F_X} \times \frac{V_{\text{ПРЕПАРАТА}}}{100} \quad (2)$$

где $V_{\text{ПРЕПАРАТА}}$ — общий объем препарата, мл;
 100 — коэффициент, служащий для перевода концентрации из процентов (г/100 мл) в г/мл.

В рефрактометрических таблицах всегда указывается, какому способу выражения концентрации (массовая доля или массо-объемная концентрация) соответствуют приводимые показатели преломления и факторы показателей преломления.

Значение F находят для каждого конкретного вещества на основании экспериментальных данных. Примером линейной зависимости показателя преломления раствора от массообъемной концентрации растворенного вещества могут служить водные растворы глюкозы. Для этого лекарственного вещества фактор показателя преломления для массообъемной концентрации $F = 0,00142\%^{-1}$, и линейное уравнение имеет вид:

$$n = 1,3330 + 0,00142 \cdot C \quad (3)$$

Для большинства лекарственных веществ во всем диапазоне концентраций зависимость n от C нелинейна, т. е. фактор показателя преломления F меняется вместе с концентрацией. Учитывая это, на основании экспериментальных данных были рассчитаны значения F для конкретных концентраций и составлены соответствующие таблицы зависимости фактора показателя преломления F от концентрации для ряда веществ. В этом случае для расчета C_X в формулу подставляют то значение F , которое соответствует предполагаемой концентрации вещества X.

Рассчитаем концентрацию с использованием фактора F на примере **раствора магния сульфата 25%**. Фактор показателя преломления F для этой концентрации, найденный по рефрактометрической таблице, равен 0,00089. Измеренный с помощью рефрактометра показатель преломления $n = 1,3551$. По формуле рассчитываем концентрацию анализируемого раствора:

$$C = (1,3551 - 1,3330) / 0,00089 = 24,83\%$$

Методика

Раствора глюкозы 10% — 100 мл.

Измерение показателя преломления раствора при 18 °С дало результат 1,3475. Требуется найти концентрацию глюкозы.

Первый подход. По формуле (3) рассчитываем, что при 20 °С показатель преломления должен быть равен 1,3473. По рефрактометрической таблице находим (с привлечением метода интерполяции), что такому значению n соответствует концентрация глюкозы 10,07%. Можно также по рефрактометрической таблице найти, что фактор показателя преломления F для растворов глюкозы равен 0,00142, и рассчитать по формуле (1) концентрацию глюкозы:

$$C = (1,3473 - 1,3330) / 0,00142 = 10,07\%$$

Второй подход. Используя вышеуказанное правило для водных растворов твердых веществ, измеряем при той же температуре показатель преломления воды очищенной — 1,3332. По рефрактометрической таблице находим, что фактор показателя преломления F для растворов глюкозы равен 0,00142. Подставляем найденные значения в формулу (1):

$$C = (1,3475 - 1,3332) / 0,00142 = 10,07\%$$

Часто для расчета содержания глюкозы в водном растворе приводят следующую формулу:

$$C = \frac{n - n_0}{0,00142 \cdot 100}$$

где n и n_0 — показатели преломления соответственно раствора и растворителя, а 0,00142 — фактор показателя преломления водных растворов глюкозы. При этом значение 100 в знаменателе служит для перевода концентрации глюкозы из процентов (г/100 мл) в г/мл, если в нормативной документации концентрация указана в г/мл.

Анализ многокомпонентных лекарственных форм

Рефрактометрический анализ смесей лекарственных веществ основывается на правиле аддитивности (сложения) показателей преломления:

$$n = n_0 + n_1 + n_2 + \dots + n_i = n_0 + C_1 F_1 + C_2 F_2 + \dots + C_i F_i$$

Показатель преломления раствора равен сумме показателей преломления всех его компонентов — растворителя и растворенных веществ. Из этого уравнения можно вывести формулу для расчета концентрации одного из компонентов смеси:

$$C_1 = \frac{n - (n_0 + C_2 F_2 + \dots + C_i F_i)}{F_1} \quad (4)$$

При этом имеется в виду, что все остальные компоненты смеси определяются какими-либо другими методами, например титриметрически, и перед проведением расчета по формуле (4) все концентрации, кроме C_1 , уже известны.

Если содержание определяемого компонента в препарате необходимо получить в граммах (m_1), расчет ведут по формуле:

$$m_1 = \frac{n - (n_0 + C_2 F_2 + \dots + C_i F_i)}{F_1} \times \frac{V_{\text{ПРЕПАРАТА}}}{100} \quad (5)$$

где $V_{\text{ПРЕПАРАТА}}$ — общий объем препарата, мл; 100 — коэффициент, служащий для перевода концентрации из процентов (г/100 мл) в г/мл.

Пример

Натрия бромид — 2,0 мл.

Магния сульфата — 5,0 мл.

Раствора глюкозы 20% — 200,0 мл.

В этом случае натрия бромид определяют методом аргентометрии (титрант — 0,1 М раствор нитрата серебра), магния сульфат — методом комплексонометрии (титрант — 0,05 М раствор трилона Б). Глюкозу в присутствии натрия бромида целесообразно определить рефрактометрическим методом. Расчет содержания глюкозы в процентах ($C_{\text{ГЛК}}$) выполняют по формуле (4):

$$C_{\text{ГЛК}} = [n - (n_0 + C_{\text{NaBr}} \times F_{\text{NaBr}} + C_{\text{MgSO}_4} \times F_{\text{MgSO}_4})] / F_{\text{ГЛК}}$$

где n — показатель преломления раствора;
 n_0 — показатель преломления воды очищенной, измеренный при той же температуре;
 C_{NaBr} — концентрация натрия бромида в растворе, определенная методом аргентометрии;
 F_{NaBr} — фактор показателя преломления раствора натрия бромида для найденной концентрации;
 C_{MgSO_4} — концентрация магния сульфата ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) в растворе, определенная методом комплексонометрии;
 F_{MgSO_4} — фактор показателя преломления раствора магния сульфата ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) для найденной концентрации;
 $F_{\text{ГЛК}}$ — фактор показателя преломления раствора глюкозы.

1.2. Поляриметрия

Рассмотрим методику анализа таблеток валидола в качестве примера использования поляриметрии для количественного определения (*подробнее см. Учебник*).

Анализ таблеток валидола

Около 15 г порошка растертых таблеток (точная навеска) помещают в коническую колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 15—20 мл петролейного эфира и взбалтывают в течение 5 мин; затем взвеси дают отстояться и осторожно декантируют жидкость с осадка на стеклянный фильтр № 2 в мерную колбу вместимостью 50 мл. К осадку вновь прибавляют 6 мл петролейного эфира и перемешивают содержимое колбы в течение 3 мин. Взвеси дают отстояться и фильтруют через тот же фильтр и в ту же колбу. Извлечение повторяют

еще 3 раза, прибавляя к осадку по 10 мл петролейного эфира. Объем фильтрата в мерной колбе доводят петролейным эфиром до метки. В растворе определяют угол вращения плоскости поляризации. Показания поляриметра наблюдают 5 раз и берут среднюю арифметическую величину. Содержание валидола в одной таблетке в граммах вычисляют по приведенной выше формуле (5).

1.3. Спектрофотометрия в инфракрасной области спектра

Инфракрасная (ИК) область электромагнитного спектра, используемая в фармацевтическом анализе, охватывает интервал $4000\text{—}250\text{ см}^{-1}$.

ИК-спектрофотометрия, впервые введенная в Государственной фармакопее (ГФ Х) для идентификации фторотана и натриевых солей полусинтетических пенициллинов — метициллина и оксациллина, в последнее время все чаще применяется в анализе различных классов лекарственных веществ.

Приборы. Спектрофотометры, применяемые в ИК-области, в основном аналогичны приборам для видимой и ультрафиолетовой (УФ) областей и отличаются от последних в отношении источников получения, оптических материалов и детекторов.

Наиболее распространенные приборы отечественного и зарубежного производства работают при длине волны $4000\text{—}670\text{ см}^{-1}$.

Для калибровки шкалы длин волн измеряют спектр пленки полистирола, которая обычно прилагается к прибору.

Факторы, влияющие на воспроизводимость и правильность результатов. Подготовка образца для анализа наиболее важна при определениях в ИК-области спектра. Жидкие вещества можно испытывать непосредственно или в подходящем растворе. Ни один растворитель при достаточной толщине слоя полностью не прозрачен во всей области ИК-спектра. Чаще всего используют четыреххлористый углерод, хлороформ и дихлорметан. При интерпретации спектров необходимо учитывать возможное перекрытие полос поглощения вещества за счет поглощения растворителя.

Для подготовки образцов твердых веществ можно использовать один из следующих методов.

Метод 1. Растирают небольшое количество вещества с минимальным количеством подходящего минерального масла или другой подходящей жидкости до получения однородной пасты; 2—5 мг испытуемого вещества обычно достаточно для приготовления требуемой пасты, которая должна быть полупрозрачной на свет. Сжимают часть пасты между двумя пластинками натрия хлорида или другого материала.

Метод 2. Растирают твердое вещество с сухим мелкоизмельченным галогенидом калия (бромид или хлорид калия для ИК-спектроскопии) в соотношении 1 : 200 для призматических приборов или 1 : 300 для приборов с дифракционной решеткой. Часть смеси помещают в специальную матрицу и в условиях вакуума прессуют. Полученный прозрачный диск помещают в прибор и проводят измерения. Диск считают непригодным, если при визуальном просмо-

тре обнаруживается отсутствие гомогенности или пропускание примерно при 2000 см⁻¹ в отсутствие специфической полосы поглощения составляет менее 75% без компенсации.

Наибольшее отклонение, возникающее из-за различий в разрешающей силе прибора, может отмечаться при длине волн от 4000 до 2000 см⁻¹.

В тех случаях, когда отсутствует стандартный образец или не опубликован атлас спектров, допускается приводить в нормативной документации (НД) рисунок спектра с указанием условий его снятия. Для установления подлинности должно выполняться требование полного совпадения полученного в эксперименте спектра со спектром, приведенным на рис. 1.2.

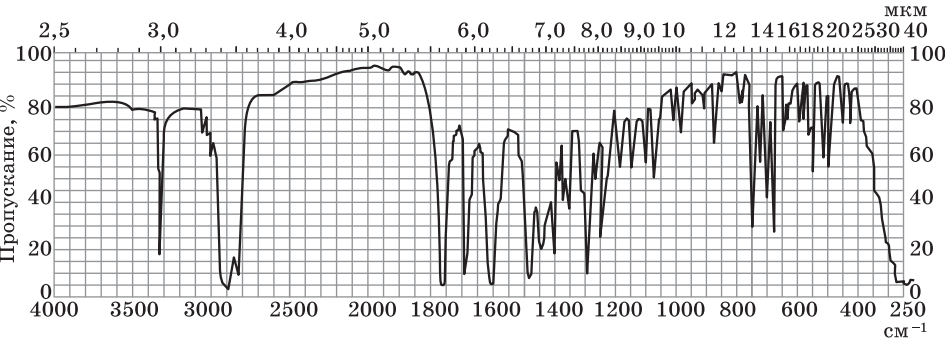


Рис. 1.2. ИК-спектр бензилпенициллина натриевой соли

При проведении практических занятий по идентификации лекарственных веществ методом ИК-спектрофотометрии первое вводное занятие уделяется общим основам ИК-спектрофотометрии и принципам получения и оценки ИК-спектров.

Необходимо подчеркнуть универсальность метода ИК-спектрофотометрии и рассмотреть на нескольких примерах ИК-спектры пленки полистирола, вазелинового масла и одного из растворителей (хлороформа или ацетона).

ИК-спектры могут быть получены на приборе любой конструкции. На ИК-спектрофотометре работают группами (не более 5 человек), после ознакомления с работой и общей схемой прибора и обсуждения материала.

Подтверждение правильности калибровки шкалы длин волн и степени разрешения прибора проводят путем оценки ИК-спектра пленки полистирола. Для этого определяют длины волн в см⁻¹ на спектре полистирола, полученном на приборе, и сопоставляют с теоретическими величинами, приведенными в табл. 1.1.

Таблица 1.1

Проверка шкалы длин волн

Полосы поглощения, см ⁻¹				Степень разрешения прибора как разность в процентах пропускания	
Теор.	3027	2850	1944	2870	1589
	1802	1601	1583	2851	1483
	1154	1028	906		
Найдено					
Разность					

Разность в процентах пропускания между минимумом при 2870 см^{-1} и максимумом при 2851 см^{-1} должна быть более 18, а разность между минимумом при 1589 см^{-1} и максимумом при 1583 см^{-1} должна быть более 12.

Если полоса полистирола при определенной длине волны смещена по сравнению с теоретической величиной, то положение полос образца должно быть исправлено на эту величину смещения.

Для оценки ИК-спектра вазелинового масла, применяемого для приготовления паст лекарственных веществ, получают спектр вазелинового масла в чистом виде и производят отнесение полос поглощения. Вазелиновое масло состоит из насыщенных углеводородов. На спектре отмечают валентные колебания С—Н: 2950 , 2920 и 2850 см^{-1} , а также деформационные колебания С—Н: 1460 , 1375 см^{-1} , слабая полоса при 722 см^{-1} .

Пасты с вазелиновым маслом из-за простоты их приготовления и удобства применения наиболее часто используются в анализе лекарственных веществ, поэтому рекомендуется запомнить частоты длин волн, характерных для данного разбавителя [см. далее оценку ИК-спектров пенициллинов (β -лактамидов)].

Изучение ИК-спектров β -лактамидов. Получают спектр любого из пенициллинов (предпочтительнее натриевых солей бензилпенициллина и оксациллина), используя в качестве пробы пасту с вазелиновым маслом.

Сравнивают полученные спектры с аналогичными (рис. 1.2 и 1.3), отмечают сходство и различие спектров, указывая соответствующие характеристические полосы.

Для удобства оценки полос поглощения рекомендуется весь спектр разделить условно на три области: от 4000 до 3000 см^{-1} , от 1800 до 1500 см^{-1} и от 1500 до 650 см^{-1} .

Общие характеристические полосы поглощения пенициллинов находятся в области 1800 — 1500 см^{-1} , на которую приходится интенсивная полоса поглощения при 1775 — 1755 см^{-1} , соответствующая β -лактамному кольцу, сопряженному с тиазоловым циклом.

Амидная группа пенициллинов обуславливает первую и вторую амидные полосы вторичного нециклического амида соответственно в областях 1690 —

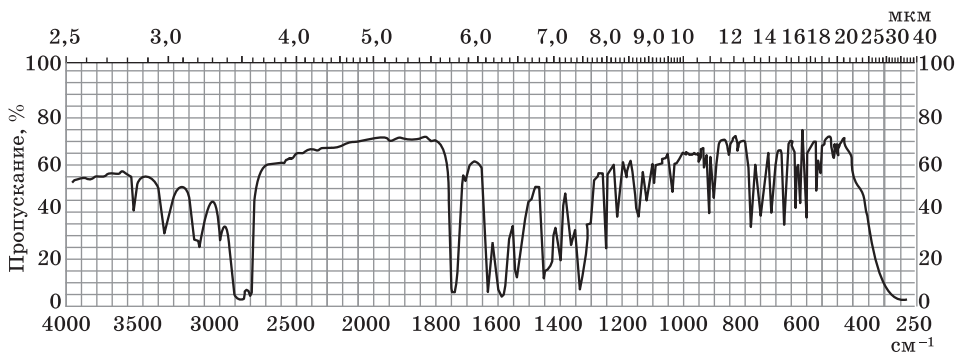


Рис. 1.3. ИК-спектр оксациллина натриевой соли

1645 см^{-1} , вызванные валентными колебаниями $\text{C}=\text{O}$, и 1585—1550 см^{-1} , соответствующие деформационным колебаниям группы NH .

Большинство пенициллинов — соли, поэтому в препаратах этой группы карбоксильные группы ионизированы, что подтверждается наличием полосы при 1615—1600 см^{-1} .

Наличие полос поглощения в области 3500—3200 см^{-1} иногда обусловлено валентными колебаниями свободной гидроксильной группы, на характер которой могут влиять водородные связи, а также колебания вторичных амидов и аминов.

Для ИК-спектров оксациллина натриевой соли кристаллогидрата (см. рис. 1.3) характерны четко выраженные полосы поглощения, соответствующие общим группировкам пенициллинов. Так, интенсивная полоса поглощения при 1760 см^{-1} обусловлена наличием β -лактамной группировки, полоса поглощения при 1645 см^{-1} — наличием амидной группы. Последняя иногда обозначается как полоса амид-1. Полоса интенсивного поглощения при 1600 см^{-1} обусловлена валентными колебаниями ионизированной карбоксильной группы. Для ИК-спектров пенициллинов характерно также при 1600—1500 см^{-1} наличие сильной полосы — около 1550 см^{-1} , соответствующей вторичной амидной группировке (полоса амид-2).

Кроме того, в области 4000—3000 см^{-1} имеется интенсивная полоса при 3410 см^{-1} , соответствующая валентным колебаниям группы NH вторичного амида. Наличие второй амидной группировки в оксациллине проявляется в виде дублета полос при 3210 и 3180 см^{-1} , которое относят к *транс*- и *цис*-изомерам. Полоса валентных колебаний группы NH около 3060 см^{-1} очень слабо выражена. Эту полосу можно рассматривать как соответствующую оборотную полосы амид-2. Полоса валентных колебаний группы OH кристаллогидрата проявляется в виде интенсивного поглощения при 3610 см^{-1} .

ИК-спектр натриевой соли оксациллина для инъекций, получаемой лиофильной сушкой, отличается от спектра кристаллогидрата. Широкая полоса поглощения при 3380—3400 см^{-1} с максимумом 3400 см^{-1} указывает на наличие оксациллина, частично потерявшего при сушке воду. При дальнейшей

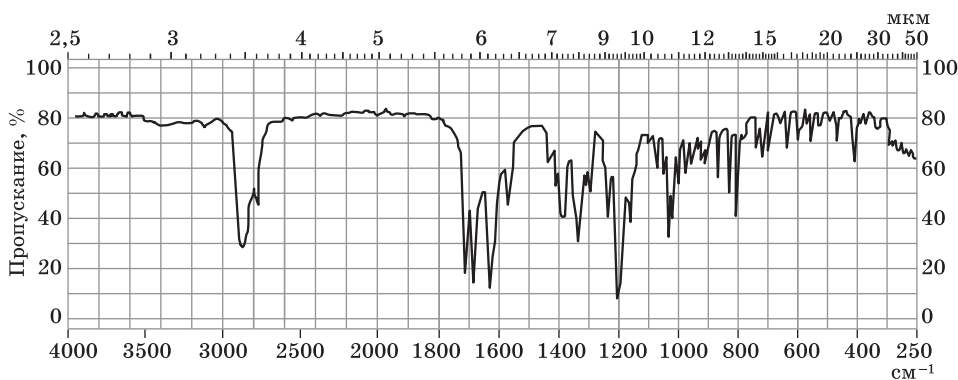


Рис. 1.4. ИК-спектр дезоксикортикостерона ацетата

перекристаллизации вещества получают спектр, присущий кристаллогидрату. Для выяснения более подробных корреляций между ИК-спектром и структурой β -лактамидов рекомендуется сопоставить ИК-спектры других пенициллинов и характерных для них кислот.

В связи с тем, что большинство кортикостероидов применяется в медицине в виде сложных эфиров, чаще всего ацетатов, рассмотрим наиболее типичный для этой группы ИК-спектр дезоксикортикостерона ацетата (ДОКА), для которого пока не описаны полиморфные формы (рис. 1.4).

1.4. Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях спектра

Абсорбционная УФ-спектрофотометрия основывается на измерении количества поглощенного веществом электромагнитного излучения в определенной узковолновой области. Обычно для УФ-измерений используют приближенно монохроматическое излучение в области от 190 до 380 нм.

Спектрофотометрия в видимой области — измерение количества поглощенного монохроматического излучения в области 380—780 нм.

Терминология, используемая при описании спектрофотометрических испытаний, в настоящее время еще не унифицирована. Поэтому, действуя согласно ГФ XIII, указываем также на некоторые особенности терминологии, принятые в III издании Международной Фармакопеи (МФ IV).

Согласно МФ IV, *поглощение* — десятичный логарифм обратной величины пропускания (T). В ГФ XIII используются термины «оптическая плотность» (A), а также «экстинкция» (E).

Пропускание (T) — частное от деления интенсивности света, прошедшего через вещество, на интенсивность света, падающего на вещество.

Поглощаемость (a) — частное от деления поглощения (A) на концентрацию вещества (C), выраженную в граммах на литр, и длину слоя поглощения в сантиметрах (b)

$$a = A / b \cdot C$$

В ГФ XIII и других фармакопеях чаще применяется термин «удельный показатель экстинкции» $A_{1\text{ см}}^{1\%}$, когда концентрацию (C) выражают в граммах на 100 мл; таким образом,

$$A_{1\text{ см}}^{1\%} = 10 a$$

Молярная поглощаемость (ϵ) — частное от деления поглощения (A) на концентрацию вещества (C), выраженную в молях на литр, и длину слоя поглощения в сантиметрах (b). Следовательно,

$$\epsilon = a \cdot \text{мол. л.}^{-1} \cdot \text{см.}^{-1}, \quad \text{или} \quad \epsilon = \frac{A_{1\text{ см}}^{1\%} \cdot \text{мол. л.}^{-1}}{10}$$

Спектр поглощения — графическое выражение отношения поглощения (или любой функции) к длине волны (или любой функции длины волны).

Приборы. Для обеспечения единства измерений рекомендуется при эксплуатации прибора точно придерживаться установленных рабочих условий. Особенно важно обеспечить метрологическое обслуживание приборов в отношении их калибровки как по шкале длин волн, так и по фотометрической шкале. Это обслуживание, как правило, проводят соответствующие государственные метрологические организации.

Факторы, влияющие на воспроизводимость и правильность результатов. Для получения достоверных данных необходимо строго следовать инструкции по уходу за прибором и его эксплуатации, обращать внимание на такие факторы, как точность толщины кювет и их спектральная пропускаемость. **Кюветы**, применяемые для испытуемого и контрольного растворов, должны быть одинаковыми и иметь одну и ту же спектральную пропускаемость, если они содержат только один растворитель. В ином случае необходимо внести соответствующую поправку.

Особое внимание следует обращать на чистоту кювет. Нельзя касаться пальцами наружных поверхностей кюветы, на них не должна попадать жидкость (растворитель или испытуемый раствор). Следует также учитывать возможные ограничения, связанные с использованием **растворителей** (см. табл. 1.5 Учебника).

Приемы, связанные с **испытаниями на подлинность** лекарственных веществ методом УФ-спектрофотометрии, сводятся к следующему. Сравнение спектров испытуемого раствора стандартного образца: должно наблюдаться совпадение положений максимумов, минимумов, плеч и точек перегиба. Расхождение между наблюдаемыми и указанными длинами волн не должно превышать 2 нм. Указание длин волн при максимумах поглощения является лишь ориентировочной характеристикой, так как не позволяет судить об общем виде спектра.

Спектральные характеристики некоторых лекарственных веществ, используемые для идентификации, представлены в табл. 1.2.

Таблица 1.2

Спектральные характеристики некоторых лекарственных веществ

Лекарственное вещество	Растворитель	Концентрация, %	λ_{max} , нм
Никотиновая кислота	0,1 М раствор хлороводородной кислоты	0,001 0,002	261 ± 2 278 ± 2
Цианокобаламин	Вода		361 ± 2 550 ± 2
Изониазид	0,1 М раствор хлороводородной кислоты	0,002	266 ± 2
α -Токоферола ацетат	95% спирт	0,01	285 ± 2
Нитроксалин	95% спирт	0,001	242 ± 2 356 ± 2 455 ± 2
Сульфapiридазин	0,1 М раствор натрия гидроксида	0,001	255 ± 2
Цефалексин ¹	Вода	0,002	260 ± 1
Метандростенолон	95% спирт	0,001	245 ± 2

¹ Спектр поглощения цефалексина представлен на рис. 1.5.

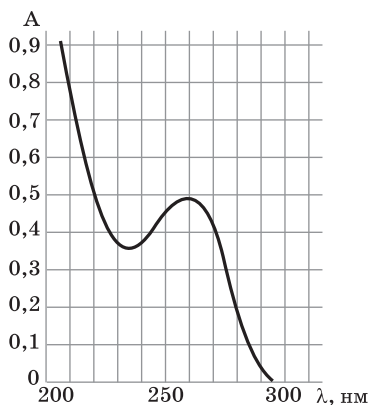


Рис. 1.5. Спектр поглощения 0,002% раствора цефалексина

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

Спектр поглощения раствора пиридоксина гидрохлорида в фосфатном буферном растворе (рН 6,9) с концентрацией 0,5 мг/мл в области от 230 до 350 нм имеет максимумы при 254 и 324 нм; поглощение в кювете с толщиной слоя 1 см при этих максимумах — соответственно 0,18 и 0,35 (МФ III).

Удобным приемом при испытаниях на подлинность является определение отношения величин поглощения при двух максимумах. Такая методика, как указывается в МФ III, «уменьшает влияние переменных характеристик прибора на испытание и исключает необходимость использования стандартного образца».

Например, для натрия *para*-аминосалицилата отношение оптических плотностей 0,001% раствора при длинах волн 265 и 299 нм должно быть в пределах 1,50—1,56 при измерении в кювете с толщиной слоя 1 см.

Некоторые испытания на подлинность с использованием УФ-спектрофотометрии требуют применения стандартных образцов лекарственных веществ. В этом случае проба стандартного образца должна быть изготовлена и одновременно определена в тех же условиях, что и испытуемое вещество.

УФ-спектр 0,0005% раствора этинилэстрадиола в 95% спирте имеет максимумы и минимумы при тех же длинах волн, что и раствор стандартного образца одинаковой концентрации и одновременно измеренный; соответствующие величины поглощения, рассчитанные на сухое вещество, при максимуме поглощения около 281 нм не отличаются более чем на 3%. Этот прием обеспечивает наиболее достоверные результаты, однако связан с обязательным применением стандартного образца.

Иногда величину поглощения при определенной длине волны указывают в виде удельного показателя $A_{1\text{ см}}^{1\%}$. Удельный показатель поглощения левомецетина $A_{1\text{ см}}^{1\%}$ при длине волны 278 нм составляет 290—305.

В ряде случаев (производные барбитуровой кислоты, сульфаниламиды, фенолы и др.) характер спектра может изменяться в зависимости от значения рН

раствора, поэтому в частной фармакопейной статье указывается значение pH, при котором проводится изменение.

Испытания 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, как правило, 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.

Предел содержания поглощающих примесей может быть установлен по величинам отношений поглощения при различных максимумах (ФС «Цианокобаламин», «Ретинола ацетат», «Токоферола ацетат»).

Количественное определение. Спектрофотометрия в УФ-области широко используется для количественного определения лекарственных средств и включена во все современные фармакопеи. Чувствительность метода определяется в основном способностью вещества к поглощению и выражается, как было указано выше, молярным коэффициентом поглощения. Предельные концентрации веществ, анализируемые при помощи спектрофотометрии, как правило, меньше, чем в титриметрических или гравиметрических методах. Этим объясняется использование спектрофотометрии при определении небольших количеств веществ, особенно в различных лекарственных формах.

Основное условие для количественного анализа — соблюдение закона Бугера—Ламберта—Бера в пределах соответствующих концентраций. Для проверки соответствия закону строят график зависимости (поглощения от концентрации) или рассчитывают фактор для каждого стандартного раствора и определяют область концентраций, в пределах которой величина A/C остается постоянной.

Существуют и применяются два принципиально различных способа спектрофотометрических количественных определений. По одному из них содержание вещества в процентах (x) рассчитывают *на основании предварительно вычисленной величины поглощения*, чаще по величине удельного показателя поглощения ($A_{1\text{ см}}^{1\%}$):

$$x = \frac{A \cdot b}{A_{1\text{ см}}^{1\%} \cdot a} \quad (1)$$

где A — оптическая плотность;
 b — разведение;
 a — масса навески, г.

Примером может служить определение содержания кортизона ацетата в таблетках.

Основным недостатком приведенного определения является общеизвестный факт: различные спектрофотометры (даже различные приборы одной и той же модели и одного производства) дают значительные отклонения по величине поглощения для одного и того же стандартного раствора.

Более достоверные и воспроизводимые результаты обеспечивают **сравнение поглощения испытуемого вещества с поглощением стандартного образца**, определенного в тех же условиях. При этом учитываются многочисленные факторы, влияющие на спектрофотометрические измерения, например установка длины волны, ширина щели, поглощение кюветы, поправки на поглощение растворителя и др.

Спектрофотометрическое количественное определение содержания лекарственного вещества при анализе индивидуальных веществ должно быть связано с применением специально приготовленного стандартного образца этого вещества.

Стандартные образцы — это вещества, с которыми проводят сравнение испытуемых лекарственных средств при их анализе с использованием физико-химических методов. Эти образцы подразделяются на государственные стандартные образцы (ГСО) и рабочие стандартные образцы (РСО).

Выпуск ГСО осуществляют в соответствии с фармакопейной статьей. Фармакопейная статья на ГСО разрабатывается и пересматривается предприятиями (организациями), выпускающими или разрабатывающими лекарственные средства, согласовывается и утверждается в установленном порядке.

В качестве РСО используют образцы серийных лекарственных веществ, соответствующих требованиям фармакопейной статьи. При расчете количественного содержания определяемого вещества в лекарственной форме учитывают фактическое содержание данного вещества в РСО.

Расчет количественного содержания индивидуального вещества в процентах (x) при использовании стандартного образца проводится по формуле:

$$x = \frac{A_1 \cdot C_0 \cdot b \cdot 100}{A_0 \cdot a} \quad (2)$$

где A_1 — оптическая плотность испытуемого раствора;
 A_0 — оптическая плотность раствора стандартного образца;
 C_0 — концентрация раствора стандартного образца, г/мл;
 b — разведение;
 a — масса навески, г.

Содержание вещества в одной таблетке в граммах (x), считая на среднюю массу таблетки, рассчитывают по формуле (3) — при использовании стандартного образца или по формуле (4) — при использовании значения удельного показателя поглощения:

$$x = \frac{A_1 \cdot C_0 \cdot b \cdot q}{A_0 \cdot a} \quad (3)$$

где q — средняя масса таблетки, г.

$$x = \frac{A \cdot b \cdot q}{A_{1\text{см}}^{\%} \cdot a \cdot 100} \quad (4)$$

Остальные обозначения см. в формуле (1).

Если количественные измерения выполняются достаточно часто, то можно вместо стандартного образца использовать подходящий *калибровочный график*,

полученный для соответствующего стандартного образца. Таким графиком можно пользоваться, когда для испытуемого вещества поглощение пропорционально концентрации в пределах 75—125% от окончательной концентрации, используемой в количественном определении. Такие калибровочные графики надо часто проверять и каждый раз готовить заново для нового прибора и новой серии реактивов.

Ниже приводятся методики количественного определения некоторых лекарственных средств спектрофотометрическим методом.

1.4.1. Спектрофотометрия в ультрафиолетовой области спектра

1.4.1.1. Определение стероидных гормонов и синтетических аналогов

В качестве растворителей для стероидных гормонов чаще применяют этиловый (95% или абсолютный) или метиловый спирт. Для эстрогенов, в состав молекулы которых входит фенольный гидроксил, кроме 95% спирта, можно применять раствор натрия гидроксида.

Спектры поглощения стероидных гормонов, содержащих в своем составе кетогруппу при C_3 , находящуюся в сопряжении с двойной связью C_4 и C_5 (кортикостероиды, андрогены, гестагены), имеют максимумы поглощения в интервале от 238 до 242 нм.

Расчет количественного содержания (в процентах) в субстанциях проводится по формуле (1) или (2), в таблетках — по формуле (3) или (4).

Определение преднизолона в таблетках по 0,001 г и 0,005 г

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 полученный раствор 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% спиртом до метки, перемешивают и измеряют оптическую плотность полученного раствора при длине волны 242 нм в кювете с толщиной слоя 1 см, применяя в качестве раствора сравнения 95% спирт.

Повторяют такое же измерение с 0,001 г раствором РСО преднизолона.

Содержание преднизолона должно быть 0,0009—0,0011 или 0,0045—0,0055 г на среднюю массу одной таблетки.

Определение преднизолона и преднизолоната ацетата в мази

К точной навеске мази, содержащей около 0,0025 г преднизолоната (или преднизолоната ацетата), приливают 10 мл горячего 95% спирта; перемешивают и фильтруют в мерную колбу вместимостью 50 мл. Экстракцию повторяют тремя порциями по 10 мл горячего спирта. После охлаждения до комнатной температуры фильтрат доводят до метки 95% спиртом и перемешивают. Полученный раствор объемом 10 мл вносят пипеткой в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят до метки 95% спиртом, перемешивают и измеряют оптическую плот-

ность в кювете с толщиной слоя 1 см при длине волны 242 нм, применяя в качестве раствора сравнения 95% спирт.

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

Определение метилтестостерона в таблетках по 0,005 г

В качестве растворителя применяют 95% спирт ($\lambda_{\max} = 241$ нм, удельный показатель поглощения 540, подчинение основному закону светопоглощения наблюдается при концентрации метилтестостерона от 2,5 до 20 мкг/мл). Спектр поглощения раствора метилтестостерона при концентрации 10 мкг/мл в 95% спирте представлен на рис. 1.6, калибровочный график — рис. 1.7.

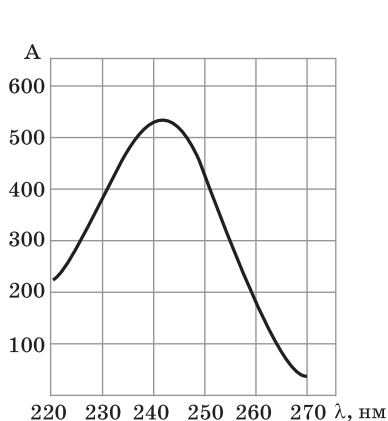


Рис. 1.6. Спектр поглощения метилтестостерона в 95% спирте

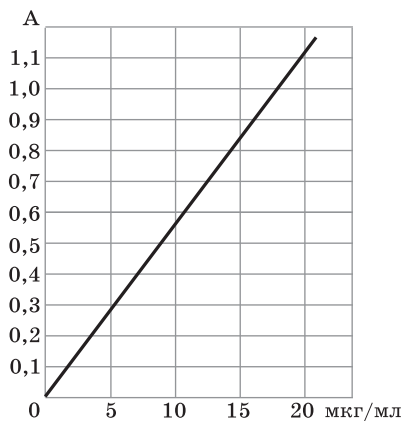


Рис. 1.7. Калибровочный график для метилтестостерона

Методика. Точную навеску около 0,05 г растертых в порошок таблеток помещают в мерную колбу с притертой пробкой вместимостью 50 мл; доводят объем раствора до метки 95% спиртом 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% спиртом и измеряют оптическую плотность полученного раствора при длине волны 241 нм в кювете с толщиной слоя 1 см; раствор сравнения — 95% спирт.

Можно проводить определение раствором РСО метилтестостерона. В этом случае измеряют оптическую плотность 0,001% раствора РСО в 95% спирте и испытуемого раствора, как указано выше. Содержание метилтестостерона должно быть 0,0045—0,0055 г, считая на среднюю массу одной таблетки.

Определение диэтилстильбэстрола и синэстрола в таблетках по 0,001 г

Для извлечения диэтилстильбэстрола и синэстрола из таблеток используют 0,1 М раствор натрия гидроксида. Светопоглощение раствора диэтилстильбэстрола в 0,1 М растворе натрия гидроксида подчиняется основному закону светопоглощения при концентрации от 2 до 10 мкг/мл при максимальном

светопоглощении 260 нм, удельный показатель поглощения равен 800; светопоглощение растворов синэстрола подчиняется основному закону светопоглощения при концентрации синэстрола от 1 до 8 мкг/мл при максимальном светопоглощении 241 нм, удельный показатель поглощения равен 1000.

Методика. Точную навеску растертых в порошок таблеток, содержащую около 0,0005 г синэстрола (диэтилстильбэстрола), помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл; доводят до метки 0,1 М раствором натрия гидроксида и встряхивают в течение 5 мин. Фильтруют в сухую колбу через сухой беззольный фильтр, отбрасывая первые 10—15 мл фильтрата. Определяют на спектрофотометре оптическую плотность фильтрата в кювете с толщиной слоя 1 см при длине волны 260 нм (диэтилстильбэстрол) или 241 нм (синэстрол). Раствор сравнения — 0,1 М раствор натрия гидроксида. Растворами РСО служат 0,0005% растворы синэстрола и диэтилстильбэстрола (отвечающие требованиям ФС) в 0,1 М растворе натрия гидроксида. Содержание диэтилстильбэстрола и синэстрола должно быть 0,0009—0,0011 г, считая на среднюю массу одной таблетки.

1.4.1.2. Определение производных бензодиазепина

Определение феназепама в таблетках по 0,0005 г и 0,001 г

Спектр поглощения феназепама в 95% спирте имеет две выраженные полосы поглощения с максимумами при длинах волн 231 и 320 нм, при которых можно проводить количественное определение. Чувствительность методики выше при использовании длины волны 231 нм (удельный показатель поглощения ~1000), чем при 320 нм (удельный показатель поглощения ~60).

Методика. Точную навеску растертых в порошок таблеток, содержащую 0,0025 г феназепама, помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл; добавляют 30 мл 95% спирта, перемешивают, доводят тем же спиртом до метки и встряхивают в течение 10 мин; фильтруют через беззольный фильтр, отбрасывая первые 10—15 мл фильтрата; 2,5 мл полученного раствора вносят в мерную колбу вместимостью 25 мл; доводят 95% спиртом до метки, перемешивают и измеряют оптическую плотность полученного раствора на спектрофотометре при длине волны 231 нм в кювете с толщиной слоя 1 см, применяя в качестве раствора сравнения 95% спирт. Параллельно измеряют оптическую плотность раствора РСО феназепама.

Содержание феназепама в одной таблетке должно быть соответственно 0,00045—0,00055 г или 0,0009—0,0011 г, считая на среднюю массу таблетки.

Приготовление раствора рабочего стандартного образца феназепама. Точную навеску 0,0500 г феназепама растворяют в 95% спирте в мерной колбе вместимостью 50 мл и перемешивают; доводят объем раствора тем же спиртом до метки; 2,5 мл полученного раствора вносят в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят до метки 95% спиртом и перемешивают (раствор А). Раствор А объемом 2,5 мл вносят в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят до метки 95% спиртом и перемешивают. 1 мл раствора РСО содержит 0,000005 г феназепама.

1.4.1.3. Определение фенолов

Определение резорцина в растворе резорцина спиртового 1% и 2%

Раствор готовят на 70% спирте, в качестве антиоксиданта добавляют натрия метабисульфит (1 г на 1 л раствора).

Методика. Раствор лекарственного средства объемом 10 мл 1% или 5 мл 2% помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводят объем раствора водой до метки (раствор А). Раствор А объемом 2 мл переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводят объем раствора водой до метки (раствор Б); определяют оптическую плотность раствора Б на спектрофотометре при длине волны 275 нм в кювете с толщиной слоя 1 см; раствор для сравнения — вода. Одновременно определяют оптическую плотность раствора РСО резорцина. Содержание резорцина в лекарственном средстве должно быть соответственно от 0,95 до 1,05% или от 1,90 до 2,10%.

Приготовление раствора рабочего стандартного образца резорцина. Навеску 0,02 г натрия метабисульфита помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл; растворяют в 1 мл воды, прибавляют 0,2000 г (точная навеска) резорцина, соответствующего требованиям НД; растворяют в 70% спирте и доводят объем раствора до метки 70% спиртом (раствор А). Раствор А объемом 1 мл помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводят объем раствора водой до метки (раствор Б). Раствор Б объемом 1 мл содержит 0,00002 г резорцина. Срок годности раствора А — 2 мес.; раствор Б должен быть свежеприготовленным.

1.4.2. Спектрофотометрия в видимой области спектра

Метод применяется для количественного анализа лекарственных средств, которые либо сами окрашены, либо образуют окрашенные продукты реакции при взаимодействии с соответствующими реактивами.

Например, для количественного определения лекарственных средств, содержащих фенольный гидроксил, применяется реакция образования азокрасителя, для определения Δ^4 -3-кетостероидов — реакция с гидразидом изоникотиновой кислоты; на гидроксамовой реакции основано количественное определение сложных эфиров, лактонов, лактамов и т. д.

Количественное определение в видимой области спектра не имеет принципиальных отличий от подобных измерений в УФ-области.

Предварительные превращения анализируемых веществ (например, диазотирование и последующее получение азокрасителя) позволяют обычно повысить чувствительность обнаружения вещества.

1.4.2.1. Определение стероидных гормонов

Определение преднизолона в мази¹

На восстановительных свойствах кортикостероидов основаны реакции с солями тетразолия, в частности с хлоридом 2,3,5-трифенилтетразолия. После восстановления λ -кетольными стероидами щелочной раствор 2,3,5-трифенилтетразолия образует окрашенный раствор красного формазана, светопоглощение которого

¹ Эта и последующие методики могут быть использованы и для фотоколориметрического определения препаратов.

подчиняется закону Бугера—Ламберта—Бера при концентрации от 1 до 25 мкг/мл. Для стабилизации неустойчивого формазана рекомендуется добавлять уксусную кислоту ледяную. Этим методом определяют кортизона ацетат, преднизон, преднизолон и другие кортикостероиды. Спектры поглощения растворов формазана, полученных из кортизона ацетата, преднизона, преднизолон, имеют одну полосу поглощения с максимумом поглощения при длине волны 485 нм (рис. 1.8).

Реактивы и растворители. 95% спирт; 0,5% спиртовой раствор хлорида 2,3,5-трифенилтетразолия (0,5 г хлорида 2,3,5-трифенилтетразолия растворяют в 100 мл 95% спирта, раствор хранят в склянке оранжевого стекла в темном месте и готовят только на 1 день); 0,5 М спиртовой раствор калия гидроксида; уксусная кислота ледяная.

Методика. К точной навеске мази, содержащей около 0,005 г преднизолон, прибавляют 20 мл горячего 95% спирта; встряхивают и фильтруют в мерную колбу вместимостью 100 мл. Экстракцию повторяют тремя порциями по 10 мл горячего 95% спирта. После охлаждения до комнатной температуры фильтрат доводят до метки 95% спиртом и перемешивают. К 4 мл полученного раствора прибавляют 1,8 мл 95% спирта, 1 мл раствора хлорида 2,3,5-трифенилтетразолия, 0,2 мл 0,5 М спиртового раствора калия гидроксида и оставляют в темном месте. Через 15 мин прибавляют 3 мл уксусной кислоты ледяной и измеряют оптическую плотность раствора на спектрофотометре при длине волны 485 нм в кювете с толщиной слоя 1 см, применяя раствор сравнения, состоящий из 5,8 мл 95% спирта, 1 мл раствора хлорида, 2,3,5-трифенилтетразолия, 0,2 мл 0,5 М спиртового раствора калия гидроксида и 3 мл уксусной кислоты ледяной. Повторяют такое же измерение с 2 мл 0,01% спиртового раствора РСО преднизолон (добавляют 3,8 мл 95% спирта).

В случае фотоколориметрического определения оптическую плотность измеряют на фотоэлектроколориметре при длине волны 405 нм в кювете с толщиной слоя 1 см. Расчет проводят с помощью раствора стандартного образца лекарственного средства или калибровочного графика (рис. 1.9).

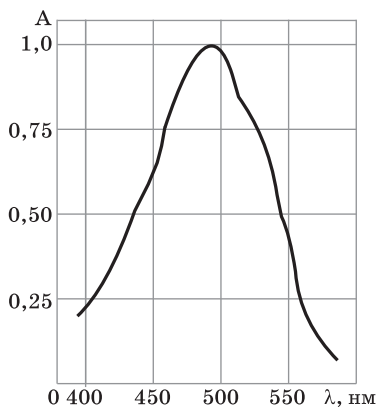


Рис. 1.8. Спектр поглощения раствора формазана, полученного из кортизона ацетата

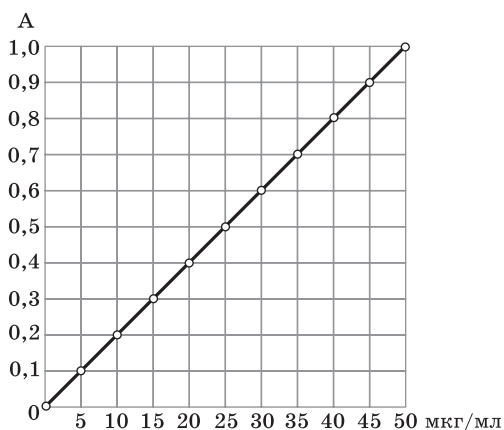


Рис. 1.9. Калибровочный график для преднизолон

Определение метилтестостерона и прегнина в таблетках по 0,005 г и 0,01 г соответственно

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

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

Реактивы и растворители. 95% спирт; 0,1% раствор гидразида кислоты изоникотиновой в 95% спирте (0,2 г гидразида изоникотиновой кислоты растворяют в 100 мл 95% спирта, добавляют 0,25 мл концентрированной хлороводородной кислоты, перемешивают и доводят объем раствора 95% спиртом до 200 мл).

Построение калибровочного графика. См. рис. 1.10. Точную навеску 0,025 г вещества РСО помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл и растворяют в 25—30 мл 95% спирта (прегнин при нагревании на водяной бане). После охлаждения доводят объем 95% спиртом до метки и перемешивают (раствор А). Раствор А объемом 10 мл вносят в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят тем же спиртом до метки и перемешивают (раствор Б). В ряд конических колб с притертыми пробками вносят соответственно 1; 1,5; 2,5; 3; 3,5; 4; 4,5 и 5 мл раствора Б, доводят объем раствора в каждой колбе 95% спиртом до 5 мл и добавляют по 5 мл раствора реактива. Через 1 ч изменяют оптическую плотность окрашенного в желтый цвет раствора на спектрофотометре при длине волны 370 нм в кювете с толщиной слоя 1 см или на фотоэлектроколориметре (при соответствующем светофильтре № 1). В качестве нулевого раствора применяют смесь, состоящую из 5 мл 95% спирта и 5 мл реактива.

Методика. Точную навеску растертых в порошок таблеток, содержащую около 0,005 г лекарственного вещества, помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл и встряхивают с 30—35 мл 95% спирта (прегнин при легком нагревании на водяной бане) в течение 5—6 мин, доводят объем 95% спиртом до метки (прегнин после охлаждения до комнатной температуры), переме-

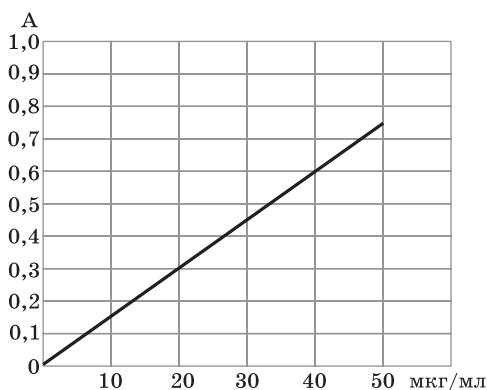


Рис. 1.10. Калибровочный график для метилтестостерона и прегнина

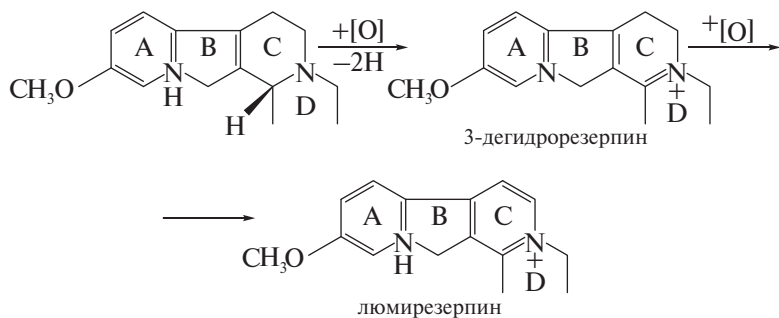
шивают и фильтруют в сухую колбу, отбрасывая первые 10—15 мл фильтрата. К 3 мл фильтрата добавляют 2 мл 95% спирта и 5 мл 0,1% раствора гидразида изоникотиновой кислоты. Через 1 ч определяют оптическую плотность раствора, как указано выше. В качестве стандартного раствора берут 3 мл 0,01% раствора метилтестостерона или прегнина, отвечающих требованиям ГФ, и обрабатывают, как указано выше. Удельный показатель поглощения рассчитывают по данным, полученным для построения калибровочного графика. При фотоколориметрическом определении для расчета используют калибровочный график или проводят измерение оптической плотности раствора, полученного из РСО.

Содержание прегнина и метилтестостерона в расчете на среднюю массу таблетки должно быть 0,009—0,011 г и 0,0045—0,0055 г соответственно.

1.4.2.2. Определение производных индола

Определение резерпина

Определение резерпина основано на образовании окрашенного в желтый цвет с зеленой флуоресценцией продуктов окисления резерпина (3-дегидрорезерпина и люмизерпина) при взаимодействии спиртового раствора лекарственного вещества с натрия нитритом и серной кислоты при кипячении.



Во время количественного определения растворы следует защищать от действия воздуха и света.

Методика. Точную навеску около 25 мг лекарственного вещества смачивают 2 мл 75% этанола; прибавляют 2 мл раствора серной кислоты (0,5 моль/л) и 10 мл 75% этанола и слегка нагревают для получения раствора. Охлаждают, разводят до 100,0 мл 75% этанолом и разводят 5,0 мл этого раствора до 50,0 мл тем же растворителем. Переносят 10,0 мл полученного раствора в пробирку для кипячения, прибавляют 2,0 мл серной кислоты (0,25 моль/л) и 2,0 мл свежеприготовленного 0,3% раствора натрия нитрита, перемешивают и нагревают на водяной бане при 55 °С в течение 30 мин. Охлаждают, прибавляют 1 мл свежеприготовленного 5% раствора сульфаминовой кислоты и разводят до 25,0 мл 75% этанолом. Измеряют оптическую плотность полученного раствора в кювете с толщиной слоя 1 см при максимуме 390 нм против контрольной кюветы, содержащий раствор сравнения, приготовленный аналогичной обработкой 10,0 мл того же раствора, но без добавления натрия нитрита. Рассчитывают со-

держание резерпина в испытуемом веществе путем сравнения со стандартным образцом резерпина, который исследуют одновременно аналогичным образом. Оптическая плотность раствора стандартного образца в правильно откалиброванном спектрофотометре должно составлять $0,24 \pm 0,01$ (для измерения предпочтительно использовать кювету с толщиной слоя 2 см и сделать пересчет на оптическую плотность в кювете с толщиной слоя 1 см).

Содержание резерпина в пересчете на сухое вещество должно быть не менее 98,5% и не более 101,0% (МФ III).

1.5. Фотоэлектроколориметрия

Фотоколориметрический метод, как и спектрофотометрический, в видимой области спектра, основан на измерении оптической плотности окрашенного раствора (самого вещества или продукта реакции с реактивом).

В отличие от спектрофотометрии в фотоколориметрии проводят измерение поглощения видимого света без предварительного выделения монохроматического излучения. Приборы снабжены светофильтрами, которые выделяют определенные спектральные полосы. Поэтому при расчете количественного содержания лекарственного вещества в лекарственных формах применяют или РСО (используя величину оптической плотности либо удельного показателя поглощения раствора, приготовленного из РСО), или калибровочный график.

Фотоколориметрические методы отличаются простотой выполнения, небольшой затратой исследуемого вещества и реактивов, возможностью проведения объективных измерений, что повышает точность анализа. Точность фотоколориметрического метода колеблется в пределах 3—5%.

К недостаткам фотоколориметрического метода относится необходимость работы с широкими спектральными полосами.

Приведенные методики фотоколориметрического определения основаны на цветных реакциях лекарственных веществ.

Реакция образования азокрасителя лежит в основе определения диэтилстильбэстрола, рутина, левомицетина. На гидроксамовой реакции основано количественное определение новокаина гидрохлорида и пилокарпина гидрохлорида в лекарственных формах. Ментол определяется по цветной реакции с *пара*-диметиламинобензальдегидом. Расчет количественного содержания проводят по калибровочному графику или по формулам с использованием раствора стандартного образца.

Определение новокаина гидрохлорида

В основе определения лежит гидроксамовая реакция на сложноэфирную группу (см. разд. 6.1.6.2).

Реактивы: свежеприготовленный щелочной раствор гидроксилamina (смешивают 1 объем 13,9% раствора гидроксилamina гидрохлорида и 2 объема 12% раствора натрия гидроксида); 14% раствор хлороводородной кислоты; 10% раствор железа (III) хлорида в 0,1 М растворе хлороводородной кислоты.

Приготовление раствора рабочего стандартного образца новокаина гидрохлорида. В 1 мл раствора содержится 1 мг новокаина гидрохлорида. В пробирку вносят 1 мл раствора новокаина (от 0,5 до 0,9 мг лекарственного вещества

в пробе), прибавляют 0,4 мл щелочного раствора гидроксиламина. Жидкость взбалтывают и оставляют на 10—15 мин. Затем прибавляют 0,3 мл раствора хлороводородной кислоты, 0,5 мл раствора железа (III) хлорида и 13,8 мл воды. Оптическую плотность окрашенного в красный цвет раствора измеряют на фотоколориметре при зеленом светофильтре в кювете с толщиной слоя 2 см. Раствор сравнения: 0,4 мл щелочного раствора гидроксиламина гидрохлорида, 0,3 мл раствора хлороводородной кислоты, 0,5 мл раствора железа (III) хлорида и 14,8 мл воды.

Построение калибровочного графика. В пробирки вносят соответственно 0,5; 0,6; 0,7; 0,8 и 0,9 мл раствора РСО новокаина гидрохлорида. Во все пробирки прибавляют воду до 1 мл, а затем по 0,4 мл щелочного раствора гидроксиламина.

Определение левомицетина

Определение левомицетина основано на образовании азокрасителя после восстановления нитрогруппы до первичной ароматической аминогруппы.

Методика. Точную навеску около 0,1 г левомицетина растворяют в 50 мл воды в мерной колбе вместимостью 100 мл при нагревании на водяной бане. После охлаждения объем доводят водой до метки (раствор А). Раствор А объемом 10 мл помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводят объем раствора до метки водой (раствор Б). К 5 мл раствора Б прибавляют 1 мл хлороводородной кислоты концентрированной и постепенно 0,1 г цинковой пыли и оставляют на 15 мин. Затем жидкость количественно переносят в мерную колбу вместимостью 25 мл, объем доводят водой до метки, перемешивают и фильтруют. К 1,5 мл фильтрата прибавляют 1 мл 0,1% раствора натрия нитрита и через 3 мин объем доводят водой до 8 мл. Затем добавляют 2 мл 1% свежеприготовленного щелочного раствора β-нафтола и перемешивают. Через 10 мин измеряют оптическую плотность раствора на фотоколориметре при длине волны около 464 нм в кювете с толщиной слоя 5 мм. В качестве раствора сравнения используют смесь из 1 мл 0,1% раствора натрия нитрита, 7 мл воды и 2 мл 1% свежеприготовленного раствора β-нафтола.

Параллельно проводят реакцию с 1,5 мл 0,002% раствора стандартного образца левомицетина, приготовленного как фильтрат испытуемого раствора (из точной навески 0,1 г левомицетина).

Определение фурацилина

Методика. Точную навеску около 0,06 г лекарственного вещества растворяют в 20 мл диметилформамида при встряхивании в мерной колбе вместимостью 500 мл; доводят объем колбы водой до метки и перемешивают (раствор А). Раствор А объемом 5 мл переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл; доводят до метки водой; перемешивают и определяют оптическую плотность полученного раствора на спектрофотометре при длине волны 375 нм в кювете с толщиной слоя 1 см (или на фотоэлектроколориметре при λ_{max} 375 нм); раствор сравнения — вода. Удельный показатель поглощения равен 822. Параллельно измеряют оптическую плотность раствора стандартного образца фурацилина, приготовленного, как указано выше, из точной навески 0,0600 г стандартного образца фурацилина. При фотоэлектроколориметрическом определении можно пользоваться калибровочным графиком.

Построение калибровочного графика. ГСО массой 0,0600 г фурацилина растворяют в 20 мл диметилформамида в мерной колбе вместимостью 500 мл, доводят объем водой до метки и перемешивают (раствор А). В мерные колбы вместимостью 100 мл вносят соответственно 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 и 8 мл раствора А стандартного образца фурацилина, доводят объем раствора в каждой колбе водой до метки, перемешивают и определяют оптическую плотность, как указано выше.

Определение рибофлавина

Определение рибофлавина основано на собственной окраске лекарственного вещества.

Методика. Точную навеску около 0,01 г рибофлавина растворяют при нагревании на водяной бане в 90—100 мл воды в мерной колбе вместимостью 250 мл. После охлаждения доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. К 2,5 мл полученного раствора добавляют 7,5 мл воды, перемешивают и измеряют оптическую плотность полученного раствора на фотоэлектроколориметре при λ_{max} 445 нм в кювете с толщиной слоя 1 см. Раствор сравнения — вода. Параллельно измеряют оптическую плотность раствора, содержащего 2,5 мл 0,004% стандартного раствора рибофлавина и 7,5 мл воды.

Приготовление рабочего стандартного образца рибофлавина. Точную навеску 0,0100 г стандартного образца рибофлавина растворяют в 90—100 мл воды в мерной колбе вместимостью 250 мл при нагревании на водяной бане. После охлаждения доводят объем раствора до метки водой и перемешивают. 1 мл раствора стандартного образца содержит 0,00004 г рибофлавина. Раствор устойчив в течение 1 мес. при хранении в темном месте.

Допускается проводить расчет количественного содержания рибофлавина по калибровочному графику.

Построение калибровочного графика. В ряд пробирок помещают 1; 1,5; 2; 2,5; 3; 3,5; 4 мл раствора стандартного образца рибофлавина, содержащего 0,00004 г рибофлавина в 1 мл, доводят объем раствора в каждой пробирке до 10 мл водой, перемешивают и измеряют оптическую плотность, как указано выше.

1.6. Хроматография

Хроматография — метод разделения и анализа смесей веществ, основанный на различном распределении компонентов между двумя фазами — неподвижной (*носитель*) и подвижной (*элюент*).

По принципу протекающих физико-химических процессов при разделении смеси веществ хроматографические методы подразделяют на группы: распределительная, адсорбционная, ионообменная хроматография.

По способу разделения компонентов анализируемой смеси и аппаратурного оснащения различают следующие методики: хроматография на колонке, на бумаге, в тонком слое сорбента, газовая, высокоэффективная жидкостная хроматография и др.

1.6.1. Распределительная хроматография

В распределительной хроматографии (конкурентное распределение компонентов смеси между двумя несмешивающимися растворителями) инертный

носитель пропитывают специальным растворителем (неподвижная фаза) и помещают в колонку (колоночная хроматография, газовая хроматография). Затем в колонку вводят раствор анализируемой смеси и пропускают второй растворитель, не смешивающийся с первым (подвижная фаза; при газовой хроматографии подвижной фазой является газ).

Благодаря различной растворимости компонентов смеси в обеих фазах в соответствии с коэффициентами их распределения в колонке устанавливается равновесие. При непрерывном протекании подвижной фазы наблюдаются разделение анализируемой смеси на компоненты и поочередное их вымывание из колонок.

1.6.2. Адсорбционная хроматография

Стационарной фазой в адсорбционной хроматографии (конкурентное распределение компонентов смеси между элюентом и адсорбентом) является адсорбент (активированный уголь, силикагель, оксид алюминия и др.). Пропускание подвижной фазы через адсорбент приводит к непрерывным процессам сорбции и десорбции компонентов анализируемой смеси. Разделение их обусловлено различным сродством к адсорбенту.

1.6.3. Ионообменная хроматография

В качестве подвижной фазы в ионообменной хроматографии (обратимый обмен между ионами анализируемого раствора и ионогенными группами носителя) используют ионообменники (иониты), представляющие собой высокомолекулярные вещества природного или синтетического происхождения.

Различают **ионообменники**: аниониты (анионообменники) и катиониты (катионообменники). *Аниониты* — высокомолекулярные полизарядные вещества, способные обмениваться анионами с раствором анализируемого электролита. *Катиониты* способны обмениваться катионами с раствором анализируемого электролита.

Процесс обмена между ионами, находящимися в растворе, можно схематически представить следующим образом:



Этот метод применяется главным образом для разделения электролитов и аминокислот.

Определение натрия цитрата для инъекций

Точную навеску около 1 г препарата растворяют в свежеекипяченной и охлажденной воде в мерной колбе вместимостью 100 мл и доводят объем раствора водой до метки. Полученный раствор объемом 10 мл количественно переносят на колонку с катионитом КУ-1 или КУ-2 в Н-форме. Жидкость должна стекать со скоростью 20—25 капель в минуту. Колонку промывают свежеекипяченной и охлажденной водой (50—70 мл) до нейтральной реакции на метиловый оранжевый. Фильтрат и промывную воду собирают в колбу и титруют 0,05 М раствором натрия гидроксида (индикатор — фенолфталеин).

1 мл 0,05 М раствора натрия гидроксида соответствует 0,004301 г $\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7$.

1.6.4. Хроматография на бумаге

Хроматография на бумаге — один из вариантов распределительной хроматографии, при этом специальная фильтровальная бумага служит носителем неподвижной фазы (например, воды), а система растворителей — подвижной фазой, которая перемещается по бумаге под действием капиллярных сил. Во время движения указанная фаза растворяет вещества, нанесенные на бумагу, и перемещает их с собой. Деление компонентов смеси достигается благодаря различной скорости их перемещения, зависящей от величины коэффициента распределения между подвижной и неподвижной фазами.

По направлению движения подвижной фазы различают три способа хроматографии на бумаге — круговой, нисходящий и восходящий.

Эффективность разделения многокомпонентных смесей повышается при использовании способов *двухмерной* и *повторной хроматографии*. В первом случае процесс хроматографирования проводят в двух различных направлениях в той же подвижной фазе или с использованием двух отличающихся друг от друга подвижных фаз; во втором случае процесс хроматографирования осуществляют дважды в одном и том же направлении, чаще всего в различных подвижных фазах.

Скорость перемещения веществ на хроматограмме оценивают по отношению расстояния от стартовой линии хроматограммы до центра пятна вещества к расстоянию, пройденному фронтом подвижной фазы (величина R_f).

Выявление пятен (зон) веществ на хроматограмме производится различными способами: визуально, если вещества образуют окрашенные зоны; с помощью УФ-света, если вещества флуоресцируют или фосфоресцируют; с помощью детектирующих реактивов — по образованию окрашенных зон.

Воспроизводимость результатов анализа при хроматографии на бумаге достигается стандартизацией следующих факторов:

- 1) характеристики бумаги для хроматографии;
- 2) конструкции и размера камеры;
- 3) состава неподвижной и подвижной фаз;
- 4) объема наносимой пробы;
- 5) характеристики стандартных веществ;
- 6) способа хроматографирования (восходящий, нисходящий и др.);
- 7) степени насыщения камеры;
- 8) расстояния, пройденного подвижной фазой;
- 9) способа обнаружения веществ.

1.6.5. Хроматография в тонком слое

В *тонкослойной хроматографии* неподвижная фаза (силикагель, оксид алюминия, целлюлоза и др.) наносится в виде тонкого слоя на стеклянную, алюминиевую или пластмассовую подложку.

Проведение хроматографии на тонком слое складывается из следующих операций:

- 1) подготовки образца;
- 2) нанесения образца;
- 3) проведения хроматографического разделения;
- 4) обнаружения пятен (зон) хроматографируемых веществ.

Известны две основные модификации тонкослойной хроматографии с закрепленным и незакрепленным слоями. Хроматографические пластинки с закрепленным слоем готовят вручную или в заводских условиях путем нанесения суспензии сорбента в воде или органическом растворителе на подложку. Для придания прочности слою к сорбенту часто добавляют связующие вещества (гипс, крахмал и др.). Пластинки с незакрепленным слоем готовят путем насыпания сорбента на подложку с последующим разравниванием его поверхности.

Нанесение образцов на пластинки осуществляют с помощью калиброванных капилляров, микропипеток или микрошприцев.

Хроматография осуществляется в прямоугольных и цилиндрических сосудах, закрытых герметически пришлифованной крышкой. На дно камеры наливают систему растворителей, в которую погружают хроматографическую пластинку с нанесенными образцами.

Выявление пятен исследуемых веществ на хроматограммах происходит с помощью УФ-света или специальных реактивов.

Для характеристики подвижности анализируемого вещества используют величину R_f — отношение расстояния от стартовой линии до центра пятна вещества к расстоянию, пройденному фронтом подвижной фазы. Воспроизводимость R_f в значительной степени зависит от факторов, связанных со стандартизацией условий проведения хроматографии. Поэтому для повышения точности идентификации веществ пользуются также показателем R_s (отношение R_f анализируемого вещества к принятому за стандарт R_f вещества). В целом *воспроизводимость результатов* зависит от соблюдения выбранных оптимальных условий хроматографии:

- 1) характеристики сорбента;
- 2) толщины слоя;
- 3) размеров камер для хроматографии;
- 4) степени насыщения камер;
- 5) способа активирования сорбента;
- 6) расстояния от края пластинки до стартовой линии;
- 7) расстояния, пройденного подвижной фазой;
- 8) объема наносимой пробы;
- 9) способа обнаружения веществ на хроматограммах.

Универсальность и доступность метода тонкослойной хроматографии сделали последний одним из ведущих методов фармацевтического анализа.

Определение подлинности пармидина в таблетках

Методика. Навеску порошка растертых таблеток, эквивалентную 0,1 г пармидина, встряхивают в течение 3 мин с 20 мл спирта метилового и фильтруют. Полученный фильтрат объемом 0,002 мл (10 мкг пармидина) наносят на пластинку со слоем силикагеля F_{254} . Рядом в качестве свидетеля наносят 0,002 мл (10 мкг) 0,5% раствора пармидина стандарта в спирте метиловом. Пластинку подсушивают на воздухе, помещают в камеру со смесью растворителей хлороформ — спирт метиловый (15 : 2) и хроматографируют восходящим методом. Когда фронт подвижной фазы дойдет до конца пластинки, ее вынимают из камеры, подсушивают на воздухе и просматривают в УФ-свете при 254 нм.

На хроматограмме препарата наблюдается пятно, находящееся на одном уровне с пятном на хроматограмме стандарта.

Определение подлинности компонентов таблеток «Пенталгин-ICN»

Состав на одну таблетку: аналгина — 0,3 г; парацетамола — 0,3 г; кофеина — 0,05 г; кодеина фосфата — 0,008 г; фенobarбитала — 0,01 г.

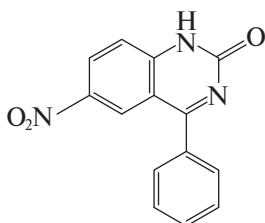
Порошок растертых таблеток массой 0,2 г помещают в коническую колбу с притертой пробкой, прибавляют 0,1 мл спирта и 4 мл хлороформа и встряхивают 3 мин, фильтруют через бумажный фильтр. Полученный раствор (0,005 мл) наносят на линию старта пластинки Kieselgel 60 F₂₅₄ «Merck» размером 5×15 см. Рядом наносят 0,005 мл раствора свидетелей (~20 мкг парацетамола, ~15 мкг аналгина, ~12,5 мкг кофеина, ~2,5 мкг фенobarбитала, ~2 мкг кодеина фосфата).

Пластинку подсушивают на воздухе 10 мин и помещают в предварительно насыщенную камеру со смесью растворителей: ацетон — толуол — диэтиламин (19,5 : 5 : 0,5). Когда фронт подвижной фазы дойдет до линии финиша, ее вынимают из камеры, сушат на воздухе 10 мин и просматривают в УФ-свете при 254 нм. Пятна на хроматограмме вытяжки из препарата по интенсивности окраски и положению должны соответствовать пятнам на хроматограмме раствора свидетелей.

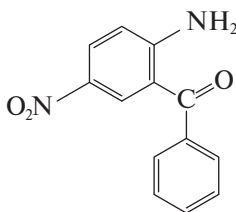
Метод тонкослойной хроматографии используется также при *анализе чистоты* лекарственных средств.

Определение посторонних примесей и продуктов разложения нитразепама

Одной из специфических примесей в нитразепаме является 2-амино-5-нитробензофенон:



нитразепам



2-амино-5-нитробензофенон
(примесь в нитразепаме)

Методика. Навеску 0,1 г нитразепама растворяют в 5 мл хлороформа (раствор А). Полученный раствор 0,01 мл (200 мкг) наносят микропипеткой на линию старта пластинки Силуфол УФ-254 размером 8×15 см. Рядом в качестве свидетелей наносят 0,01 мл (1 мкг) 0,01% раствора препарата в хлороформе (раствор Б) и 0,01 мл (0,2 мкг) 0,002% раствора 2-амино-5-нитробензофенона в хлороформе (раствор В).

Пластинку с нанесенными пробами помещают в камеру со смесью нитрометан — этилацетат (17 : 3) или бензол — метилэтилкетон (2 : 1). Когда фронт растворителя дойдет до конца пластинки, ее вынимают из камеры, сушат на воздухе 15 мин и просматривают в УФ-свете при длине волны 254 нм. Любое

пятно на хроматограмме раствора А, кроме основного пятна, не должно быть интенсивнее пятна на хроматограмме раствора Б (не более 0,5%).

Затем хроматограмму помещают в камеру для диазотирования, где находится бюкс с концентрированной хлороводородной кислотой. Вносят в бюкс 3—5 г натрия нитрита и после образования в камере достаточного количества паров азота оксида вносят пластинку. Через 15 мин пластинку вынимают, выдерживают в вытяжном шкафу 30—40 мин и опрыскивают 0,5% раствором N-(1-нафтил)-этилендиамина дигидрохлорида в 95% спирте.

Пятно примеси 2-амино-5-нитробензофенона из раствора А не должно по совокупности величины пятна и интенсивности окраски превышать пятно свидетеля на хроматограмме раствора В (не более 0,1%).

Определение посторонних примесей в фуразолидоне

Методика. Навеску массой 0,02 г лекарственного вещества растворяют в 20 мл ацетонитрила. Полученный раствор объемом 0,05 мл (50 мкг) наносят на пластинку со слоем силикагеля F. Рядом в качестве свидетеля наносят 0,001 мл (0,1 мкг), 0,0025 мл (0,25 мкг) и 0,005 мл (0,5 мкг) 0,01% раствора 5-нитрофурур-фулдиацетата стандарта в ацетонитриле.

Пластинку с нанесенными пробами помещают в камеру со смесью растворителей толуол — спирт метиловый (99 : 1) и хроматографируют восходящим методом. Когда фронт подвижной фазы дойдет до конца пластинки, ее вынимают из камеры, сушат на воздухе, выдерживают 5 мин при температуре 105 °С и опрыскивают 0,8% раствором фенилгидразина гидрохлорида.

Суммарное содержание посторонних примесей, оцененное по совокупности величины и интенсивности окраски их пятен на хроматограмме препарата в сравнении с пятнами на хроматограммах свидетеля, не должно превышать 1%.

1.6.6. Газовая хроматография

Принцип метода заключается в разделении компонентов смеси веществ (находящихся в газообразном состоянии и не разлагающихся при нагревании) между газом-носителем (подвижная фаза) и твердым сорбентом или тонкой пленкой жидкости, нанесенной на твердый носитель (неподвижная фаза). Разделение компонентов происходит из-за неодинакового сродства анализируемых веществ к подвижной и неподвижной фазам и, как следствие, из-за различного равновесного распределения между двумя фазами.

Метод осуществляется с помощью *адсорбционной газовой хроматографии* и *распределительной*, или *газожидкостной, хроматографии* (ГЖХ). В первом варианте в качестве неподвижной фазы используют различные адсорбенты: кизельгур, полисорб, силикагель, аморфный уголь и др.

При осуществлении второго варианта сорбент покрывают тончайшей пленкой высококипящей жидкости, выполняющей роль неподвижной фазы. Для этой цели используют различные высококипящие индивидуальные вещества и их смеси: вазелиновое масло, силоксаны, полигликоли, жирные кислоты и др.

В качестве подвижной фазы используют азот, гелий, водород, аргон.

Процесс проводят в специальных аппаратах — газовых хроматографах. Основные узлы *газового хроматографа* следующие:

- 1) баллон с газом-носителем;
- 2) блок подготовки газов;
- 3) испаритель;
- 4) термостат;
- 5) хроматографическая колонка;
- 6) детектор;
- 7) регистратор.

Анализируемый раствор вводят микрошприцем в испаритель, где жидкая проба превращается в газ. Далее проба под давлением проходит через хроматографическую колонку, в которой происходит разделение компонентов анализируемой пробы.

Хроматографические колонки могут быть насадочными или капиллярными. Насадочные колонки изготовляют из нержавеющей стали или стекла. Их диаметр колеблется от 1,5 до 5 мм, а длина — до 5 м. Такие колонки наполняют сорбентом (при адсорбционной газовой хроматографии). В случае газожидкостной хроматографии сорбент обрабатывают жидкой фазой, которая тончайшей пленкой распределяется на поверхности сорбента.

Капиллярные колонки из кварцевого стекла достигают длины от 30 до нескольких сотен метров, а диаметр — примерно 0,25 мм. Стенки этих капилляров осуществляют функции инертного носителя. Жидкая неподвижная фаза в виде тончайшего слоя распределяется на всей внутренней поверхности капиллярной колонки.

Процесс хроматографирования ведут при постоянной температуре или при программированном подъеме температуры.

Идентификацию анализируемых веществ проводят с помощью детекторов, функционирование которых осуществляется на основе различных физико-химических закономерностей.

Определение компонентов аэрозоля «Каметон»

Состав на один баллон: хлорбутанолгидрата — 0,1 или 0,15 г; камфоры — 0,1 или 0,15 г; ментола — 0,1 или 0,15 г; масла эвкалиптового — 0,1 или 0,15 г; масла вазелинового — 9,6 или 14,4 г; дифтордихлорметана (хладона-12) — 20 или 30 г.

Отбор средней пробы для испытания подлинности и количественного определения. С шести аэрозольных баллонов снимают насадки с предохранительными колпачками. Металлическую капсулу клапана прокалывают металлическим бойком на расстоянии примерно 5 мм от центра. В полученное отверстие для лучшего выхода хладона-12 вставляют иглу для инъекций (игла не должна касаться поверхности раствора) и баллон оставляют в вертикальном положении до выхода хладона-12. После прекращения шипения выходящего газа осторожно встряхивают баллон и дают ему постоять около 3 мин; при этом происходит удаление дополнительного количества хладона-12. Эту операцию повторяют несколько раз до полного прекращения шипения выходящего газа.

Затем баллон вскрывают, отгибая края металлической капсулы в месте завальцовки. Содержимое баллонов после взбалтывания сливают в колбу вме-

стимостью 100 мл, откуда после тщательного перемешивания отбирают пробы для испытания подлинности и количественного определения.

Подлинность ментола. К 2 мл препарата прибавляют 1 мл серной кислоты концентрированной и 1 мл свежеприготовленного 1% раствора ванилина в серной кислоте концентрированной; появляется желтое окрашивание, переходящее в фиолетовое при добавлении 1 мл воды.

Подлинность цинеола, камфоры, хлорбутанолгидрата, ментола. Определяют время удерживания указанных веществ на хроматограмме анализируемого раствора при количественном определении.

Количественное определение. Содержание камфоры, хлорбутанолгидрата и ментола в препарате определяют методом газовой хроматографии с использованием нафталина в качестве внутреннего стандарта.

Условия хроматографирования:

- 1) хроматограф газовый с пламенно-ионизационным детектором;
- 2) колонка стеклянная или из нержавеющей стали размером 300×0,3 см, заполненная сорбентом — 15% полиэтиленгликолем (М. м. — 20 000, карбовакс 20 М) на хроматоне N-AW-DMCS зерна 0,16—0,20 мм или 0,315—0,430 мм;
- 3) температура термостата колонки 150 °С, испарителя — 200 °С;
- 4) скорость газа-носителя (азота), гелия и водорода — 25 мл/мин, воздуха — 300 мл/мин;
- 5) скорость диаграммной ленты — 240 мм/ч.

Методика. Около 5,0 г препарата, охлажденного от хладона-12 (точная навеска средней пробы из шести баллонов), помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют около 0,05 г (точная навеска) нафталина для хроматографии, 10 мл хлороформа, перемешивают до полного растворения нафталина и доводят объем раствора хлороформом до метки. Около 1 мкл приготовленного раствора вводят микрошприцем в испаритель хроматографа.

Содержание камфоры, хлорбутанолгидрата и ментола в одном баллоне в граммах (X) вычисляют по формуле:

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

- где
- S_i — площадь пика определяемого вещества на хроматограмме испытуемого раствора;
 - S_{oi} — площадь пика нафталина;
 - k — поправочный коэффициент для определяемого вещества;
 - a_{oi} — масса навески нафталина, г;
 - a — масса навески препарата, г;
 - m — масса содержимого, указанная на баллоне, без учета хладона-12, г.

Определение поправочного коэффициента. Готовят три модельные смеси, состоящие из масла эвкалиптового, камфоры, хлорбутанолгидрата, ментола и нафталина, взятых в массе около 0,05 г (точная навеска) каждого вещества, помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, прибавляют 5 г масла вазелинового, 10 мл хлороформа, перемешивают до полного растворения компонентов и доводят объем раствора хлороформом до метки.

Каждую смесь вводят в испаритель хроматографа не менее двух раз в объеме около 1 мкл и вычисляют поправочные коэффициенты по формуле:

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

где k — поправочный коэффициент для определяемого вещества;
 S_i — площадь пика определяемого вещества;
 S_{oi} — площадь пика нафталина;
 a_{oi} — масса навески нафталина, г;
 a — масса навески камфоры, хлорбутанолгидрата или ментола, г.

1.6.7. Высокоэффективная жидкостная хроматография

Высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) — это современная форма реализации классической колоночной жидкостной хроматографии. Иногда по отношению к ВЭЖХ продолжает применяться устаревший термин «жидкостная хроматография высокого давления».

Подвижная фаза в ВЭЖХ (элюент) — жидкость, которая под давлением движется через хроматографическую колонку, заполненную неподвижной фазой — сорбентом.

Механизмы удерживания в ВЭЖХ: адсорбция, распределение, ионный обмен, проникновение через поры сорбента (эксклюзионная хроматография), стереохимическое взаимодействие (хиральная хроматография). Поэтому ВЭЖХ не вполне вписывается в ранее существовавшую классификацию видов хроматографии и выделяется в отдельный метод, который в настоящее время считается одним из основных методов анализа лекарственных средств.

Выделяют нормально-фазовую и обращенно-фазовую ВЭЖХ. *Нормально-фазовая хроматография* — вариант ВЭЖХ, при котором разделение смеси осуществляется при менее полярной подвижной фазе, чем неподвижной. В качестве сорбента часто применяют силикагель или полярные привитые фазы, а в качестве подвижной фазы — гексан, гептан, хлороформ и другие неполярные растворители. *Обращенно-фазовая хроматография* — вариант ВЭЖХ, при котором разделение смеси осуществляется при более полярной подвижной фазе, чем неподвижной. В качестве сорбента в этом варианте выступают неполярные привитые фазы, а элюентом служат смеси полярных растворителей — воды, ацетонитрила, метанола и др.

ВЭЖХ может применяться для установления подлинности, анализа чистоты и количественного определения негазообразных лекарственных веществ. После соответствующей пробоподготовки по тем же параметрам могут анализироваться и лекарственные препараты (т. е. готовые лекарственные формы). Спектр анализируемых соединений очень широк и ограничивается только возможностями детектирования.

Современный *жидкостный хроматограф* обычно состоит из основных модулей:

- емкость с подвижной фазой или емкости с отдельными растворителями, входящими в состав подвижной фазы;
- насосная система;

- смеситель;
- дозирующая система (инжектор) для ввода пробы;
- хроматографическая колонка;
- детектор;
- емкости для сбора отработанной подвижной фазы;
- система сбора и обработки данных.

В ряде случаев применяются системы термостатирования хроматографических колонок.

Насосная система. Насосы обеспечивают подачу растворителей в колонку с задаваемой постоянной скоростью, обычно в диапазоне от 0,5 до 1,5 мл/мин. Наиболее часто для стандартной аналитической колонки с внутренним диаметром 4,6 мм оптимальная скорость потока составляет 1 мл/мин с точки зрения эффективности хроматографического процесса. Поскольку сорбент в колонке создает большое сопротивление элюенту, рабочее давление в хроматографической системе между насосами и колонкой обычно составляет от 50 до 200 атм. Современные насосы для аналитической ВЭЖХ могут создавать скорость потока до 5 мл/мин и работать при давлениях до 500 атм, однако, учитывая повышенный износ хроматографических систем и часто неэффективное разделение, таких условий стараются избегать.

Смеситель. В смесителе происходит образование единой подвижной фазы из отдельных растворителей, подаваемых насосами (если только необходимая смесь не была получена заранее). Смешивание растворителей обычно происходит самопроизвольно, но иногда применяются системы с принудительным смешиванием.

Дозирующая система (инжектор). Инжектор для ввода пробы (раствора) располагают непосредственно перед хроматографической колонкой. Поскольку инжектор располагается на участке хроматографической системы, находящейся под высоким давлением, непосредственное введение анализируемого раствора в поток в настоящее время не применяется. Конструкция современных инжекторов позволяет локально изменять направление потока и осуществлять предварительное введение пробы в петлю определенного объема. Наиболее часто в аналитической ВЭЖХ применяются петли с объемом 20 мкл. При необходимости петлю можно заменять (другие объемы — 10, 50, 100, 200, 500 и 1000 мкл).

Для введения анализируемого раствора в инжектор используется ручной микрошприц с объемом, незначительно превосходящим объем петли. Система предварительного введения пробы в петлю позволяет не только избежать разгерметизации системы, но и увеличивает точность и воспроизводимость анализа, поскольку избыток введенного раствора, не уместившийся в петле, отбрасывается и в колонку вводится точный и всегда одинаковый объем пробы. Ручное неполное заполнение петли (т. е. дозирование с помощью микрошприца, а не петли инжектора) в настоящее время не используется.

Для автоматического введения анализируемых растворов широко применяются автоматические дозаторы (автосамплеры), сочетающие систему отбора проб и систему инъекции. Такой вариант используют при большом объеме анализов.

Хроматографическую колонку чаще изготавливают из нержавеющей стали. Длина аналитической колонки обычно составляет 10—25 см, внутренний диаметр — от 2 до 6 мм (чаще 4,6 мм). Колонки заполняются сорбентом под большим давлением в заводских условиях.

Часто по ходу потока перед аналитической колонкой располагают предколонку, имеющую значительно меньшую длину и выполняющую защитные функции. Обычно рекомендуют использовать предколонку с тем же сорбентом, что и в аналитической колонке.

Неподвижная фаза (сорбент). В ВЭЖХ применяется множество различных сорбентов.

1) Силикагель, оксид алюминия, пористый графит используются в нормально-фазовой хроматографии. Механизм удерживания в данном случае — обычно адсорбция.

2) Смолы или полимеры с кислотными или основными группами применяются в ионно-обменной хроматографии.

3) Пористый силикагель или полимеры используются в эксклюзионной хроматографии, в которой разделение веществ происходит в соответствии с размерами их молекул.

4) Химически модифицированные сорбенты (сорбенты с привитыми фазами), приготовленные чаще на основе силикагеля. Механизм удерживания в большинстве случаев — распределение между подвижной и неподвижной фазами.

5) Химически модифицированные хиральные сорбенты, например производные целлюлозы и амилозы, протеины и пептиды, циклодекстрины, используемые для разделения энантиомеров (хиральная хроматография).

В качестве привитых фаз наиболее часто применяются:

- октильные группы $[\text{Si}-(\text{CH}_2)_7-\text{CH}_3]$; сорбент октилсилан или C_8 ;
- октадецильные группы $[\text{Si}-(\text{CH}_2)_{17}-\text{CH}_3]$; сорбент октадецилсилан (ODS) или C_{18} ;
- фенильные группы $[\text{Si}-(\text{CH}_2)_n(\text{C}_6\text{H}_5)]$; сорбент C_6H_5 ;
- цианопропильные группы $[\text{Si}-(\text{CH}_2)_3-\text{CN}]$; сорбент CN;
- аминопропильные группы $[\text{Si}-(\text{CH}_2)_3-\text{NH}_2]$; сорбент NH_2 ;
- диольные группы $[\text{Si}-(\text{CH}_2)_3-\text{OCH}(\text{OH})-\text{CH}_2-\text{OH}]$.

При маркировке колонок часто также применяют аббревиатуру RP (от англ. *reversed phase* — обращенная фаза). Например, C_8 обозначают как RP-8, C_{18} — как RP-18.

В настоящее время большинство анализов выполняется на неполярных привитых фазах в обращенно-фазовом режиме (с более полярными элюентами), и наиболее часто применяется сорбент C_{18} .

Обращенно-фазовый режим имеет ряд важных преимуществ:

- 1) высокая воспроизводимость данных по времени удерживания;
- 2) быстрое установление равновесия в системе (стабилизация базовой линии);
- 3) работа практически не зависит от наличия в элюенте следовых количеств воды, что, наоборот, критически важно для нормально-фазовой хроматографии;
- 4) упрощение пробоподготовки, возможность хроматографировать растворы веществ в воде и полярных растворителях.

Сорбенты с привитыми фазами химически устойчивы при значениях pH от 2,0 до 8,0, если другое специально не оговаривается производителем.

Размер частиц сорбента в аналитической ВЭЖХ обычно составляет 3—10 мкм. Частицы сорбента могут иметь сферическую или неправильную форму и разнообразную пористость.

Высокая эффективность разделения в ВЭЖХ обеспечивается высокой площадью поверхности частиц сорбента (которая является следствием их микроскопических размеров и наличия пор), а также равномерностью состава сорбента и плотной и равномерной его упаковкой.

Детектор. В ВЭЖХ используются различные способы детектирования. В общем случае подвижная фаза, покинувшая хроматографическую колонку, попадает в ячейку детектора, где непрерывно измеряется то или иное свойство элюента. На основании полученной хроматограммы можно построить график зависимости физического или физико-химического параметра подвижной фазы от времени.

Наиболее часто применяются спектрофотометрические детекторы (включая диодно-матричные), работающие в УФ- (обычно от 190 до 400 нм) и видимой (от 400 до 760 нм) областях электромагнитного спектра. График хроматограммы в этом случае представляет собой зависимость оптической плотности подвижной фазы от времени.

Обычный спектрофотометрический детектор позволяет устанавливать произвольную длину волны. А современные диодно-матричные детекторы позволяют не только проводить детектирование сразу по нескольким длинам волн, но и без остановки потока получать УФ-спектр элюента в любой момент времени, что значительно усиливает качественный анализ разделяемых компонентов.

В ряде случаев также применяются флуоресцентные детекторы, рефрактометры, электрохимические детекторы, масс-спектрометры, детекторы радиоактивности и некоторые другие.

На современном жидкостном хроматографе при использовании УФ-детектирования можно обнаруживать вещества в концентрациях обычно до 1 мкг/мл — 0,1 мкг/мл, а при использовании электрохимического и масс-спектрометрического детектирования — до 0,1 нг/мл и ниже.

Подвижная фаза. В качестве подвижной фазы применяются индивидуальные растворители и их смеси.

В нормально-фазовой хроматографии обычно применяют жидкие углеводороды (например, гексан, циклогексан) и другие относительно неполярные растворители.

В обращенно-фазовой хроматографии в состав подвижной фазы входят полярные органические растворители (обычно ацетонитрил или метанол) и вода. Для оптимизации разделения часто используют водные растворы с определенным значением pH, в частности буферные растворы. Применяют добавки неорганических и органических кислот, оснований и солей и другие соединения (например, хиральные модификаторы для разделения энантиомеров на ахиральном сорбенте). Контроль значения pH осуществляют отдельно для водного компонента, а не для его смеси с органическим растворителем.

Подвижная фаза может состоять из одного растворителя, наиболее часто — из двух, при необходимости — из трех и более. Многокомпонентная подвижная фаза может готовиться как путем предварительного смешивания входящих в ее состав растворителей, так и непосредственно во время анализа — в смесителе хроматографа. Состав подвижной фазы указывают как объемное соотношение входящих в нее растворителей и растворов.

В зависимости от постоянства состава элюента во время одного разделения (одной хроматограммы) различают изократический и градиентный режимы работы. В *изократическом режиме* соотношение отдельных компонентов подвижной фазы остается постоянным на протяжении всего анализа. В *градиентном режиме* состав элюента изменяется во время получения одной хроматограммы согласно заданной программе. Градиентное элюирование применяют, например, в том случае, если изократический режим не позволяет достичь необходимого разделения за приемлемое время.

Растворитель выбирают с учетом его прозрачности для детектора. При использовании УФ-спектрофотометрического детектора применяемый элюент не должен иметь выраженного поглощения при выбранной для детектирования длине волны. Например, предел прозрачности хлороформа составляет около 230 нм. Это означает, что проводить анализ при длине волны 230 нм и ниже с использованием данного растворителя в составе подвижной фазы практически невозможно. Предел прозрачности ацетонитрила около 195 нм, что позволяет использовать его в большинстве анализов.

Предел прозрачности (или оптическая плотность при определенной длине волны) конкретного растворителя часто указывается на упаковке, поскольку на этот параметр большое влияние оказывает степень чистоты.

Предел прозрачности элюента также зависит и от других компонентов, которые используются в составе подвижной фазы (кислоты, соли, модификаторы и др.).

Элюирующую силу растворителя для нормально-фазового режима ориентировочно можно оценить по элюотропному ряду по Снайдеру. При использовании обращенно-фазового режима увеличение процентного содержания воды приводит к снижению элюирующей силы подвижной фазы, что отражается на увеличении времени удерживания анализируемых соединений. Увеличение силы элюента добиваются повышением содержания в подвижной фазе органического компонента (ацетонитрила, метанола).

По совокупности параметров наиболее выгодным растворителем для обращенно-фазового режима является ацетонитрил, однако в ряде случаев определенные соединения удастся разделить только с использованием метанола. Вода как второй компонент элюента в обращенно-фазовой хроматографии используется практически всегда.

Органические растворители для жидкостной хроматографии не требуют предварительной подготовки. Воду и водные растворы (а также предварительно смешанные с водой органические растворители) необходимо подвергать тонкой фильтрации и дегазации. Приготовленные для анализа испытуемые растворы также необходимо перед введением в хроматограф фильтровать. Для этих целей обычно применяют фильтрование под вакуумом через мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм.

Термостатирование колонок. Большинство анализов в ВЭЖХ осуществляется при комнатной температуре. Однако температура окружающей среды подвержена колебаниям, что сказывается на разделении. Поэтому для получения более воспроизводимых результатов и для оптимизации разделения необходимо поддерживать температуру колонки и элюента на определенном уровне, для чего колонку помещают в устройство для термостатирования.

Влияние температуры на хроматографический процесс многогранно. С повышением температуры уменьшаются вязкость и плотность растворителей, как следствие, снижается давление в системе. Диэлектрическая проницаемость растворителей также снижается, но ускоряются процессы массопереноса в колонке. В то же время увеличивается вероятность газообразования в системе. Тем не менее, несмотря на отрицательные моменты, в некоторых случаях удается добиться повышения эффективности и лучшего разделения хроматографических пиков за приемлемое время, повышая температуру колонки до 30—50 °С.

Система сбора и обработки хроматографических данных. В настоящее время используются компьютерные системы обработки хроматографических данных. Сигнал от детектора поступает на сопряженный с хроматографом персональный компьютер с установленным программным обеспечением, позволяющим регистрировать и обрабатывать хроматограмму, а также осуществлять управление работой хроматографа и следить за основными параметрами хроматографической системы.

Условия хроматографирования в нормативной документации. Описание условий хроматографирования должно включать в себя:

- размеры колонки;
- вид и размер частиц сорбента;
- температуру колонки, если необходимо термостатирование;
- состав подвижной фазы (растворители, их соотношение, значение pH водного компонента, добавки и др.), а также способ приготовления растворов, входящих в состав подвижной фазы;
- описание градиента, если необходимо;
- скорость потока;
- детектор и условия детектирования (например, длина волны);
- объем вводимой пробы;
- время хроматографирования, если необходимо.

При необходимости описание условий хроматографирования может быть более подробным.

1.7. Потенциометрия

1.7.1. Потенциометрическое измерение pH

Водородным показателем (pH) называется отрицательный десятичный логарифм активности ионов водорода. Величина pH характеризует кислотность или основность растворов и является показателем качества лекарственных средств.

Измерение pH производят *колориметрическим* или *потенциометрическим* методом. Подробнее см. Учебник.

1.7.2. Потенциометрическое титрование

Потенциометрия используется для индикации точки эквивалентности при количественном определении методами нейтрализации, осаждения, комплексообразования, окисления-восстановления и др. Определение точки эквивалентности таким способом удобно при титровании окрашенных и мутных растворов.

Потенциометрическим титрованием называется способ определения эквивалентного объема титранта путем измерения в процессе титрования электродвижущей силы (ЭДС) специально подобранной электродной парой. *Подробнее см. Учебник.*

В общей статье ГФ XIII «Потенциометрическое титрование» приведены кривая потенциометрического титрования, пример расчета эквивалентного объема титранта, а также таблица с характеристикой электродных систем при различных методах титрования. В таблице показано, что выбор индикаторного электрода определяется типом протекающей реакции. Так, при кислотно-основном титровании применяют стеклянный электрод, при использовании метода осаждения — серебряный. При окислительно-восстановительных реакциях индикаторным электродом служит платиновый.

Количественное определение феназепама

Методика. Точную навеску около 0,3 г препарата растворяют в 20 мл хлороформа, прибавляют 20 мл уксусного ангидрида и потенциометрически титруют 0,1 М раствором кислоты хлорной. В качестве индикаторного применяют стеклянный электрод. Параллельно проводят контрольный опыт.

1 мл 0,1 М раствора кислоты хлорной соответствует 0,03496 г феназепама, которого в препарате должно быть не менее 99,0%.

Определение подлинности лекарственных средств

Для установления подлинности лекарственных средств в ГФ используется комплекс испытаний: характерный внешний вид, растворимость, температура плавления, установление температурных пределов перегонки, удельное вращение или угол вращения, значение величины рН, максимум поглощения в УФ-спектре или видимой его области, величина отношения оптических плотностей при определенных длинах волн, удельный показатель поглощения, химические реакции на катионы, анионы или функциональные группы и др.

В последнее время с целью совершенствования способов идентификации вводятся современные физические и физико-химические методы, такие как ИК-спектрометрия, спектроскопия ядерного магнитного резонанса. Применение этих методов требует использования стандартных образцов лекарственных веществ.

ГФ XII указывает в разделе «Введение», что основным методом идентификации является ИК-спектрометрия. В приложении ГФ XII приведены рисунки ИК-спектров для ряда субстанций.

2.1. Характеристика внешнего вида

Характеристика внешнего вида лекарственных средств дается в частных статьях ГФ в разделе «Описание». Указываются физические свойства вещества: является вещество твердым или жидким, кристаллическим или аморфным. Приводятся размер и форма кристаллов, а также цвет и запах веществ. Дается информация о гигроскопичности.

Под влиянием факторов окружающей среды (свет, влага, пониженная или повышенная температура, кислород, диоксид углерода и др.) может проходить изменение внешнего вида лекарственных средств (увлажнение, изменение цвета, выпадение осадка в растворах и др.). На возможность таких изменений указывается в разделе частной статьи ГФ «Описание». Так, для натрия йодида указывается, что на воздухе он сыреет и разлагается с выделением йода.

Изменение внешнего вида связано с изменением химического состава вещества, что обусловлено такими процессами, как окисление, восстановление, гидролиз, осаждение, выветривание кристаллизационной воды и др.

Чтобы качество лекарственных средств не изменялось при хранении, для них установлены режим (прохладное или темное место и др.) и сроки хранения.

В ГФ XII введена ОФС «Сроки годности лекарственных средств».

2.2. Растворимость

Растворимость в ГФ выражается для большинства лекарственных веществ в условных терминах («очень легко растворим», «растворим» и т. д.), которые определяют соотношение объема растворителя к одной весовой части лекарственного вещества, что видно из приведенной в качестве примера части таблицы ОФС ГФ XII (табл. 2.1).

Таблица 2.1

Растворимость веществ

Термин	Примерное количество растворителя (мл), необходимое для растворения 1 г вещества
Очень легко растворим	до 1
Легко растворим	от 1 до 10
Растворим	от 10 до 30

Например, для натрия бензоата используется термин «легко растворим в воде».

В тех случаях, когда растворимость служит показателем чистоты субстанции, указывается количественное соотношение субстанции и растворителя. Для натрия хлорида — «растворим в 3 частях воды».

Растворимость может меняться при неправильном хранении лекарственных веществ, в результате чего появляются менее растворимые примеси, что изменяет качество лекарственного вещества.

2.3. Реакции на азотсодержащие органические основания с общеалкалоидными осадительными реактивами

Азотсодержащие органические соединения (далее — основания), в том числе и алкалоиды, благодаря основным свойствам образуют с общеалкалоидными осадительными реактивами осадки солей или комплексных солей оснований.

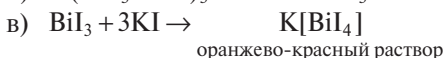
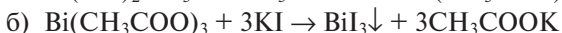
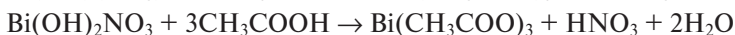
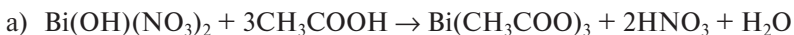
Предложено большое количество общеалкалоидных осадительных реактивов; наиболее распространены из них: растворы йода в калия йодиде (реактивы Люголя, Вагнера, Бушарда в зависимости от содержания йода и калия йодида), раствор ртути (II) хлорида в калия йодиде (реактив Майера), раствор висмута йодида в калия йодиде (реактив Драгендорфа), кислота пикриновая, танин, растворы некоторых гетерополикислот — кремневольфрамовой, фосфорновольфрамовой, фосфорномолибденовой, а также соль Рейнеке (аммония рейнекат), натрия тетрафенилборат и др.

В фармацевтическом анализе наиболее часто используются следующие общеалкалоидные осадительные реактивы.

Растворы йода в калия йодиде (растворы Люголя, Вагнера, Бушарда): раствор 1 г йода и 2 г калия йодида в 50 мл воды (*реактив Бушарда*); раствор 1,27 г йода и 2 г калия йодида в 100 мл воды (*реактив Вагнера*); раствор 1 г йода и 2 г калия йодида в 100 мл воды (*раствор Люголя*).

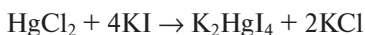
Растворы йода в калия йодиде ($I_2 + KI \rightarrow KI_3$) с основаниями образуют бурые осадки периодидов чаще всего состава: основание $\cdot HI \cdot I_4$.

Раствор висмута йодида в калия йодиде (реактив Драгендорфа). Раствор I. 0,85 г висмута нитрата основного растворяют в 40 мл воды и 10 мл кислоты уксусной. Раствор II. 8 г калия йодида растворяют в 20 мл воды. Смешивают равные объемы растворов I и II. К 10 мл полученной смеси добавляют 100 мл воды и 20 мл кислоты уксусной.



Реактив Драгендорфа с основаниями образует оранжево-красные осадки.

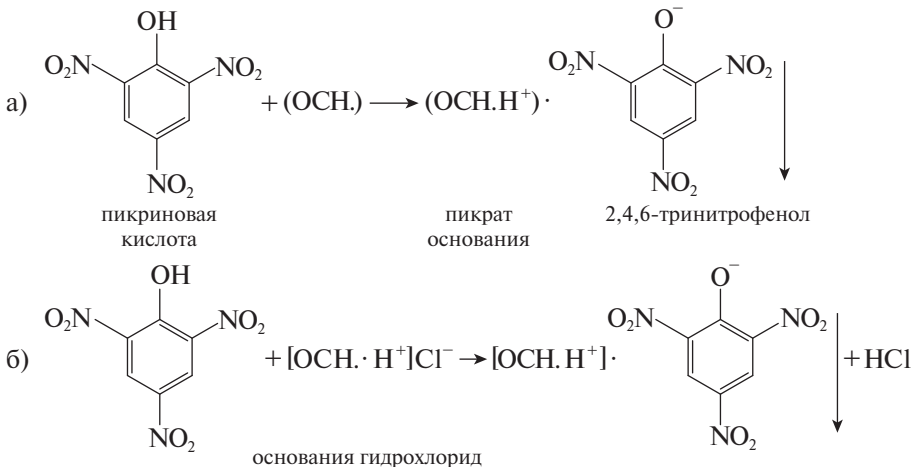
Раствор ртути (II) хлорида в калия йодиде (реактив Майера). 1,358 г ртути (II) хлорида растворяют в 60 мл воды, приливают раствор 5 г калия йодида в 10 мл воды и разбавляют водой до 100 мл.



Реактив Майера с основаниями образует белые осадки.

Раствор пикриновой кислоты насыщенный. 12,3 г кислоты пикриновой заливают 1 л воды и оставляют при частом взбалтывании на 24 ч.

Пикриновая кислота с основаниями образует желтые осадки пикратов оснований.



Раствор кремневольфрамовой кислоты $\text{H}_8[\text{Si}(\text{W}_2\text{O}_7)_6] \cdot n\text{H}_2\text{O}$. 1 г кремневольфрамовой кислоты растворяют в воде и доводят объем раствора водой до 100 мл.

Реактив образует с основаниями осадок белого цвета.

Раствор фосфорновольфрамовой кислоты $\text{H}_7[\text{P}(\text{W}_2\text{O}_7)_6] \cdot \text{H}_2\text{O}$ (реактив Шейблера). Фосфорновольфрамовую кислоту массой 0,3 г растворяют в 0,8 мл хлороводородной кислоты и разбавляют водой до 10 мл. В случае получения мутного раствора фильтруют через двойной фильтр.

Реактив образует с основаниями светло-желтые осадки.

Раствор фосфорномолибденовой кислоты (реактив Зоннентштейна) $\text{H}_7[\text{P}(\text{Mo}_2\text{O}_7)_6] \cdot \text{H}_2\text{O}$. Фосфорномолибденовую кислоту массой 0,5 г растворяют в 50 мл воды, подкисляют 0,1 М раствором азотной кислоты. Не должно быть мути.

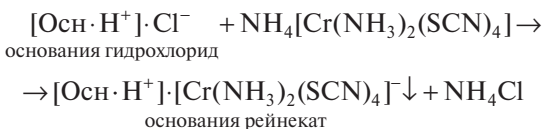
Реактив имеет желтую окраску, с основаниями образует осадки желтого цвета.

Танин. Танин массой 5 г растворяют в воде; объем раствора доводят водой до 100 мл. Раствор должен быть свежеприготовленным.

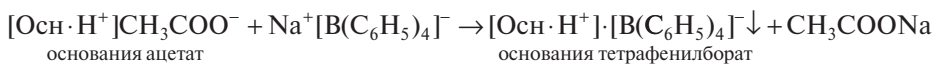
С основаниями образует осадки светло-желтого или буровато-желтого цвета.

Аммония рейнекат (соль Рейнеке) $\text{NH}_4[\text{Cr}(\text{NH}_3)_2(\text{SCN})_4] \cdot \text{H}_2\text{O}$. Аммония рейнекат массой 8 г растворяют в воде, объем доводят водой до 100 мл. Раствор должен быть свежеприготовленным. В водном растворе реактив постепенно разлагается. При этом он изменяет окраску на синий и выделяется свободный цианистый водород (**осторожно!**).

Аммония рейнекат с основаниями образует осадки красного цвета.



Натрия тетрафенилборат $\text{Na}^+[\text{B}(\text{C}_6\text{H}_5)_4]^-$. Натрия тетрафенилборат массой 3 г растворяют в воде, объем доводят водой до 100 мл. С основаниями образует осадки белого цвета.



В табл. 2.2 указаны цвета реактива и соответствующего ему осадка. Из указанного следует, что общеалкалоидные осадительные реактивы с основаниями образуют осадки цвета реактива; если реактив представляет собой бесцветный раствор, он с основанием образует осадок белого цвета.

Общеалкалоидные осадительные реактивы разделяют на группы:

- 1) реактивы, которые дают с основаниями *простые соли* (например, пикриновая кислота, танин и некоторые другие);
- 2) реактивы, которые дают с основаниями *комплексные соли* (например, реактивы Люголя (Вагнера, Бушарда), Драгендорфа, Майера; кремневольфрамовая, фосфорновольфрамовая, фосфорномолибденовая кислоты, аммония рейнекат, натрия тетрафенилборат и др.).

Чувствительность общеалкалоидных осадительных реактивов различна по отношению к различным азотсодержащим органическим основаниям. На первом месте по чувствительности стоит фосфорновольфрамовая кислота, затем идут фосфорномолибденовая кислота, реактив Драгендорфа, реактивы Люголя, Вагнера, Бушарда и др. Наименее чувствительными реактивами являются пикриновая кислота и танин.

Чувствительность реакций некоторых органических азотсодержащих оснований с общеалкалоидными осадительными реактивами представлена в табл. 2.3.

Таблица 2.2

Результаты реакций некоторых общеалкалоидных реактивов с основаниями

Реактив	Цвет раствора реактива	Цвет осадка
Растворы Люголя, Бушарда, Вагнера KI_3	Бурый	Бурый
Драгендорфа $KBiI_4$	Оранжево-красный	Оранжево-красный
Майера K_2HgI_4	Бесцветный	Белый
Раствор пикриновой кислоты	Желтый	Желтый
Раствор кремневольфрамовой кислоты $H_8[Si(W_2O_7)_6] \cdot nH_2O$	Бесцветный	Белый
Раствор фосфорновольфрамовой кислоты $H_7[P(W_2O_7)_6] \cdot H_2O$	Желтоватый	Аморфный светло-желтый
Раствор фосфорномолибденовой кислоты $H_7[P(Mo_2O_7)_6] \cdot H_2O$	Желтый	Желтый, через некоторое время вследствие восстановления молибдена приобретает синее или зеленое окрашивание
Раствор танина	Светло-желтый или буровато-желтый	Светло-желтый или буровато-желтый
Раствор аммония рейнеката (соли Рейнеке) $NH_4[Cr(NH_3)_2(SCN)_4] \cdot H_2O$	Красный	Красный
Раствор натрия тетрафенилбората $Na^+[B(C_6H_5)_4]^-$	Бесцветный	Мелкокристаллический белый

Реакции оснований с общеалкалоидными осадительными реактивами используются для идентификации, определения чистоты и для количественного определения.

Различать продукты реакций оснований с общеалкалоидными реактивами можно по температурам плавления, например у пикратов и рейнекатов оснований различные температуры плавления.

Не все основания реагируют со всеми общеалкалоидными реактивами. Кофеин, например, не дает реакции с реактивом Майера. Это свойство используется для определения посторонних алкалоидов в кофеине.

Определение посторонних примесей в кофеине

Раствор кофеина 10 мл 1% не должен давать помутнения от прибавления нескольких капель реактива Майера.

Кофеин, как слабое основание, с реактивом Люголя образует бурый осадок периода только после подкисления: происходит протонирование основного центра.

Образование кофеина периодида используется для определения кофеина в кофеин-бензоате натрия йодометрическим методом (способ обратного титрования).

Чувствительность реакций некоторых органических оснований с общеалкалоидными осадительными реактивами

Лекар- ствен- ное ве- щество	Реактивы													
	фосфорномолиб- деновая кислота $\text{H}_7[\text{P}(\text{Mo}_2\text{O}_7)_6] \cdot$ H_2O , светло-жел- тый раствор		реактив Драген- дорфа KBiI_4 , оранжево-крас- ный раствор		реактив Майера K_2HgI_4 , бесцветный раствор		реактив Люголя, раствор бурого цвета		пикриновая кислота, желтый раствор		фосфорно- вольфрамовая кислота $\text{H}_7[\text{P}(\text{W}_2\text{O}_7)_6] \cdot$ H_2O , желтоватый цвет		кремневольфра- мовая кислота $\text{Hg}[\text{Si}(\text{W}_2\text{O}_7)_6] \cdot$ $n\text{H}_2\text{O}$, бесцветный раствор	
	Предель- ное раз- ведение	Ха- рактер осадка	Предель- ное раз- ведение	Цвет осад- ка	Предель- ное раз- ведение	Цвет осад- ка	Предель- ное раз- ведение	Цвет осад- ка	Предель- ное раз- ведение	Цвет осад- ка	Предель- ное раз- ведение	Цвет осад- ка	Предель- ное раз- ведение	Цвет осад- ка
Кодеин	1 : 100 000	Аморфные желтоватые осадки, которые вследствие восстановления молибдена приобретают через некоторое время синее или зеленое окрашивание	1 : 60 000	Оранжево-красные осадки	1 : 1500	Белые или желтоватые осадки	1 : 100 000	Бурые осадки (в подкисленном водном растворе)	1 : 600	Желтые осадки (пикраты)	1 : 12 000	Аморфные светло-желтые осадки	1 : 35 000	Белые осадки
Папа- верина гидро- хлорид	1 : 10 000		1 : 20 000		1 : 1200		1 : 10 000		1 : 1000		1 : 200 000		1 : 500 000	
Хинина гидро- хлорид	1 : 200 000		1 : 20 000		1 : 100 000		1 : 100 000		1 : 1500		1 : 100 000		1 : 200 000	
Пило- карпина гидро- хлорид	1 : 200 000		1 : 40 000		1 : 60 000		1 : 250 000		1 : 700		1 : 500 000		1 : 160 000	

Образование оснований пикратов, рейнекатов используется и для количественного определения двумя методами:

1) *гравиметрическим*; гравиметрическая форма — основания пикрат или рейнекат. Осадок отфильтровывают, промывают, высушивают до постоянной массы и взвешивают;

2) *фотоколориметрическим* — осадок основания пикрата или рейнеката растворяют в подходящем органическом растворителе и фотоколориметрируют. Рейнекаты растворяют в ацетоне.

Количественное определение тиамина бромид

Количественное определение тиамина бромида проводится гравиметрическим методом, основанным на образовании комплексной соли тиамина с кремневольфрамовой кислотой.

Методика. Около 0,05 г лекарственного вещества (точная навеска) растворяют в 100 мл воды, прибавляют 4 мл хлороводородной кислоты концентрированной. Быстро нагревают до кипения. К кипящему раствору приливают по каплям 4 мл 10% раствора кремневольфрамовой кислоты и кипятят 4—5 мин. Образовавшийся осадок отфильтровывают при разрежении на предварительно высушенный до постоянной массы стеклянный фильтр № 4 диаметром 2—4 см. Осадок промывают на фильтре 50 мл горячей разведенной (1 : 20) хлороводородной кислоты, 10 мл воды и ацетоном дважды по 5 мл. Фильтр с осадком высушивают до постоянной массы при 100—105 °С, охлаждают в эксикаторе над фосфора (V) оксидом и взвешивают. Масса осадка, умноженная на 0,25, соответствует количеству $C_{12}H_{17}BrN_4OS \cdot HBr \cdot \frac{1}{2}H_2O$ (тиамина бромида), которого в лекарственном веществе должно быть не менее 98,0%.

Примечание. Для приготовления растворов для внутримышечных и подкожных инъекций применяют белый кристаллический порошок тиамина бромида, выдерживающий следующее дополнительное испытание.

Раствор 0,6 г лекарственного вещества в 10 мл воды должен быть прозрачным и бесцветным.

Следует отметить, что лекарственные вещества, обладающие восстановительными свойствами, например анальгин, изониазид, реагируют с реактивом Люголя (Вагнера, Бушарда) следующим образом: при добавлении реактива по каплям происходят окислительно-восстановительные реакции с обесцвечиванием реактива ($I_2 + 2e^- \rightarrow 2I^-$), а затем при добавлении избытка реактива образуется бурый осадок периодида (основание $\cdot HI \cdot I_4$ — благодаря основным свойствам идет реакция комплексообразования). Анальгин при окислении с добавлением реактива по каплям образует окрашенные продукты реакции, а затем при добавлении избытка реактива образуется бурый осадок периодида.

Дибазол с реактивами Люголя, Вагнера, Бушарда (KI_3) дает периодид красновато-серебристого цвета, что отличает его от других лекарственных веществ — азотсодержащих оснований.

Анализ чистоты лекарственных средств

В отличие от химических веществ, которые классифицируются в зависимости от степени чистоты как «чистые», «чистые для анализа» и «химически чистые», лекарственные вещества должны быть «фармакопейного качества». В частной статье на каждое лекарственное вещество приведен перечень показателей, по которым устанавливается его чистота (внешний вид, растворимость, температура плавления или кипения, pH, цветность, примеси других веществ и ионов, зола, влажность и др.). Несоответствие лекарственного вещества одному из предусмотренных нормативной документацией (НД) показателей указывает на изменение его качества, наличие или появление примесей в процессе хранения.

Уровень требований к качеству лекарственных средств зависит не только от технологического процесса их получения, но и от способа назначения лекарственной формы; например, к лекарственным веществам, используемым в инъекционных растворах, предъявляются дополнительные требования к качеству.

Для каждого лекарственного вещества в ГФ приведен перечень показателей и норм содержания примесей, которые при определенных условиях не оказывают влияния на физические, химические и фармакологические свойства. Следует иметь в виду, что при анализе лекарственных веществ на чистоту химические реактивы не должны содержать примесей, на которые проводится испытание. Так, для определения примеси мышьяка в лекарственных средствах используется хлороводородная кислота, не содержащая мышьяка.

Для определения примесей используются специфические и высокочувствительные реакции. Специфические реакции позволяют обнаружить вещества в присутствии других веществ. *Специфичность реакции* во многом зависит от выбора оптимальных условий (добавление кислоты, щелочи, буферного раствора и др.).

Чувствительность реакции характеризуется наименьшим количеством исследуемого вещества, которое определяют соответствующими реактивами в определенных условиях.

В общей статье «Испытание на чистоту и допустимые пределы примесей» ГФ XIII указывается предельная чувствительность каждой реакции, выражаемая в миллиграммах в 1 мл раствора.

Так, предельная чувствительность реакции на ион кальция с оксалатом аммония — 0,0035 мг иона кальция в 1 мл раствора.

В лекарственных средствах могут быть примеси, появление которых связано с изменением их физических и химических свойств под действием влаги, света, кислорода, углекислого газа, тары и других факторов окружающей среды. Так, изменение окраски апоморфина гидрохлорида свидетельствует о появлении в нем продуктов окисления, образующихся при хранении под действием кислорода воздуха в связи с наличием в структуре его молекулы двух фенольных гидроксильных групп.

Для установления чистоты лекарственных веществ используются химические и физико-химические методы (УФ-спектрофотометрия, фотоколориметрия, бумажная и тонкослойная хроматография и др.). Нередко в лекарственных веществах определяют примеси, которые по химическому строению близки к основному веществу. Для их обнаружения применяют различные виды хроматографии. Так, в метандростенолоне примесь метилтестостерона определяется с помощью тонкослойной хроматографии. Иногда используют сочетание хроматографии с другими физико-химическими методами.

Для определения допустимого предела примесей в лекарственных средствах проводят их количественную оценку эталонными растворами (по цветности, мутности), а также растворов, содержащих ионы в определенной концентрации. Кроме того, допустимое количество примеси определяют путем титрования, с помощью колориметрических, спектрофотометрических, хроматографических и других методов.

На примеси, недопустимые в лекарственном средстве, проба должна быть отрицательной. Так, раствор натрия хлорида в определенной концентрации не должен давать мути от прибавления раствора виннокаменной кислоты, что указывает на отсутствие недопустимой в натрия хлориде примеси иона калия (антагонист по фармакологическому действию).

3.1. Прозрачность, степень мутности, бесцветность, степень окраски жидкостей

При оценке качества ряда лекарственных средств в ГФ XIII предусматривается определение прозрачности, бесцветности, степени мутности или окраски их растворов. Растворы сравнивают с соответствующими эталонами мутности и цветности. Прозрачной считается жидкость, если она по прозрачности не отличается от воды или используемого растворителя, или если *опалесценция* (мутность) не превышает опалесценцию (мутность) эталона I. Раствор сравнивают с растворителем, взятым для приготовления данной жидкости при освещении матовой электрической лампой (40 Вт) на черном фоне. Бесцветными по ГФ XIII считают жидкости, не отличающиеся по цвету от воды, а при испытании других растворов — от взятого растворителя, или должны быть окрашены не более интенсивно, чем эталон В₉. Испытание проводят, сравнивая жидкости при дневном отраженном свете на матово-белом фоне.

Приготовление эталонных растворов описано в общих статьях ГФ XIII «Прозрачность и степень мутности жидкостей» и «Степень окраски жидкостей». Для каждого лекарственного вещества, если в частных статьях имеются испытания по указанным показателям, предусмотрены соответствующие эталоны в зависимости от требований к качеству веществ.

В тех случаях, когда необходимо определить допустимый предел окрашенных примесей, присутствующих в лекарственном веществе или образующихся при его хранении (например, при окислении фенолов, ароматических аминов и др.), проводят сравнение с эталонами цветности и по интенсивности окраски судят о качестве лекарственного средства. Степень мутности определяют, сравнивая испытуемую жидкость с соответствующим эталоном мутности. Определяя степень окраски или мутности, жидкости берут для сравнения в равных объемах; пробирки одинакового диаметра и с одинаковой окраской стекла.

3.2. Кислотность, щелочность, рН

Определение качества лекарственных средств по указанным в заголовке показателям осуществляется несколькими способами.

а) По изменению окраски *индикатора*. Например, определение кислотности и щелочности в натрия бензоате определяют по индикатору — фенолфталеину. Раствор натрия бензоата определенной концентрации должен быть бесцветным по фенолфталеину, розовая окраска должна появляться от прибавления не более 0,75 мл 0,05 М раствора едкого натра.

б) *Титрованием*. Например, для установления допустимого предела содержания йодоводородной кислоты, образующейся при хранении 10% спиртового раствора йода, проводят титрование щелочью.

в) Путем определения *значения рН*. Для ряда лекарственных средств (и обязательно для всех инъекционных растворов) НД предусматривает определение рН. Обычно в частных статьях указан интервал рН. Несоответствие препарата НД по рН может быть следствием наличия примесей более кислого или основного характера, чем само лекарственное вещество. Подобные примеси могут появиться при хранении лекарственных средств, например, вследствие гидролиза растворов, под влиянием щелочности стекла, при взаимодействии с диоксидом углерода воздуха и т. д.

Определение рН осуществляется методикой, описание которой включено в ГФ XIII в общей статье «Ионометрия». В ОФС «Ионометрия» включено потенциометрическое определение рН.

3.3. Определение примесей ионов

Примеси ионов в лекарственных веществах появляются вследствие недостаточной их очистки. Для установления допустимого предела содержания примесей ионов в лекарственных средствах используются эталонные растворы, которые содержат соответствующий ион в определенной концентрации. Количественная оценка примеси того или иного иона проводится визуально путем сравнения мутности или окраски, образующихся после реакции на определяемый ион в эталонном и испытуемом растворах, причем используются наиболее чувствительные реакции. Учитывается также, что обнаружение искомого иона происходит в присутствии лекарственного вещества и других ионов, в связи с чем используется реактив, избирательно реагирующий с определяемым ионом, или устраняется действие лекарственного вещества и других ионов.

Отсутствие примесей, недопустимых в лекарственном веществе, устанавливают по отрицательной реакции с соответствующими реактивами. Сравнение в этом случае проводится с частью раствора, к которому добавлены все реактивы, кроме основного, обнаруживающего данную примесь. Положительная реакция свидетельствует о наличии примеси и недоброкачественности лекарственного средства.

В частных статьях указаны количества лекарственных средств, в которых регламентируется содержание той или иной примеси. В общей статье «Испытания на чистоту и допустимые пределы примесей» даны указания о приготовлении эталонных растворов и содержании соответствующего иона в них. Навеску лекарственного вещества, используемую при приготовлении раствора для проведения испытания по НД, изменять нельзя, поскольку примеси регламентируются в определенном количестве (массе или объеме) лекарственного вещества.

Если при растворении лекарственного вещества в воде создается реакция среды, при которой невозможно проведение реакции, необходимо реакцию среды довести до нужного значения pH.

Методы количественного анализа лекарственных средств

ГЛАВА 4

Количественное определение лекарственных средств

Для количественного определения лекарственных средств в субстанции и лекарственных формах предпочтительнее использовать *титриметрические* или *спектрофотометрические методы*. При этом особое внимание, как правило, обращают на правильность и воспроизводимость метода, который может быть специфичным. Последнее требование обеспечивается комплексом всех испытаний, предусмотренных в фармакопейной статье.

Значительно реже для анализа лекарственных средств используется весовой метод (гравиметрия).

Поскольку применение физических и физико-химических методов для количественного анализа лекарственных веществ изложено выше (см. гл. 1), в данной главе рассматриваются гравиметрия и титриметрические методы.

4.1. Гравиметрический метод

Гравиметрический анализ основан на точном измерении массы определяемого вещества или его составных частей, выделяемых в виде соединения точно известного постоянного состава. Для количественного определения лекарственных средств из трех вариантов гравиметрического анализа (осаждение, отгонка и выделение) чаще применяют метод осаждения, основанного на осаждении определяемого вещества в виде малорастворимого химического соединения, фильтровании, прокаливании (или высушивании) и последующем определении массы полученного вещества. При этом различают *форму осаждения* — форму, в виде которой определяемое вещество осаждают, и *гравиметрическую форму* — форму, в виде которой определяемое вещество взвешивают. Гравиметрическая форма может совпадать с формой осаждения или отличаться от нее. Иногда осадок не отфильтровывают, а извлекают в не смешивающийся с водой растворитель (например, хлороформ), который затем отгоняют, а остаток высушивают и взвешивают (например, определение солей хинина, натриевых солей барбитуратов).

Для расчета количественного содержания вещества в лекарственном средстве используют формулу:

$$P = (a \cdot 100) / b$$

где P — содержание определяемого компонента, %;
 a — масса определяемого компонента в навеске лекарственного средства, г;
 b — масса навески лекарственного вещества, г.

Если определяемый компонент взвешивают в той форме, в которой требуется выразить его содержание в процентах в исследуемом веществе, то a — масса высушенного или прокаленного осадка. Если взвешивают определяемый компонент (химическое соединение) в состав смеси, которой он входит в определенном отношении, то для нахождения массы навески лекарственного вещества (a) высушенного или прокаленного осадка g пользуются формулой:

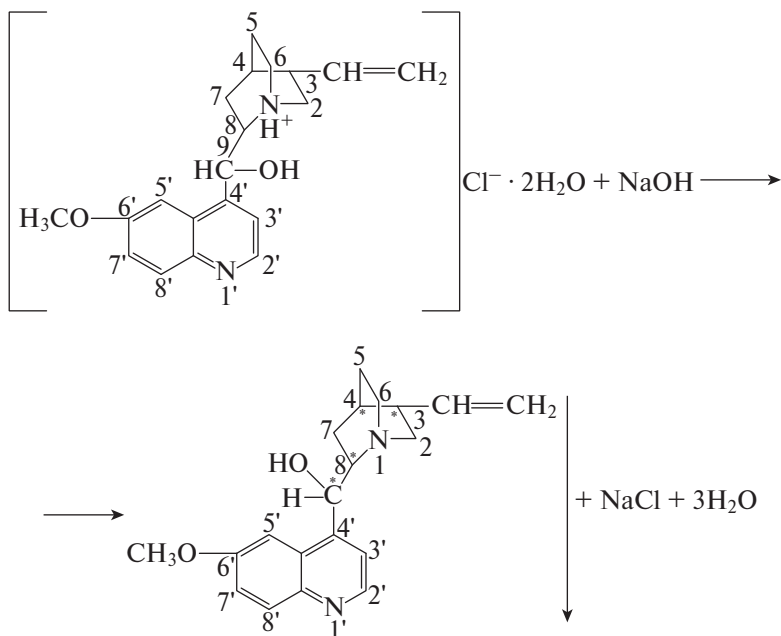
$$a = F \cdot g$$

где коэффициент F — фактор пересчета, или *гравиметрический фактор*, — отношение эквивалентной массы определяемого компонента к эквивалентной массе взвешенного соединения.

Преимуществом гравиметрического метода является высокая точность (ошибка определения 0,2—0,4% при концентрации исследуемого вещества выше 1%), недостаток — длительность выполнения операций (фильтрация или перевод в органический растворитель, высушивание и взвешивание осадка).

Соли алкалоидов, как правило, могут быть определены после осаждения основания щелочью (гравиметрическая форма — основание алкалоида) или после взаимодействия с некоторыми общеалкалоидными (осадительными) реактивами. Гравиметрический метод используется, например, для определения солей хинина, натриевых солей барбитуратов, прогестерона.

Определение хинина гидрохлорида

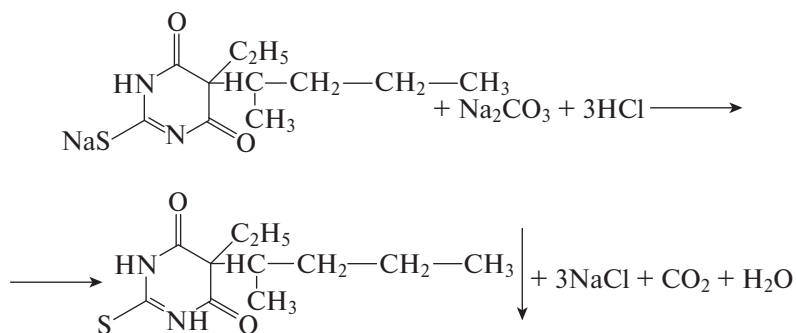


Методика. Точную навеску около 0,5 г субстанции помещают в делительную воронку вместимостью 100 мл, растворяют в 20 мл воды, прибавляют 5 мл раствора натрия гидроксида и выделившееся основание извлекают хлороформом 1 раз 20 мл и 3 раза по 10 мл. Хлороформные извлечения переносят в другую делительную воронку, промывают водой 2 раза по 10 мл. Дают жидкости хорошо расслоиться и осторожно сливают хлороформный слой через смоченный хлороформом фильтр с 1,5—2 г безводного натрия сульфата. Фильтр и сульфат натрия промывают 20 мл хлороформа, присоединяя его к основному раствору. Хлороформ отгоняют на водяной бане, к остатку прибавляют 2 мл абсолютного спирта, спирт отгоняют досуха на водяной бане. Остаток сушат при 100—105 °С до постоянной массы. При умножении массы остатка на 1,112 получаем количество хинина гидрохлорида ($C_{20}H_{24}N_2O_2 \cdot HCl$) во взятой навеске. Содержание хинина гидрохлорида ($C_{20}H_{24}N_2O_2 \cdot HCl$) в пересчете на сухое вещество должно быть не менее 99,0%.

Этот же метод используют для количественного определения хинина дигидрохлорида и хинина сульфата.

При количественном определении натриевых солей барбитуратов гравиметрической формой являются их кислотные формы, которые получают при взаимодействии натриевых солей барбитуратов с хлороводородной кислотой.

Определение тиопентала натрия

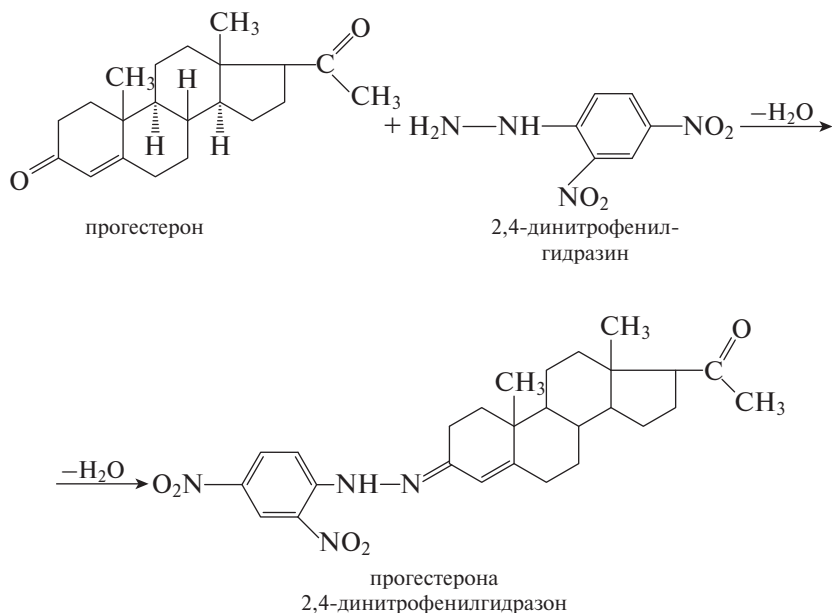


Методика. Точную навеску около 0,3 г субстанции помещают в делительную воронку и растворяют в 20 мл воды. Прибавляют 5 мл хлороводородной кислоты разведенной и извлекают последовательно 25, 25, 20, 10 и 10 мл хлороформа. Хлороформные извлечения соединяют, хлороформ отгоняют и остаток сушат при 70 °С до постоянной массы.

Содержание 5-(1-метилбутил)-5-этилтиобарбитуровой кислоты в субстанции в пересчете на сухое вещество должно быть не менее 84,0% и не более 87,0%.

Определение прогестерона

Определение основано на образовании 2,4-динитрофенилгидразона при взаимодействии препарата с 2,4-динитрофенилгидразином:



Методика. К точной навеске 0,06 г субстанции прибавляют 0,18 г 2,4-динитрофенилгидразина, 45 мл 95% спирта и кипятят до растворения на водяной бане в колбе с обратным холодильником. Затем прибавляют 3 мл хлороводородной кислоты концентрированной и кипятят еще 15 мин. Содержимое колбы охлаждают до комнатной температуры и фильтруют через взвешенный стеклянный фильтр № 3 или № 4, причем сначала декантируют раствор, а затем переносят осадок на фильтр 95% спиртом. Осадок промывают 60 мл 0,5 М раствором хлороводородной кислоты, затем водой до отрицательной реакции на хлориды и после этого 95% спиртом (5 раз по 10 мл). Спирт для промывания охлаждают льдом. Промытый осадок сушат при 100 °С до постоянной массы. Масса осадка, умноженная на 0,466, соответствует количеству прогестерона во взятой навеске.

Содержание прогестерона (C₂₁H₃₀O₂) должно быть не менее 98,5%.

4.2. Титриметрические методы

Титриметрические методы в зависимости от типа реакций разделяют на четыре группы: *осадительные, нейтрализации* (кислотно-основные), *комплексометрические* и *окислительно-восстановительные*. Они отличаются друг от друга природой используемых равновесий, индикаторами, стандартными растворами, а также способом определения эквивалентной массы. Наряду с этой классификацией в практике часто применяют разделение объемных методов в соответствии с типом веществ, используемых в качестве титрантов, например алкалиметрия, ацидиметрия, аргентометрия, комплексонометрия, перманганатометрия, йодометрия и т. д. По способу проведения титрования различают *методы прямого и обратного титрования*.

Химические титриметрические методы количественного анализа имеют относительную погрешность, равную 0,3—0,5%, при массе определяемого вещества 0,1—0,5 г.

Причинами ошибок являются измерительные инструменты (весы, мерная колба, пипетка, бюретка) и фиксирование конечной точки титрования (КТТ). Для повышения правильности определения ставят контрольный опыт. Он заключается в проведении всех операций, предусмотренных методикой, в отсутствии определяемого компонента. Результат контрольного опыта вычитают из результата определения.

4.2.1. Кислотно-основное титрование в водных и неводных средах

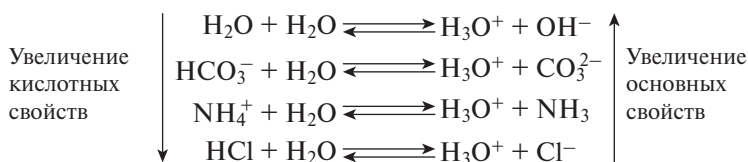
Согласно наиболее признанной теории кислот и оснований — *протолитической теории* Брёнстеда—Лоури, кислотно-основные реакции протекают за счет переноса протона от кислоты к основанию. Иначе говоря, кислота является донором, а основание — акцептором протонов.

Кислота и основание, которые различаются содержанием протона, называются *сопряженными*, например H_2O и OH^- , NH_4^+ и NH_3 ; CH_3COOH и CH_3COO^- .

Метод кислотно-основного титрования основан на реакциях кислотно-основного взаимодействия, которое в общем виде можно представить следующим образом:



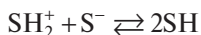
Кислоты (нейтральные молекулы, катионы или анионы) могут отдавать протон растворителю или протон-координирующему основанию, при этом образуется ион гидроксония H_3O^+ или в общем случае *ониевый ион*. Чем сильнее донорная кислота, тем слабее соответствующее акцепторное основание:



Сила кислоты или основания в значительной степени зависит от кислотно-основных свойств растворителя. В любом растворителе самой сильной кислотой является сольватированный протон¹ — *ион лиония*, а самым сильным основанием — *ион лиата* (анион растворителя). Так, в водном растворе самая сильная кислота — ион гидроксония H_3O^+ , а самое сильное основание — ион гидроксида OH^- ; в жидком аммиаке самая сильная кислота — ион аммония NH_4^+ , а самое сильное основание — амидный ион, в ледяной кислоте уксусной самое сильное основание — ацетат-ион CH_3COO^- , а самая сильная кислота — ион ацетония $\text{CH}_3\text{COOH}_2^+$.

¹ Вследствие малого размера протон обладает высокой поляризующей способностью и не может существовать в растворе в свободном виде.

Таким образом, метод кислотно-основного титрования основан на следующих реакциях:



где SH — растворитель.

В частности, для водных растворов:



Сила кислоты в водном растворе определяется тем, насколько полно она будет отдавать протоны молекулам воды, а основания — насколько полно оно акцептирует протоны молекул воды, и оценивается константой равновесия реакции переноса протона между ними и молекулой растворителя. **Чем больше константа равновесия, тем сильнее кислота или основание.** Константу равновесия (константу кислотности) для кислоты обозначают — K_a , для основания — K_b . Так как константа кислотности (основности) очень мала, то применяют силовой показатель — показатель кислотности pK_a и показатель основности pK_b

$$\begin{aligned} pK_a &= -\lg K_a \\ pK_b &= -\lg K_b \end{aligned}$$

Хлористый водород в воде ($\text{HCl} + \text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{Cl}^- + \text{H}_3\text{O}^+$) сильная кислота, так как передача протона от HCl к H_2O происходит в большей степени, чем присоединение Cl^- к H_3O^+ , равновесие реакции смещено значительно вправо и $K_a > 1$. Сильными кислотами являются HClO_4 , H_2SO_4 , HI, HNO_3 и др. У слабых кислоты протонодонорная способность слабее, чем у ионов гидроксония, и K_a мала: например, K_a уксусной кислоты равна $1,74 \cdot 10^{-5}$.

Непосредственным титрованием стандартными растворами щелочей и сильных кислот определяют содержание растворимых в воде сильных и слабых кислот и оснований, а также солей, образованных сильными основаниями и слабыми кислотами, например натрия гидрокарбоната, натрия тетрабората и др. Константы для кислот и оснований (K_a и K_b) должны быть не менее 10^{-7} , так как величина скачка титрования существенно зависит от K_a .

Растворы определяемых кислот и оснований не должны быть сильно разведенными, поскольку величина скачка титрования зависит от концентрации титруемой кислоты или основания.

Кроме прямого титрования, применяются обратное титрование (по остатку) и титрование по заместителю.

Обратное кислотно-основное титрование принято для веществ, реагирующих со щелочами и сильными кислотами медленно, но практически необратимо. К этой группе веществ относятся малорастворимые в воде оксиды и карбонаты, например магния оксид, магния карбонат основной.

Титрование по заместителю (косвенное титрование) используется для веществ, обладающих слабовыраженными кислотно-основными свойствами или практически не обладающими ими, например, титрование теофиллина, теобромина, прегнина по азотной кислоте, которая выделяется при реакции указанных веществ с серебром нитратом.

При прямом определении результат анализа характеризуется меньшей ошибкой, чем при определении по остатку и заместителю.

Стандартными реагентами в методе кислотно-основного титрования всегда служат сильные кислоты или сильные основания, так как реакция с их участием протекает более полно, чем с участием их слабых аналогов.

Определить КТТ можно двумя способами: визуально (индикаторный способ) и инструментально (чаще потенциометрически). Для анализа лекарственных средств чаще применяется индикаторный способ.

Кислотно-основные индикаторы, как правило, являются органическими соединениями, проявляющими свойства слабых кислот или оснований. Их можно разделить на несколько групп:

- 1) фталейновые индикаторы (фенолфталеин и тимолфталеин), которые бесцветны в умеренно кислых растворах и окрашены в щелочных растворах;
- 2) сульфопталейновые индикаторы, среди которых находит применение феноловый красный;
- 3) азоиндикаторы (метилловый оранжевый и метилловый красный), которые с увеличением щелочности среды меняют окраску — становятся не красными, а желтыми; точка перехода окраски индикатора несколько смещена в кислую область.

При визуальном определении КТТ с кислотно-основным индикатором ошибка в среднем составляет около $\pm 0,5$ pH. Сравнение окрасок титруемого раствора с окраской стандартного раствора, содержащего такое же количество индикатора («свидетель») при соответствующем pH, часто позволяет снизить ошибку до 0,1 единицы pH и меньше. Интервалы pH и изменение цвета некоторых индикаторов представлены в табл. 4.1.

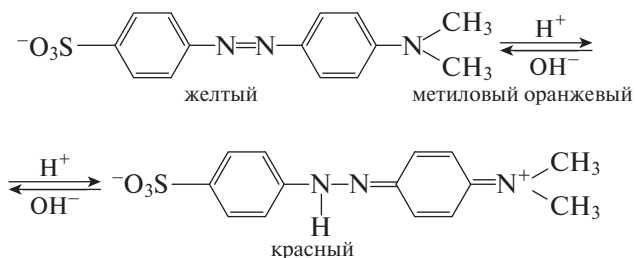
Таблица 4.1

Интервалы pH и изменение цвета некоторых индикаторов

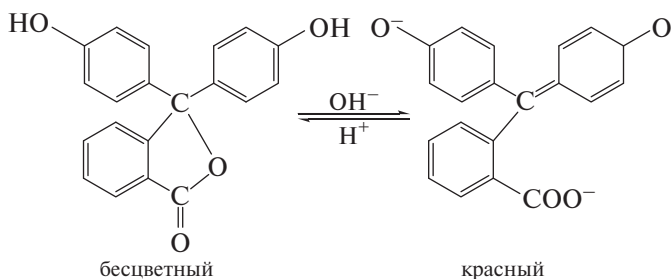
Индикатор	Интервал pH перехода цвета	Изменение цвета
Тимоловый синий	1,2—2,8	Красный-желтый
Тропеолин 00	1,4—3,2	Красный-желтый
Метилловый фиолетовый	1,5—3,2	Зеленый-фиолетовый
Метилловый оранжевый	3,0—4,4	Красный-желтый
Бромфеноловый синий	3,0—4,6	Желтый-фиолетово-синий
Метилловый красный	4,2—6,3	Красный-желтый
Лакмид	4,4—6,2	Красный-синий
Бромтимоловый синий	6,0—7,6	Желтый-синий
Нейтральный красный	6,8—8,0	Красный-желтый
Феноловый красный	6,8—8,4	Желтый-красный
Тимоловый синий	8,0—9,6	Желтый-синий
Фенолфталеин	8,2—10,0	Бесцветный-красный
Тимолфталеин	9,4—10,5	Бесцветный-синий
Ализариновый желтый Р	10,1—12,1	Желтый-лиловый

На примерах метилового оранжевого, фенолфталеина и фенолового красного рассмотрим изменение цвета этих индикаторов и их химической структуры в зависимости от реакции среды.

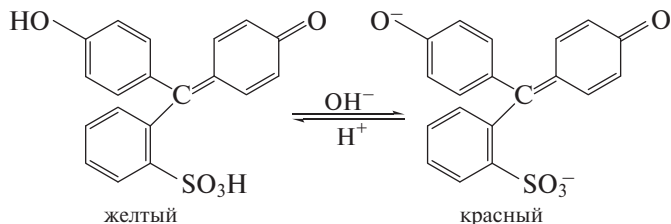
Желтая окраска метилового оранжевого обусловлена хромофорной азо-группой $-N=N-$. В кислой среде бензоеидная система превращается в бензоидно-хиноидную, и окраска становится красной.



При добавлении к бесцветному раствору фенолфталейна щелочи происходит раскрытие лактонного кольца и выделение молекулы воды с образованием хиноидной структуры и ионизацией карбоксильной группы и фенольного гидроксидила.



Феноловый красный (фенолсульфопталейн) в кислой среде имеет желтую окраску благодаря хиноидной структуре. В щелочной среде образуется дианион (происходит ионизация сульфогруппы и фенольного гидроксидила) с сохранением хиноидной структуры.



4.2.1.1. Титрование в водной среде

4.2.1.1.1. Титрование кислот и солей слабых оснований и сильных кислот

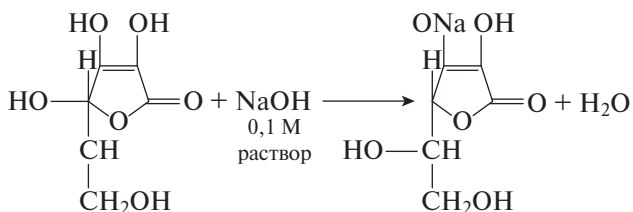
Сильные кислоты титруют стандартным раствором натрия гидроксида по индикатору метилому оранжевому.

Определение хлороводородной кислоты

Методика. В небольшую коническую колбу с притертой пробкой наливают 10 мл воды и точно взвешивают, затем прибавляют 3 мл хлороводородной кислоты или 10 мл хлороводородной кислоты разведенной, закрывают пробкой и снова точно взвешивают. Полученный раствор титруют 1 М раствором натрия гидроксида (индикатор метиловый оранжевый). Раствор натрия гидроксида объемом 1 мл 1 М соответствует 0,03646 г HCl, которого должно быть не менее 24,8 и не более 25,2% (хлороводородная кислота), не менее 8,2 и не более 8,4% (хлороводородная кислота разведенная).

Более слабые кислоты титруют, используя индикаторы, изменяющие окраску в щелочной среде (фенолфталеин, феноловый красный). Для растворимых в воде лекарственных веществ растворителем служит вода, для карбоновых кислот, большинство из которых нерастворимы в воде, растворителями являются 95% спирт, реже — ацетон.

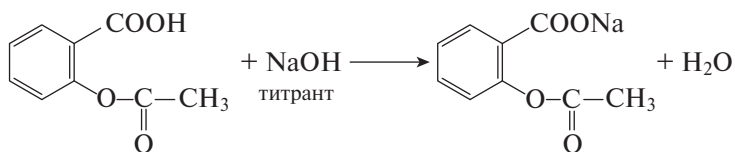
Определение аскорбиновой кислоты



Методика. Точную навеску около 0,3 г субстанции растворяют в 25 мл воды и титруют 0,1 М раствором натрия гидроксида до розового окрашивания (индикатор — фенолфталеин), 1 мл 0,1 М раствора NaOH соответствует 0,01761 г аскорбиновой кислоты.

Определение ацетилсалициловой кислоты

Ацетилсалициловую кислоту во избежание гидролиза по сложноэфирной группе растворяют в охлажденном до 8—10 °С нейтральном 95% спирте и титруют 0,1 М раствором натрия гидроксида (индикатор — фенолфталеин).

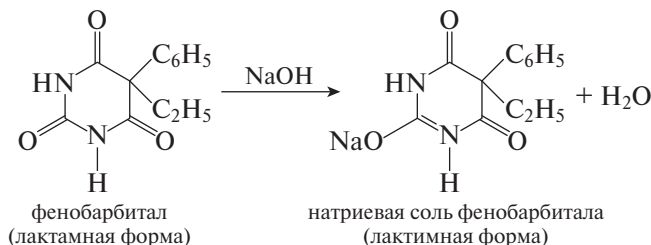


Методика. Точную навеску около 0,5 г субстанции растворяют в 10 мл нейтрализованного по фенолфталеину (5—6 капель) и охлажденного до 8—10 °С спирта. Раствор титруют с тем же индикатором 0,1 М раствором натрия гидроксида до розового окрашивания.

Раствор натрия гидроксида объемом 1 мл 0,1 М соответствует 0,01802 г ацетилсалициловой кислоты (C₉H₈O₄), которой в препарате должно быть не менее 99,5%.

Определение фенобарбитала

Фенобарбитал, как более сильную кислоту по сравнению с барбиталом (pK_a — 7,3 и 7,5 для различных полиморфных форм), растворяют в нейтрализованном по тимолфталейну спирте и титруют 0,1 М раствором натрия гидроксида по тому же индикатору.



Методика. В две одинаковые колбы вместимостью 100 мл вливают по 10 мл спирта, нейтрализованного по тимолфталейну 0,1 М раствором натрия гидроксида до устойчивого голубого окрашивания. В одну из колб вносят точную навеску около 0,5 г субстанции, в другую колбу прибавляют 20 мл свежeproкипяченной и охлажденной воды. Раствор фенобарбитала титруют 0,1 М раствором натрия гидроксида до получения окраски, одинаковой с окраской контрольного опыта.

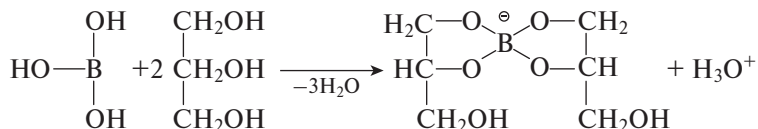
1 мл 0,1 М раствора натрия гидроксида соответствует 0,02322 г фенобарбитала, которого должно быть не менее 99,5%.

Определение борной кислоты

Борная кислота — слабая; как кислота Льюиса, она образует с водой донорно-акцепторный комплекс, который, как слабая кислота Брэнстеда, частично образует ион гидроксония. Поэтому титровать борную кислоту в водной среде невозможно.

Известные методы определения борной кислоты основаны на том, что она реагирует с многоатомными спиртами с образованием хелатных комплексов, которые являются довольно сильными кислотами и могут быть оттитрованы стандартным раствором натрия гидроксида по фенолфталейну.

Чаще всего титрование проводят в присутствии нейтрального глицерина.

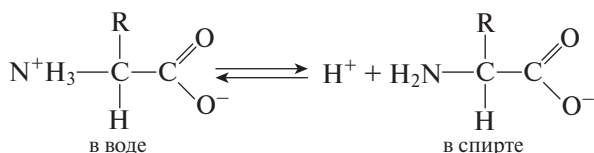


Методика. Точную навеску около 0,2 г субстанции растворяют в 10 мл свежeproкипяченной и охлажденной воды, прибавляют 40 мл глицерина, предварительно нейтрализованного по фенолфталейну. Раствор перемешивают, прибавляют 15 капель раствора фенолфталейна и титруют 0,1 М раствором натрия гидроксида до розового окрашивания. Затем к раствору прибавляют еще 10 мл нейтрализованного глицерина, и если розовая окраска раствора при этом исчезает, снова титруют до появления розовой окраски раствора. Добавление глицерина и титрование натрия гидроксидом продолжают до тех пор, пока от последних 10 мл нейтрализованного глицерина розовая окраска раствора не перестанет исчезать.

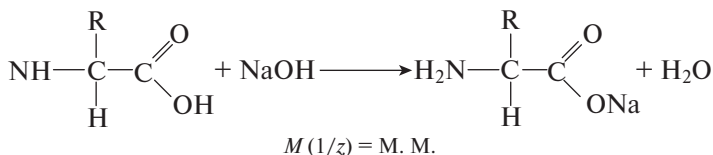
1 мл 0,1 М раствора натрия гидроксида соответствует 0,006183 г H_3BO_3 , которой в препарате должно быть не менее 99,5%.

Определение аминокислот алифатического ряда

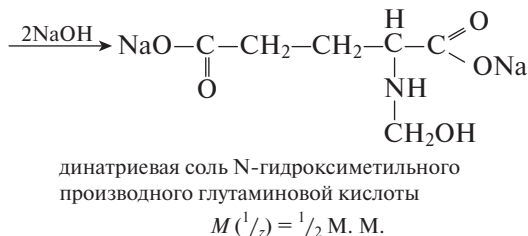
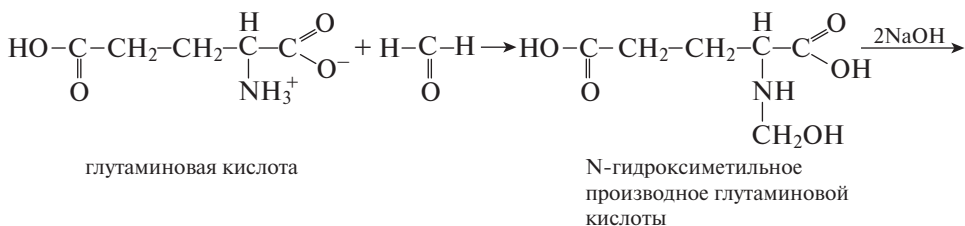
В водных растворах аминокислоты находятся в виде внутренней соли (цвиттер-иона), а при растворении в спирте цвиттер-ионы не образуются.



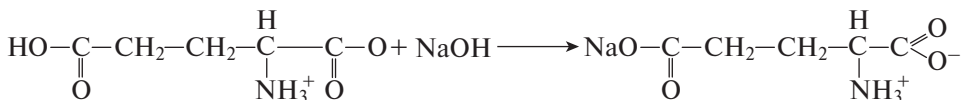
Поэтому в спиртовой среде аминокислоты можно титровать стандартным раствором натрия гидроксида по фенолфталеину.



Мешающее влияние аминогруппы в водном растворе можно устранить добавлением раствора формальдегида; при этом образуется N-гидроксиметильное производное аминокислоты. В этом случае можно использовать метод алкалиметрии (формольное титрование).



Двухосновная глутаминовая кислота в водном растворе титруется как одноосновная по индикатору бромтимоловому синему:



Определение глутаминовой кислоты

Методика. Точную навеску около 0,3 г глутаминовой кислоты помещают в коническую колбу вместимостью 100 мл и при слабом нагревании растворяют в 50 мл свежeproкипяченной воды. К охлажденному раствору прибавляют 5 капель спиртового раствора бромтимолового синего и титруют 0,1 М раствором натрия гидроксида до перехода желтой окраски в голубовато-зеленую. $M(1/z) = M \cdot M$.

1 мл 0,1 М раствора натрия гидроксида соответствует 0,1471 г глутаминовой кислоты ($C_6H_9NO_4$), которой должно быть не менее 98,5%.

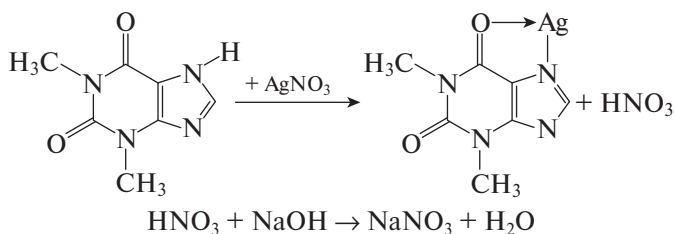
В присутствии раствора формальдегида или в спиртовом растворе кислота глутаминовая титруется раствором натрия гидроксида как двухосновная.

Определение некоторых лекарственных средств методом косвенной нейтрализации

Метод косвенной нейтрализации, основанный на выделении кислоты азотной при взаимодействии лекарственного вещества с раствором серебра нитрата, применяется для количественного определения теобромина и теофиллина, прегнина и этинилэстрадиола. Выделившуюся кислоту азотную титруют раствором натрия гидроксида.

Определение теофиллина

В основе определения теофиллина лежат реакции:



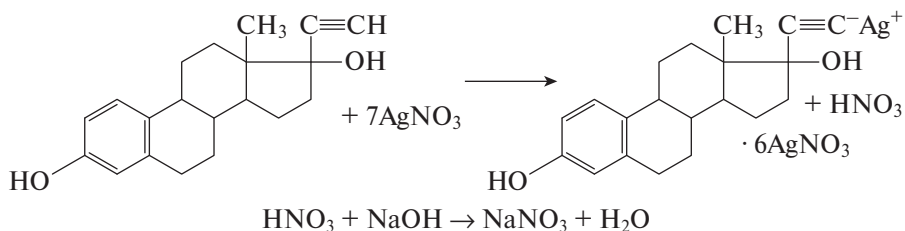
Методика. Точную навеску около 0,4 г предварительно высушенного лекарственного вещества растворяют в 100 мл кипящей воды (предварительно прокипяченной в течение 5 мин). К охлажденному раствору прибавляют 25 мл 0,1 М раствора серебра нитрата, 1—1,5 мл раствора фенолового красного и титруют 0,1 М раствором натрия гидроксида до появления фиолетово-красного окрашивания. 1 мл 0,1 М раствора натрия гидроксида соответствует 0,01802 г $C_7H_8N_4O_2$, которого в высушенном веществе должно быть не менее 99,0%.

Этот же метод лежит в основе количественного определения теофиллина в эуфиллине.

В молекулах этинилэстрадиола и прегнина содержится этинильный радикал $-\text{C}\equiv\text{CH}$, атом водорода которого может легко выделяться в виде протона и замещаться атомами металлов с образованием солей — ацетилидов.

Определение этинилэстрадиола

С серебром нитратом этинилэстрадиол образует двойную соль, состоящую из серебряной соли этинилэстрадиола и шести молекул серебра нитрата. Выделившуюся азотную кислоту титруют раствором натрия гидроксида.



Методика. Точную навеску около 0,2 г субстанции растворяют в 40 мл тетрагидрофурана, прибавляют 10 мл 10% раствора серебра нитрата и титруют 0,1 М раствором натрия гидроксида. КТТ определяют потенциометрически.

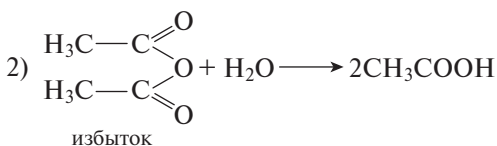
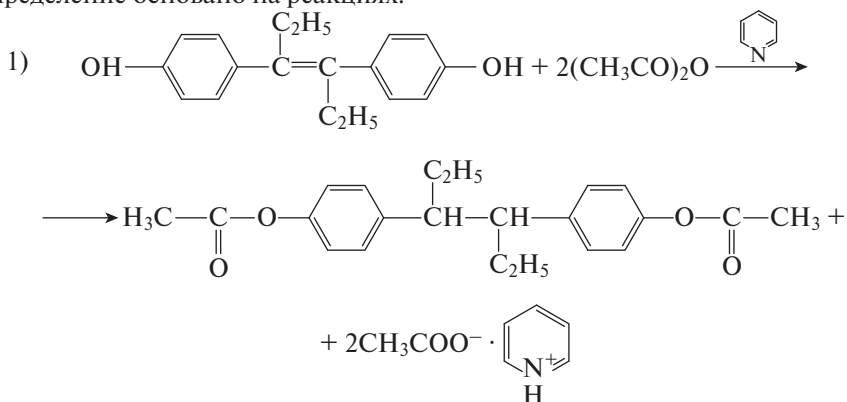
1 мл 0,1 М раствора натрия гидроксида соответствует 0,02964 г этинилэстрадиола, которого должно быть не менее 99,0%. $M(1/z) = M$. М.

Определение фенолов, енолов и спиртов методом ацетилирования

На реакции ацетилирования енольного, спиртового или фенольного гидроксидов уксусным ангидридом с последующим превращением (при добавлении воды) избытка уксусного ангидрида в уксусную кислоту с титрованием последней и выделившейся после ацетилирования лекарственного средства раствором натрия гидроксида основано количественное определение ментола, синэстрола, диэтилстильбэстрола и др.

Определение диэтилстильбэстрола

Определение основано на реакциях:



Методика. Точную навеску около 0,5 г субстанции помещают в колбу для ацелирования вместимостью 200—250 мл, прибавляют пипеткой 5 мл раствора ангидрида уксусного в пиридине, присоединяют колбу к обратному хо-

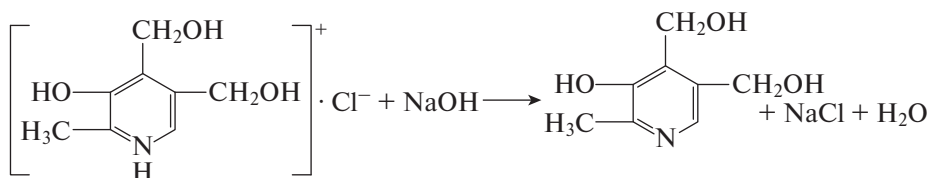
лодильнику и нагревают в течение 45 мин на кипящей водяной бане. Раствор охлаждают, прибавляют через холодильник 25 мл воды и через 10—15 мин титруют при энергичном перемешивании 0,5 М раствором натрия гидроксида (индикатор — фенолфталеин). Параллельно проводят контрольный опыт. Разность между количеством миллилитров 0,5 М раствора натрия гидроксида, израсходованного на титрование контрольного опыта и исследуемого раствора, пересчитывают на диэтилстильбэстрол.

1 мл 0,5 М раствора натрия гидроксида соответствует 0,06709 г диэтилстильбэстрола, которого в субстанции должно быть не менее 99,0% и не более 101,5%. $M(1/z) = 1/2 M. M.$

Определение солей органических оснований

Соли органических оснований (соли алкалоидов, пиридоксина гидрохлорид, хинозол, дипразин и др.) можно титровать раствором натрия гидроксида, определяя, таким образом, их по кислотному остатку. В качестве индикатора чаще применяют фенолфталеин, иногда бромтимоловый синий.

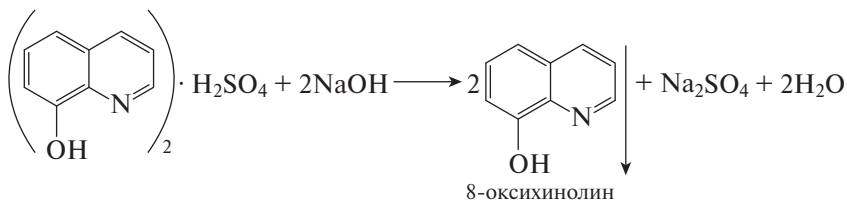
Определение пиридоксина гидрохлорида



Методика. Около 0,1 г субстанции (точная навеска) растворяют в воде в мерной колбе вместимостью 50 мл; объем доводят водой до метки и перемешивают. К 20 мл этого раствора прибавляют 2—3 капли раствора бромтимолового синего и титруют из микробюретки 0,1 М раствором натрия гидроксида до голубой окраски.

1 мл 0,1 М раствора натрия гидроксида соответствует 0,02056 г пиридоксина гидрохлорида, которого должно быть не менее 98,5% и не более 100,5%. $M(1/z) = M. M.$

Определение хинозола



Методика. Так как основание хинозола (8-оксихинолин) может за счет фенольного гидроксила реагировать с натрия гидроксидом, его переводят в хлорформ.

Около 0,5 г субстанции (точная навеска) растворяют в 50 мл свежeproкипяченной и охлажденной воды в колбе с притертой пробкой, прибавляют 20 мл

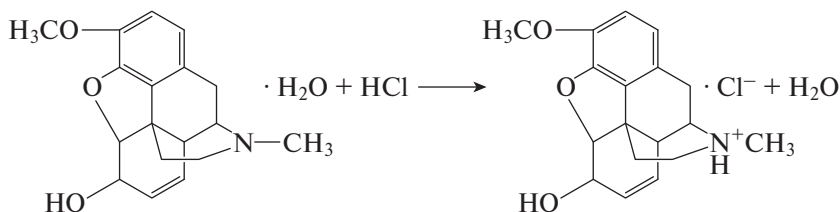
хлороформа и титруют при энергичном встряхивании 0,1 М раствором натрия гидроксида до появления розового окрашивания водного слоя (индикатор — фенолфталеин).

1 мл 0,1 М раствора натрия гидроксида соответствует 0,01942 г $(\text{C}_9\text{H}_7\text{NO})_2 \cdot \text{H}_2\text{SO}_4$, которого должно быть не менее 98,0%. $M(1/z) = 1/2 M$.

4.2.1.1.2. Титрование оснований и солей сильных оснований и слабых кислот

Некоторые лекарственные средства, относящиеся к основаниям, и соли сильных оснований и слабых кислот могут быть определены количественно путем титрования растворами хлороводородной кислоты (0,1 М или 0,5 М). Более сильные основания, например кодеин, титруют по индикатору метиловому красному; более слабые, например гексаметиленetetрамин, — по метиловому оранжевому.

Определение кодеина

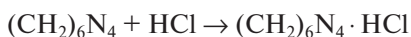


Методика. Около 0,3 г субстанции (точная навеска) растворяют при слабом нагревании в 2 мл спирта, нейтрализованного по индикатору метиловому красному; прибавляют 20 мл свежепрокипяченной и охлажденной воды и титруют 0,1 М раствором хлороводородной кислоты до розового окрашивания (индикатор — метиловый красный).

1 мл 0,1 М раствора хлороводородной кислоты соответствует 0,02994 г $\text{C}_{18}\text{H}_{21}\text{NO}_3$ (кодеина), которого в пересчете на сухое вещество должно быть не менее 99,0%. $M(1/z) = M$.

Определение гексаметилентетрамина

Определение основано на титровании гексаметилентетрамина, как однокислотного основания, 0,1 М раствором хлороводородной кислоты.



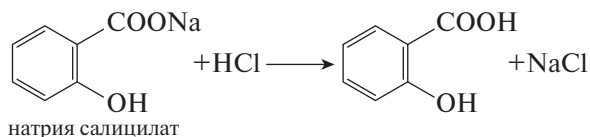
Методика. Около 0,2 г субстанции (точная навеска) растворяют в 20 мл воды, прибавляют 2 капли раствора индикатора метилового оранжевого, 1 каплю метиленового синего и титруют 0,1 М раствором хлороводородной кислоты до фиолетового окрашивания.

1 мл 0,1 М раствора хлороводородной кислоты соответствует 0,0140 г гексаметилентетрамина, которого должно быть не менее 99,0%. $M(1/z) = M$.

Определение натрия бензоата и натрия салицилата

Определение проводится путем титрования водных растворов субстанций 0,5 М раствором хлороводородной кислоты по смешанному индикатору в при-

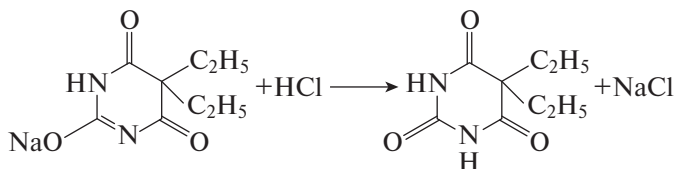
сутствии эфира (для извлечения выделяющихся бензойной и салициловой кислот).



Методика. Около 1,5 г субстанции (точная навеска) растворяют в 20 мл воды в колбе с притертой пробкой вместимостью 250 мл, прибавляют 45 мл эфира, 3—4 капли смешанного индикатора (1 мл раствора метилового оранжевого и 1 мл раствора метиленового синего) и титруют 0,5 М раствором хлороводородной кислоты до появления сиреневой окраски в водном слое. В конце титрования содержимое колбы хорошо встряхивают.

1 мл 0,5 М раствора хлороводородной кислоты соответствует 0,07205 г $\text{C}_7\text{H}_5\text{NaO}_2$ (натрия бензоата), которого в пересчете на сухое вещество должно быть не менее 99,0%, или 0,8005 г $\text{C}_7\text{H}_5\text{NaO}_3$ (натрия салицилата), которого должно быть не менее 99,5%. $M(1/z) = M \cdot M$.

Определение барбитал-натрия



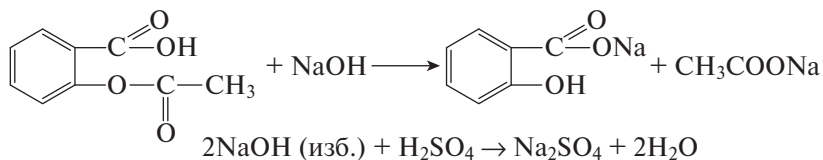
Методика. Около 0,5 г субстанции (точная навеска) растворяют в 30 мл свежeproкипяченной и охлажденной воды и титруют 0,1 М раствором хлороводородной кислоты до появления розового окрашивания (индикатор — метиловый оранжевый).

1 мл 0,1 М раствора хлороводородной кислоты соответствует 0,02062 г барбитал-натрия, которого должно быть не менее 99,0% и не более 101,5%. $M(1/z) = M \cdot M$.

Определение сложных эфиров

Лекарственные вещества, содержащие в своем составе сложноэфирную группу (например, ацетилсалициловая кислота, фенолсалицилат, эстрадиола дипропионат), могут быть определены с помощью реакции гидролитического расщепления избытком стандартного раствора натрия гидроксида с последующим титрованием избытка щелочи стандартным раствором кислоты.

Определение ацетилсалициловой кислоты



Методика. К точной навеске ацетилсалициловой кислоты около 0,29 г прибавляют 50 мл 0,1 М раствора натрия гидроксида, не содержащего карбонатов, и нагревают с обратным холодильником в течение 10 мин. Титруют избыток натрия гидроксида 0,05 М раствором серной кислоты, используя в качестве индикатора раствор фенолфталеина в 95% спирте. Повторяют определение без испытуемого лекарственного вещества и вносят необходимые поправки.

1 мл 0,1 М раствора натрия гидроксида, не содержащего карбонатов, соответствует 9,008 мг $C_9H_8O_4$ (ацетилсалициловой кислоты), которой должно быть не менее 99,0% и не более 100,5% в пересчете на высушенное вещество (МФ III).

4.2.1.2. Титрование в неводных растворителях

Метод кислотно-основного титрования в неводных растворителях применяется для количественного определения слабых кислот с $K_a < 10^{-8}$ (барбитураты, сульфаниламиды и др.), слабых оснований с $K_b < 10^{-8}$ (кофеин, резерпин и др.), солей органических оснований (солей алкалоидов и др.), титрование которых в воде затруднено или невозможно из-за слабых кислотно-основных свойств. Этот метод позволяет с большой точностью определять многие лекарственные средства, которые при титровании в водных растворах не дают резких КТТ. Чаще всего КТТ определяют индикаторным или потенциометрическим способом.

Под влиянием неводных растворителей резко изменяются свойства различных веществ. В зависимости от растворителя одно и то же вещество может проявлять свойства кислоты, основания, амфотерного или нейтрального соединения, быть сильным или слабым электролитом.

Сила кислоты или основания определяется степенью их взаимодействия с растворителем. По характеру участия в кислотно-основном процессе все растворители разделяют на две большие группы: апротонные и протолитические.

Апротонные растворители — это химические соединения нейтрального характера, молекулы которых не ионизированы и не способны ни отдавать, ни присоединять протоны. Они не вступают во взаимодействие с растворенным веществом, например многие углеводороды (бензол, толуол, гексан) и их галогенопроизводные (хлороформ, четыреххлористый углерод, дихлорэтан и др.). Апротонные растворители часто добавляют к так называемым ионизирующим растворителям для подавления сольволиза (термин, сравнимый с гидролизом в водной среде) продукта нейтрализации, что способствует более четкому установлению конца титрования.

Протолитические растворители — это химические соединения, молекулы которых способны отдавать или присоединять протоны, они участвуют в кислотно-основном процессе. К ним относятся все растворители, не входящие в первую группу. Протолитические растворители разделяют на три группы.

1) *Амфипротонные* (амфотерные, амфолиты) растворители, которые могут как отдавать, так и присоединять протоны. К ним относятся многоосновные спирты и другие соединения.

2) *Протогенные*, или кислые, растворители, у которых способность отдавать протон значительно превышает способность к его присоединению. К этой группе относятся муравьиная, уксусная, пропионовая и прочие кислоты. Протогенные растворители усиливают основные свойства соединений.

3) *Протофильные*, или основные, растворители. К ним относятся химические соединения основного характера, которые отличаются ярко выраженным сродством к протону, например жидкий аммиак, пиридин, диметилформамид, бутиламин, этилендиамин и др. У основных растворителей акцепторные свойства по отношению к протону преобладают над донорными. Протофильные растворители усиливают кислотные свойства соединений.

В случае сильных или умеренно сильных кислот (табл. 4.2) и оснований (табл. 4.3) используют растворители основного или кислотного характера. При титровании слабых кислот или оснований основные и кислотные растворители желательно разбавлять инертными.

Таблица 4.2
Сравнительная сила кислот и оснований в зависимости от величины pK

Кислота	pK_a	Основание	pK_b
Сильная	$<2,0$	Сильное	$<8,0$
Умеренно сильная	$2,0-8,0$	Умеренно сильное	$8,0-12,0$
Слабая	$8,0-10,0$	Слабое	$>12,0$
Очень слабая	$>10,0$		

Таблица 4.3
Значения pK_b для некоторых оснований

Основание	pK_b	Основание	pK_b
Атропин	4,35	Папаверин	8,10
Эфедрин	4,68	Теобромин	13,32
Стрихнин	6,00	Кофеин	13,39
Кодеин	6,05	Никотинамид	13,60
Морфин	6,17		

Для отдельного титрования смесей различных кислот или оснований, титрования двухосновных кислот или двухкислотных оснований по ступеням диссоциации, а также для титрования солей по вытеснению кислотой или основанием используют дифференцирующие растворители: ацетон, диоксан и их смеси с метиловым спиртом, нитробензол, нитрометан, метилэтилкетон (табл. 4.4).

Таблица 4.4

Некоторые неводные растворители, индикаторы, электроды и титранты

Растворители	Индикаторы	Титранты
Кислые		
Уксусная и муравьиная кислоты, уксусный ангидрид и их смеси с другими растворителями	Кристаллический фиолетовый, судан III, тропеолин 00, метиловый фиолетовый, нейтральный красный, малахитовый зеленый, диметиламиноазобензол	Раствор хлорной кислоты в уксусной кислоте ледяной или в нитрометане
Основные		
Диметилформамид, пиридин, этилендиамин, бутиламин	Тимоловый синий, бромтимоловый синий, α -нафтолбензеин, <i>орто</i> -нитроанилин	Растворы натрия и калия гидроксидов в смеси метанола и бензола, метоксид лития, гидроксид тетрабутиламмония в метиловом спирте или в смеси метилового спирта и бензола
Дифференцирующие		
Ацетон, диоксан, нитрометан, метилэтилкетон, метиловый спирт, изопропиловый спирт, третичный бутиловый спирт, диметилсульфоксид	Метиловый оранжевый, тимоловый синий, бромфеноловый синий, нейтральный красный, метиловый красный, бромтимоловый синий	Растворы хлороводородной кислоты в метиловом спирте или в гликолевых смесях; растворы хлорной кислоты в нитрометане, в метиловом спирте или в гликолевых смесях; растворы, применяемые при титровании в основных растворителях

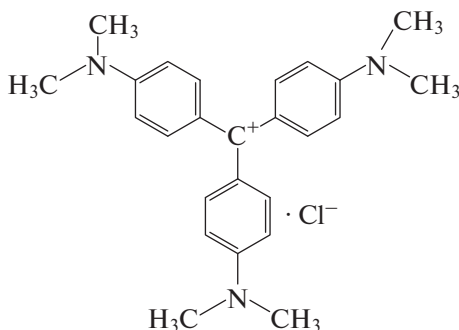
4.2.1.2.1. Титрование оснований и их солей

При количественном определении оснований и их солей растворителем обычно применяют уксусную и муравьиную кислоты безводную и ледяную, которые усиливают основные свойства слабых оснований. Условия титрования в уксусной кислоте значительно улучшаются при добавлении уксусного ангидрида, увеличивающего кислотность и диэлектрическую проницаемость среды, а также апротонных растворителей (бензола, дихлорэтана, хлороформа), снижающих ионное произведение среды.

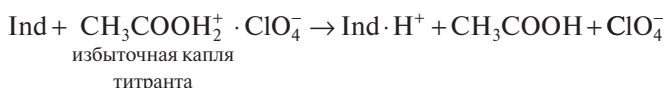
Титрантом при неводном титровании оснований и их солей служит 0,1 М раствор хлорной кислоты в уксусной кислоте ледяной.

В качестве индикатора чаще применяется 0,1% раствор кристаллического фиолетового в уксусной кислоте ледяной, который имеет переход окраски при неводном титровании от фиолетовой (щелочная среда) через сине-зеленую (нейтральная среда) к желтовато-зеленой (кислая среда).

Кристаллический фиолетовый представляет собой трифенилметановый краситель в виде соли карбения хлорида, который при pH 6,0—8,0 имеет фиолетовую окраску.



Катион красителя — более слабое основание, чем определяемое основание. В КТТ происходит протонирование основных атомов азота кристаллического фиолетового.



В зависимости от pH изменяется окраска протонированного индикатора (могут присоединяться один, два и три протона). При pH 0,5–2,0 — окраска зеленая, при pH < 0,5 — желтая (образуется трикатион).

Реже применяют насыщенный раствор метилового оранжевого в ацетоне (титруют до изменения окраски от желтой до розовой), 0,1% раствор метилового фиолетового в уксусной кислоте ледяной (титруют до изменения окраски от фиолетовой до зеленой), 0,1% раствор тропеолина 00 в метиловом спирте (титруют до появления фиолетовой окраски).

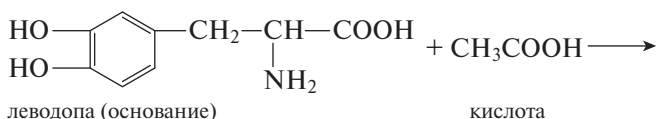
При применении 0,1–0,01 М растворов хлорной кислоты для неводного титрования вероятные пределы ошибки от $\pm 0,2$ до $\pm 0,4\%$ в случае оснований, константа диссоциации которых, измеренная в воде, не ниже 10^{-10} . В соответствующих условиях опыта слабые основания ($pK > 12,0$) можно титровать с точностью $\pm 1\%$.

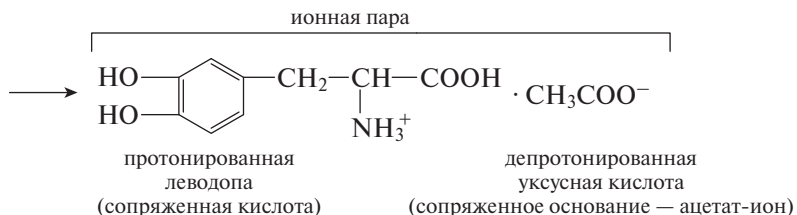
Титрование оснований в уксусной ледяной и муравьиной кислотах

При растворении слабых оснований в кислом растворителе — уксусной кислоте ледяной, молекулы которой отличаются ярко выраженной склонностью отдавать протоны, основность указанных соединений увеличивается до основности сильного основания. Например, слабое основание леводопа в среде уксусной кислоты ледяной оказывается значительно более сильным основанием.

Определение леводопы

При растворении леводопы в уксусной кислоте ледяной происходит протонирование основного центра леводопы и образование ионной пары:





В растворе титранта (0,1 М раствор хлорной кислоты в уксусной кислоте ледяной) уксусная кислота проявляет свойства основания, т. е. принимает протон от более сильной кислоты — хлорной, образуется ионная пара:

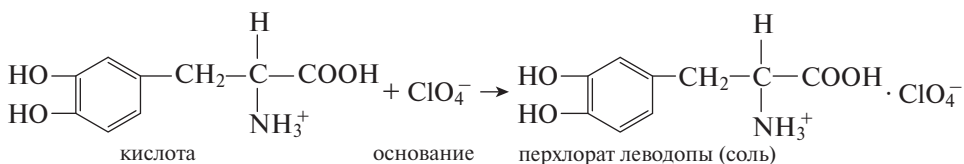


При титровании раствора леводопы в уксусной кислоте ледяной раствором кислоты хлорной ацетат-ионы, обуславливающие в уксусной кислоте ледяной основность раствора, нейтрализуются ионами ацетония, обуславливающими в том же растворителе кислотность раствора, с образованием двух молекул уксусной кислоты:

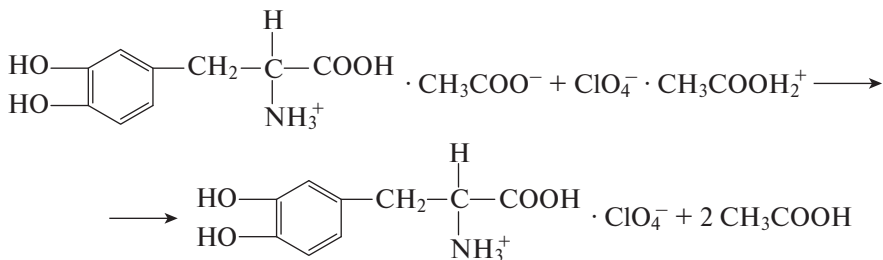


Реакция кислотно-основного титрования сопровождается образованием молекул того растворителя, в среде которого протекает данная реакция.

Протонированная леводопа образует с перхлорат-ионом соль-перхлорат леводопы.



Или суммарно:

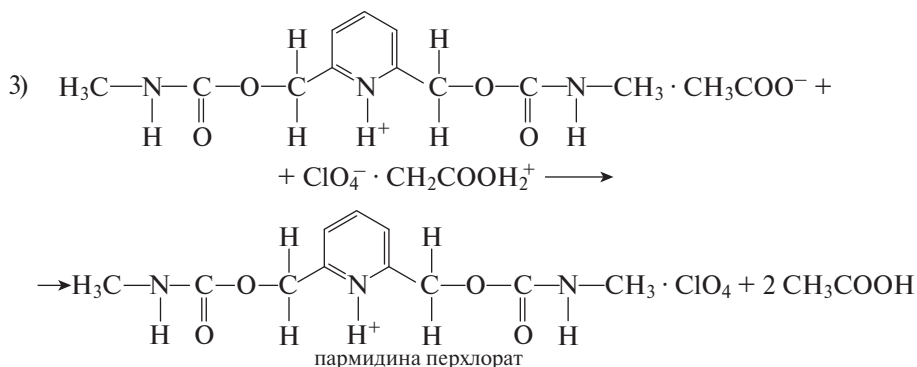
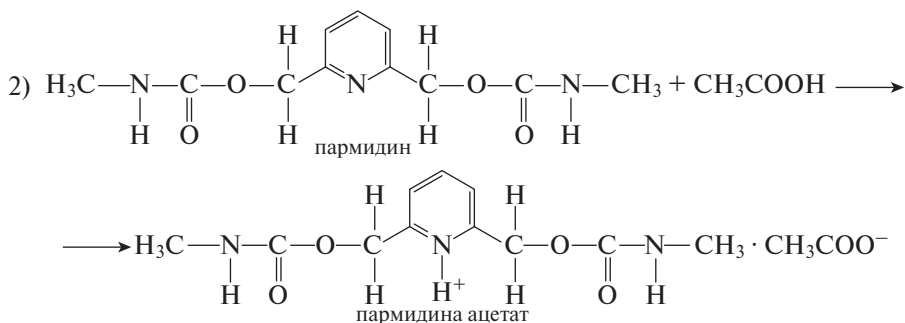


Методика. Около 0,18 г субстанции (точная навеска) растворяют при нагревании в 5 мл муравьиной кислоты безводной, прибавляют 25 мл уксусной

кислоты ледяной и 25 мл диоксана. Титруют 0,1 М раствором хлорной кислоты до зеленого окрашивания (индикатор — кристаллический фиолетовый).

1 мл 0,1 М раствора хлорной кислоты соответствует 0,01972 г леводопы, которой должно быть не менее 98,5% и не более 101,0% в пересчете на высушенное вещество. $M(1/z) = M \cdot M$.

Определение пармидина



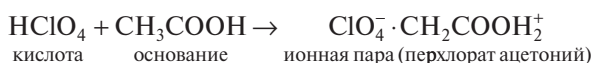
Методика. Около 0,2 г субстанции (точная навеска) растворяют в 30 мл уксусной кислоты ледяной, прибавляют 8 капель раствора кристаллического фиолетового и титруют 0,1 М раствором хлорной кислоты до зеленого окрашивания. Одновременно проводят контрольный опыт.

1 мл 0,1 М раствора хлорной кислоты соответствует 0,02533 г пармидина, которого в пересчете на сухое вещество должно быть не менее 99,0%. $M(1/z) = M \cdot M$.

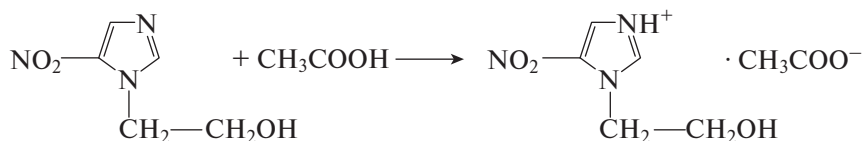
Примечание. Методом кислотно-основного титрования в неводной среде определяют основания — производные пиридина (никотинамид, изониазид, фтивазид), алкалоиды (резерпин, кофеин, теобромин, теофиллин и др.).

Определение метронидазола

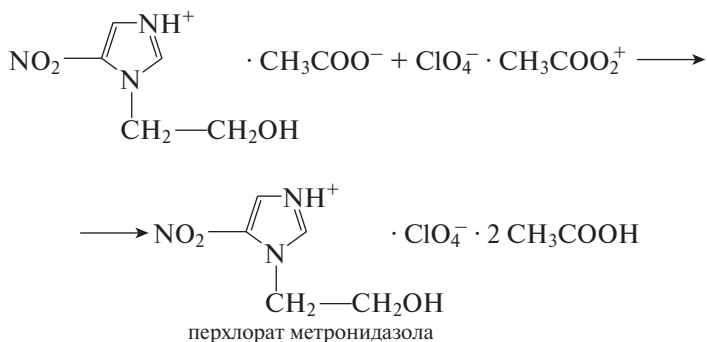
1) Реакция в растворе титранта:



2) Растворение субстанции в уксусной кислоте ледяной:



3) Реакция титрования:

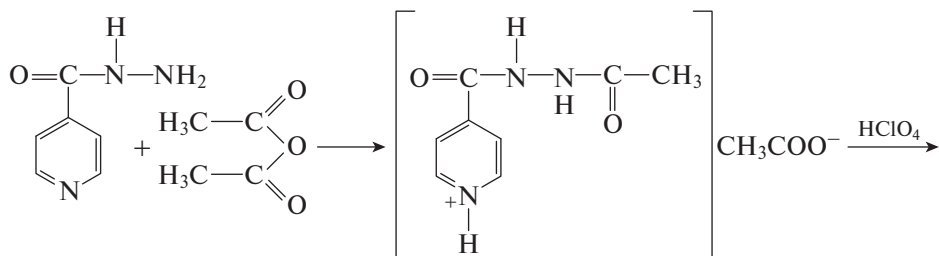


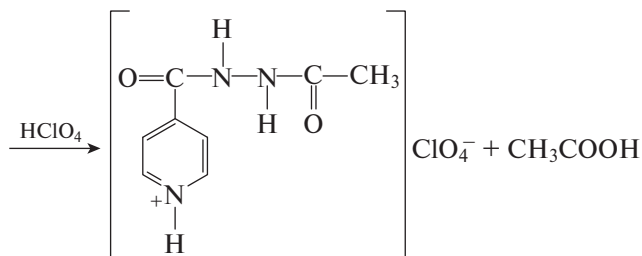
Методика. Около 0,15 г (точная навеска) субстанции растворяют в 20 мл уксусной кислоты ледяной и титруют 0,1 М раствором хлорной кислоты до зеленовато-желтого окрашивания (индикатор — 0,05 мл 0,1% раствора кристаллического фиолетового). Параллельно проводят контрольный опыт.

1 мл 0,1 М раствора хлорной кислоты соответствует 17,12 мг метронидазола ($\text{C}_6\text{H}_9\text{N}_3\text{O}_3$), которого должно быть не менее 99,0% и не более 101,0% в пересчете на высушенное вещество. $M(1/z) = M \cdot M$.

Определение изониазида

Изониазид — двухкислотное основание. В среде уксусной кислоты ледяной без примеси уксусного ангидрида протонируются оба основных атома азота (гидразиновый по N-2 и пиридиновый); однако с примесью уксусного ангидрида ацетируется некоторое количество изониазида по гидразиновому азоту. Поэтому после растворения изониазида в уксусной кислоте ледяной добавляют избыток уксусного ангидрида для ацетилирования всего количества лекарственного вещества и затем титруют ацетилированный изониазид как однокислотное основание:





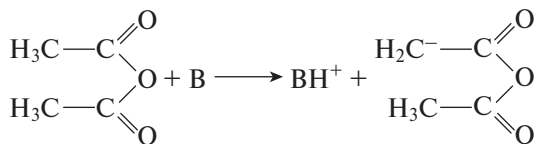
Методика. Около 0,1 г субстанции (точная навеска) растворяют в 20 мл уксусной кислоты ледяной, прибавляют 5 мл ангидрида уксусного и титруют 0,1 М раствором хлорной кислоты до зеленого окрашивания (индикатор — 0,2 мл раствора кристаллического фиолетового). Параллельно проводят контрольный опыт.

1 мл 0,1 М раствора хлорной кислоты соответствует 0,01371 г изониазида, которого должно быть не менее 99,0% в пересчете на высушенное вещество.
 $M(1/z) = M. M.$

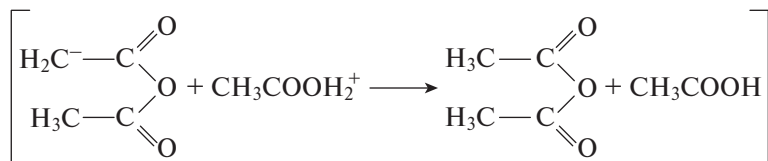
Титрование оснований в уксусном ангидриде

Анализ очень слабых оснований с $pK < 12,0$, к которым относятся кофеин ($pK = 13,4$) и теобромин ($pK = 13,32$), не может быть проведен в уксусной кислоте ледяной с достаточной точностью, так как усиление основных свойств в этом случае недостаточное. В уксусном ангидриде (более сильном протогенном растворителе) такие основания значительно увеличивают свою силу, что позволяет использовать уксусный ангидрид как растворитель для очень слабых оснований. Для получения более четкого изменения окраски индикатора титрование лучше проводить после высушивания лекарственных веществ до постоянной массы и, кроме того, в некоторых случаях добавлять апротонный растворитель — бензол.

Азотсодержащие органические основания протонируются уксусным ангидридом, а уксусный ангидрид депротонируется и превращается в анион, который реагирует с ионом ацетония, образуя уксусный ангидрид и уксусную кислоту:



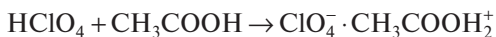
где B — основание



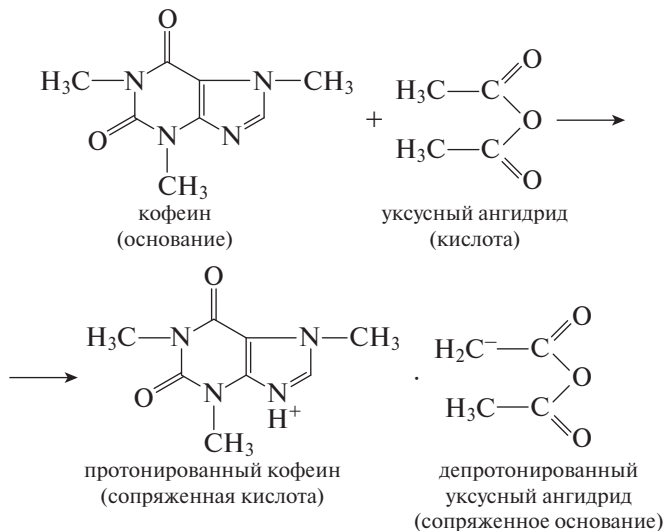
Определение кофеина

Определение кофеина основано на реакциях:

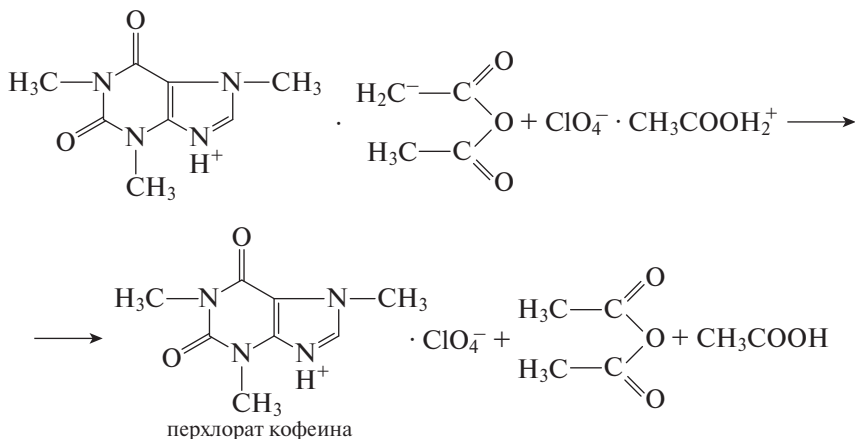
1) В растворе титранта:



2) Растворение кофеина в уксусном ангидриде:

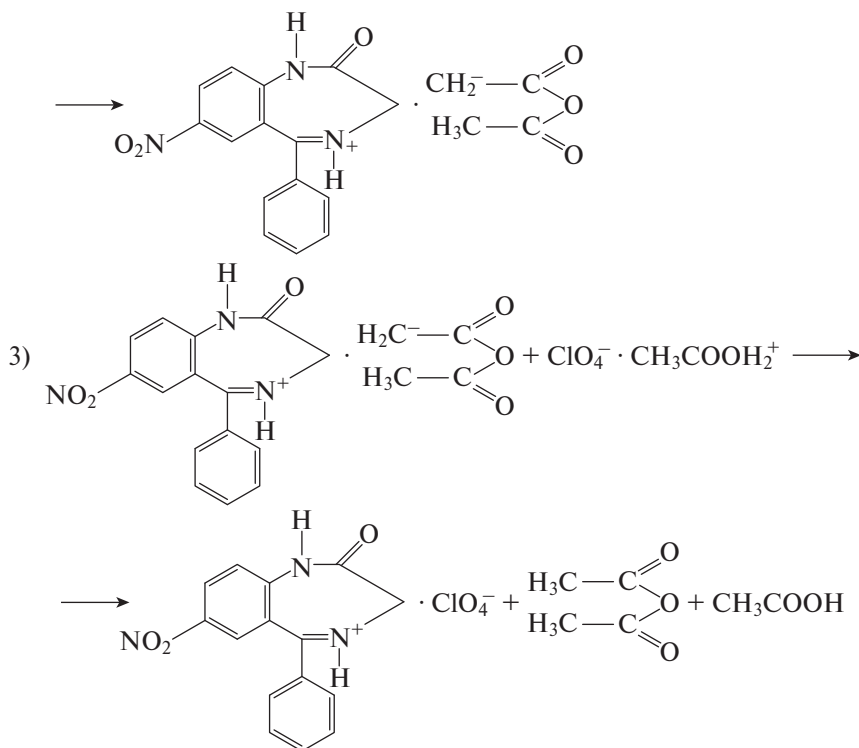
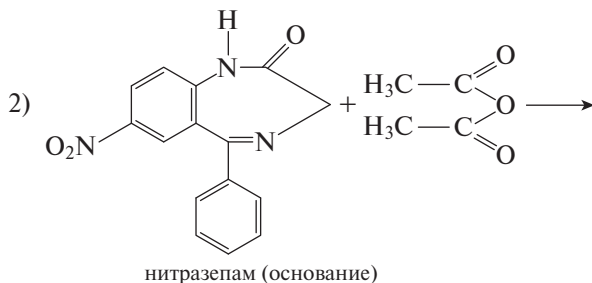


3) Реакция титрования:



Методика. Около 0,15 г предварительно высушенного при 80 °С до постоянной массы лекарственного вещества (точная навеска) растворяют в 10 мл уксусного ангидрида при нагревании на водяной бане, прибавляют 20 мл бензола, 5 капель кристаллического фиолетового и титруют 0,1 М раствором хлорной кислоты до появления желтого окрашивания. Параллельно проводят контрольный опыт.

1 мл 0,1 М раствора хлорной кислоты соответствует 0,01942 г безводного кофеина, которого в высушенном лекарственном веществе должно быть не менее 99,0%. $M(1/z) = M \cdot M$.

Определение нитразепама

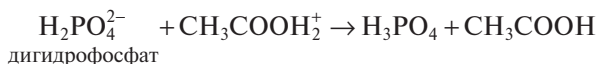
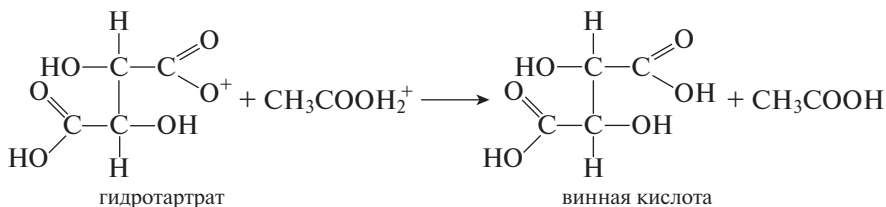
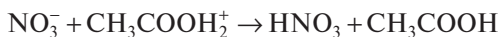
Методика. Около 0,25 г (точная навеска) субстанции растворяют в 40 мл уксусного ангидрида и титруют 0,1 М раствором хлорной кислоты до желтого окрашивания (индикатор — 0,1 мл 0,1% раствор кристаллического фиолетового). Параллельно проводят контрольный опыт.

1 мл 0,1 М раствора хлорной кислоты соответствует 28,13 мг $\text{C}_{15}\text{H}_{11}\text{N}_3\text{O}_3$ (ГФ XIII). $M(1/z) = M$.

Определение солей органических оснований

Соли органических оснований можно титровать в кислоте уксусной ледяной раствором кислоты хлорной в том случае, если их анионы ведут себя как основания по отношению к иону ацетония и могут принимать от него протоны.

Анионы карбоновых кислот, гидротартрат-ион, нитрат-ион, дигидрофосфат-ион ведут себя как однокислотные основания.



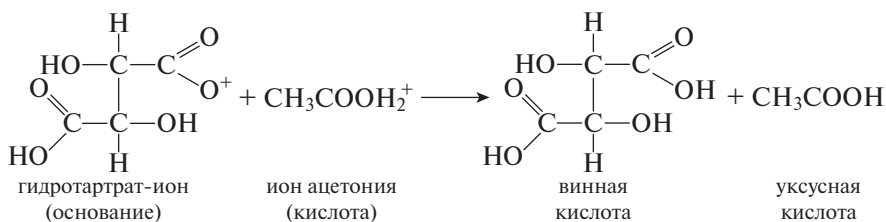
При растворении лекарственного вещества соли в уксусной кислоте ледяной основание соли в отличие от свободного основания не протонируется уксусной кислотой ледяной, так как оно уже протонировано своей «собственной» кислотой (винной, хлороводородной, серной и др.). Исключение составляют двухкислотные основания, у которых протонирован только один кислотный центр (образована соль), а второй кислотный центр не протонирован, например хинина гидрохлорид, хинина сульфат, у которых протонирован хинуклидиновый азот, а хинолиновый — не протонирован. Поэтому, например, при растворении хинина гидрохлорида в уксусной кислоте ледяной происходит протонирование только хинолинового атома азота, так как хинуклидиновый атом азота уже протонирован кислотой хлороводородной; при этом образуется двойная соль хинина гидрохлорид-ацетат, которая титруется хлорной кислотой как соль двухкислотного основания.

Определение адреналина гидротартрата

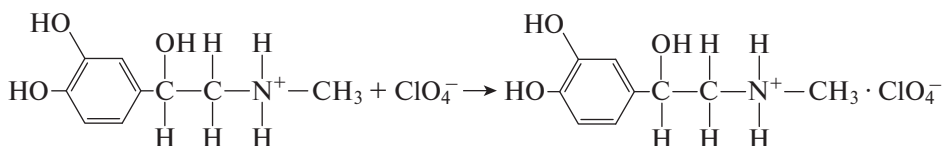
1) Реакция в растворе титранта:



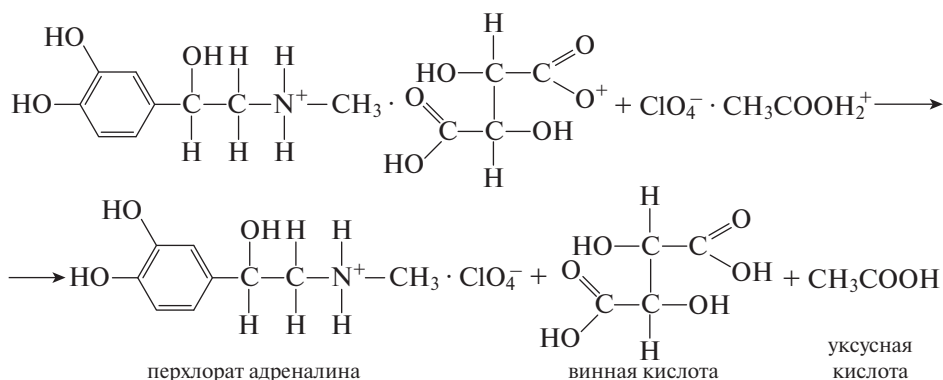
2) Реакция гидротартрат-иона с ацетонием:



3) Реакция протонированного адреналина с перхлорат-ионом:



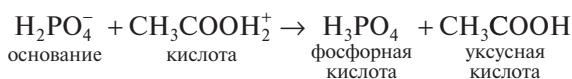
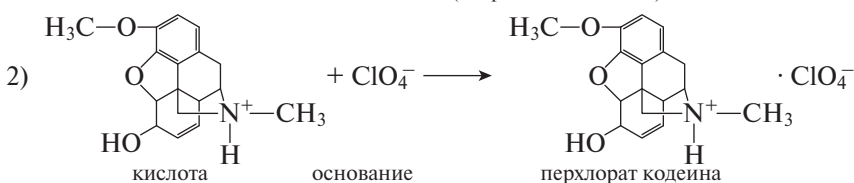
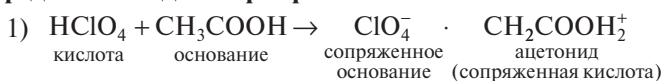
Суммарно:



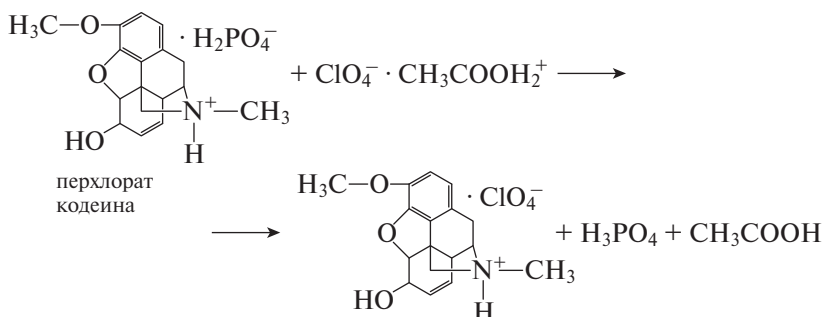
Методика. Около 0,15 г тонкоизмельченной и высушенной субстанции (точная навеска) растворяют в 20 мл уксусной кислоты ледяной, слегка нагревая до 40 °С в случае медленного растворения, и титруют 0,1 М раствором хлорной кислоты до появления голубовато-зеленого окрашивания (индикатор — метиловый фиолетовый). Параллельно проводят контрольный опыт.

1 мл 0,1 М раствора хлорной кислоты соответствует 0,03333 г адреналина гидротартрата, которого должно быть не менее 98,0% и не более 101,0%. $M(1/z) = M. M.$

Определение кодеина фосфата



Суммарно:



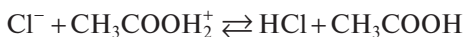
Методика. Около 0,25 г субстанции (точная навеска), предварительно высушенной при 100—105 °С до постоянной массы, растворяют в 20 мл уксусной кислоты ледяной при слабом нагревании на водяной бане. После охлаждения титруют 0,1 М раствором хлорной кислоты до голубовато-зеленого окрашивания (индикатор — кристаллический фиолетовый). Параллельно проводят контрольный опыт.

1 мл 0,1 М раствора хлорной кислоты соответствует 0,03974 г кодеина фосфата, которого в высушенном лекарственном веществе должно быть не менее 99,0% и не более 101,0%. $M(1/z) = M$.

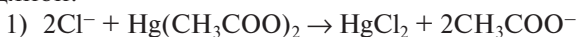
Определение солей галогенводородных кислот

Соли органических оснований можно титровать хлорной кислотой в уксусной кислоте ледяной только в том случае, если их анионы проявляют свойства достаточно сильных оснований по отношению к иону ацетония и могут принимать от него протоны.

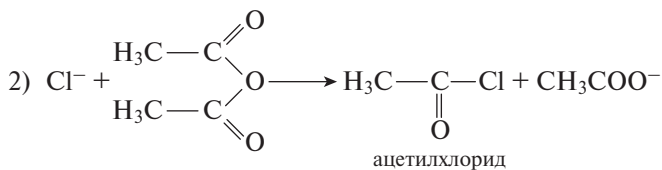
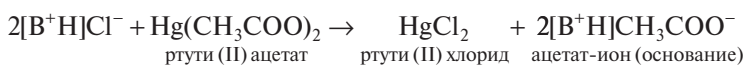
Галогениды в уксусной кислоте ледяной проявляют слабые основные свойства, именно поэтому взаимодействие хлорид-иона с ионом ацетония не идет количественно, реакция обратима и не используется для количественного определения:



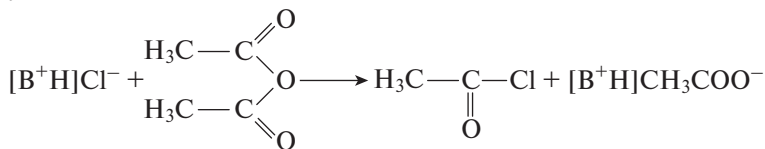
В связи с этим хлорид-ион и другие галогениды связывают в недиссоциированные соединения ртути (II) ацетатом или ангидридом уксусным; при этом образуются соответственно ртути (II) хлорид или ацетилхлорид и ацетат-ион — самое сильное основание в уксусной кислоте ледяной, которое реагирует с ацетонием — самой сильной кислотой в уксусной кислоте ледяной.



или



или



гидрохлорид
основания

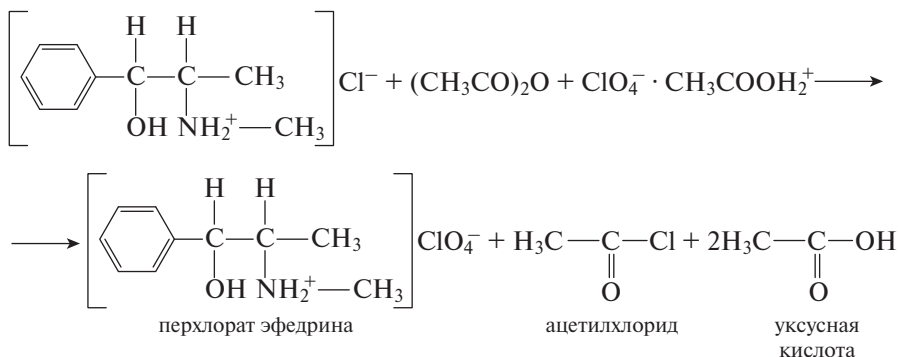
уксусный
ангидрид

ацетилхлорид

ацетат
основания

где $[\text{B}^+\text{H}]$ — протонированное азотсодержащее основание.

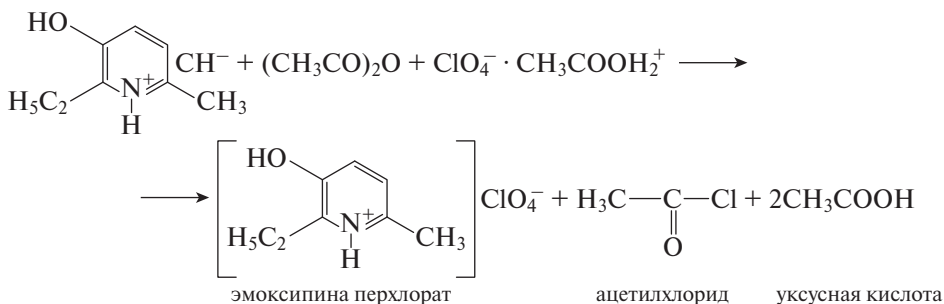
Определение эфедрина гидрохлорида



Методика. Около 0,1 г субстанции (точная навеска) растворяют в 1 мл муравьиной кислоты (ч. д. а.), прибавляют 10 мл ангидрида уксусного и титруют 0,1 М раствором хлорной кислоты до желтого окрашивания (индикатор — кристаллический фиолетовый). Параллельно проводят контрольный опыт.

1 мл 0,1 М раствора хлорной кислоты соответствует 0,02017 г $C_{10}H_{15}NO \cdot HCl$ (эфедрина гидрохлорида), которого должно быть не менее 99,0%. $M(1/2) = M$.

Определение эмоксипина



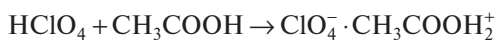
Методика. Около 0,15 г субстанции (точная навеска) растворяют в 1 мл муравьиной кислоты, прибавляют 50 мл ангидрида уксусного и титруют 0,1 М раствором хлорной кислоты до желтого окрашивания (индикатор — 0,1 мл раствора кристаллического фиолетового). Параллельно проводят контрольный опыт.

1 мл 0,1 М раствора хлорной кислоты соответствует 0,01736 г эмоксипина, которого должно быть не менее 99,0% и не более 101,0% в пересчете на сухое вещество. $M(1/z) = M$.

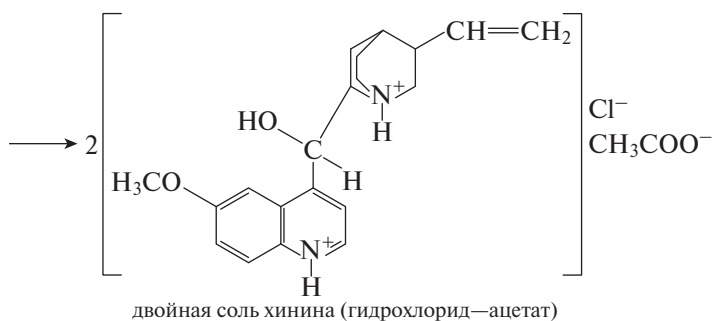
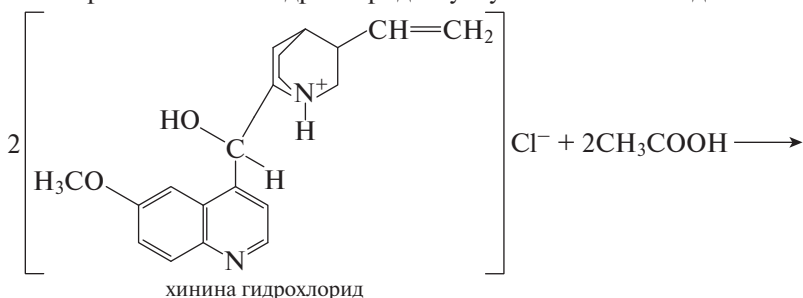
Определение хинина гидрохлорида

При растворении хинина гидрохлорида в уксусной кислоте ледяной протонируется атом азота хинолинового ядра, образуется двойная соль хинина (гидрохлорид—ацетат). Для связывания хлорид-ионов добавляют раствор ртути (II) ацетата в уксусной кислоте ледяной. При этом образуется ртути (II) хлорид и диацетат хинина. Монозамещенная соль (хинина гидрохлорид) при титровании превращается в дизамещенную — хинина диперхлорат, и на титрование расходуется два эквивалента хлорной кислоты.

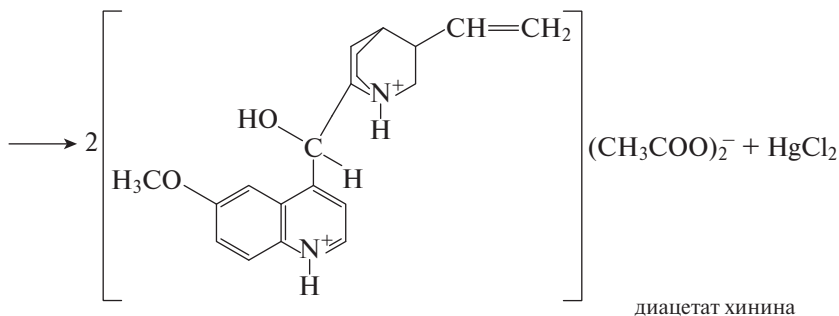
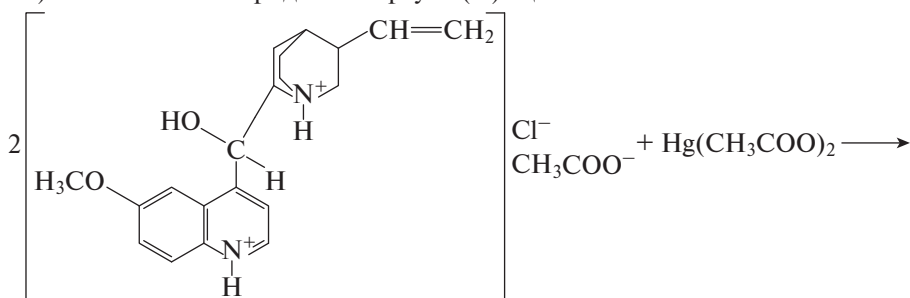
1) Реакция в растворе титранта:



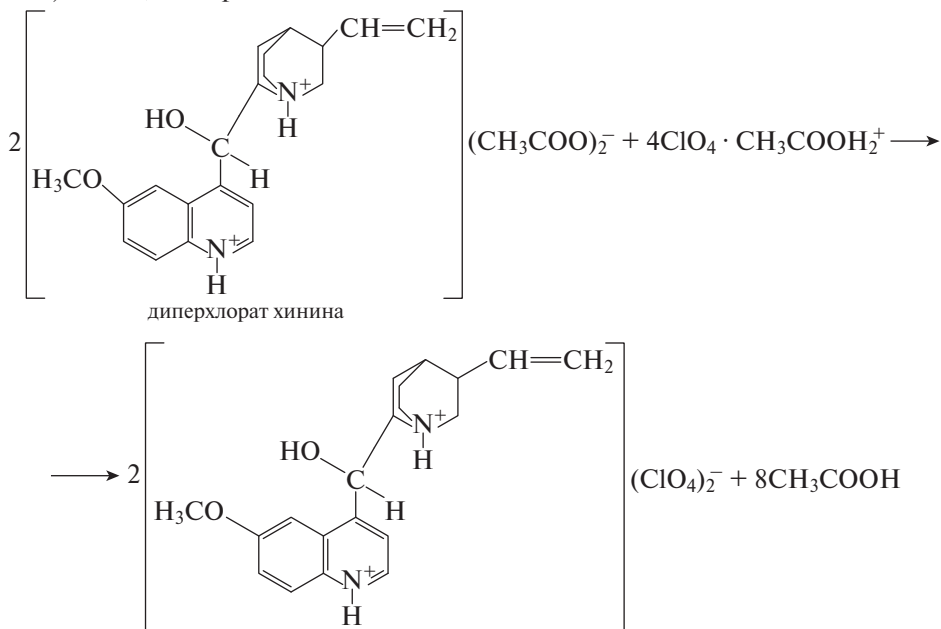
2) Растворение хинина гидрохлорида в уксусной кислоте ледяной:



3) Связывание хлорид-ионов ртути (II) ацетатом:



4) Реакция титрования:

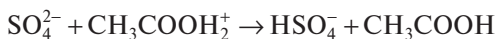


Методика. Около 0,35 г субстанции (точная навеска) растворяют в 50 мл уксусной кислоты ледяной, прибавляют 20 мл ангидрида уксусного, 10 мл раствора ртути (II) ацетата в уксусной кислоте ледяной и титруют 0,1 М раствором хлорной кислоты до зеленого окрашивания (индикатор — кристаллический фиолетовый).

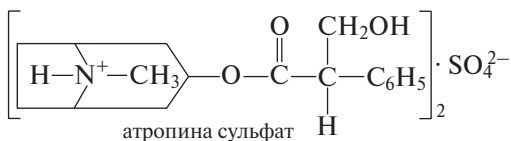
1 мл 0,1 М раствора хлорной кислоты соответствует 0,01804 г хинина гидрохлорида, которого должно быть не менее 98,5% и не более 101,0% в пересчете на высушенное вещество (МФ III). $M(1/z) = 1/2 M$.

Определение сульфатов органических солей

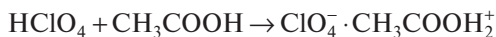
Сульфат-ион в реакции с ацетонием проявляет себя как однокислотное основание и поэтому может принимать от ацетония только один протон, превращаясь при этом в гидросульфат-ион, который, являясь довольно сильным основанием, образует соль (гидросульфат) с одним протонированным основанием (сопряженной кислотой)



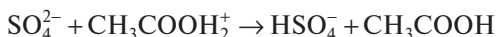
Если лекарственное вещество содержит два или более протонированных основания, то они образуют соли с перхлорат-ионом.

Определение атропина сульфата

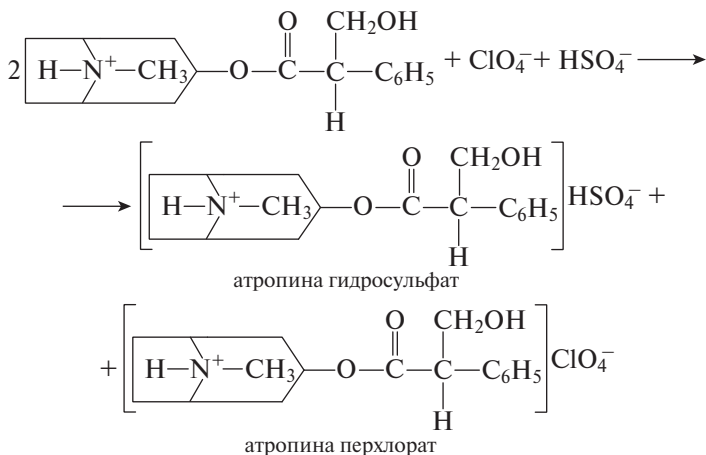
1) Реакция в растворе титранта:



2) Реакция сульфат-иона с ацетонием:



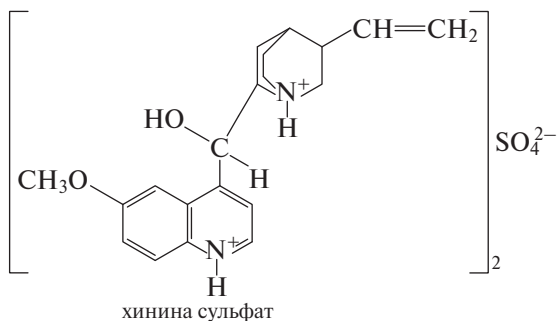
3) Реакция титрования с образованием солей атропина (гидросульфата и перхлората):



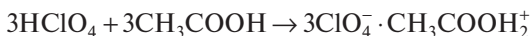
Методика. Около 0,5 г высушенной при 100—105 °С до постоянной массы субстанции (точная навеска) растворяют в 10 мл уксусной кислоты ледяной при слабом нагревании на водяной бане. К охлажденному раствору прибавляют 3 капли раствора кристаллического фиолетового и титруют 0,1 М раствором хлорной кислоты до зеленого окрашивания. Параллельно проводят контрольный опыт.

1 мл 0,1 М раствора хлорной кислоты соответствует 0,06768 г атропина сульфата, которого в высушенном веществе должно быть не менее 99,0%. $M(1/z) = M$.

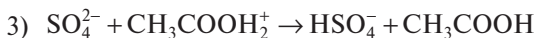
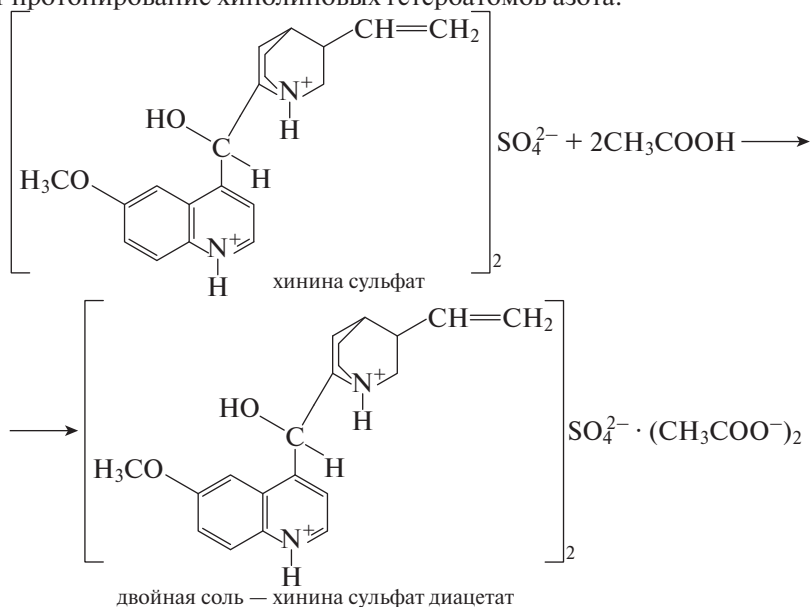
Определение хинина сульфата



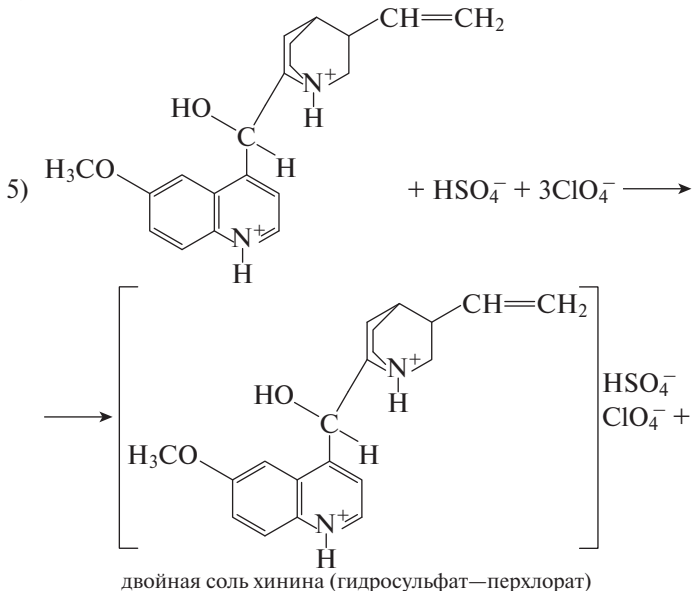
1) Реакция в растворе титранта:

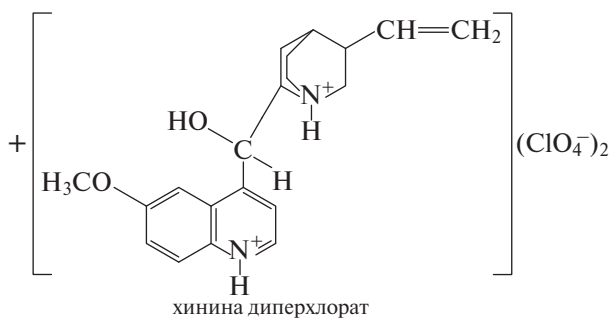


2) При растворении хинина сульфата в уксусной кислоте ледяной происходит протонирование хинолиновых гетероатомов азота:

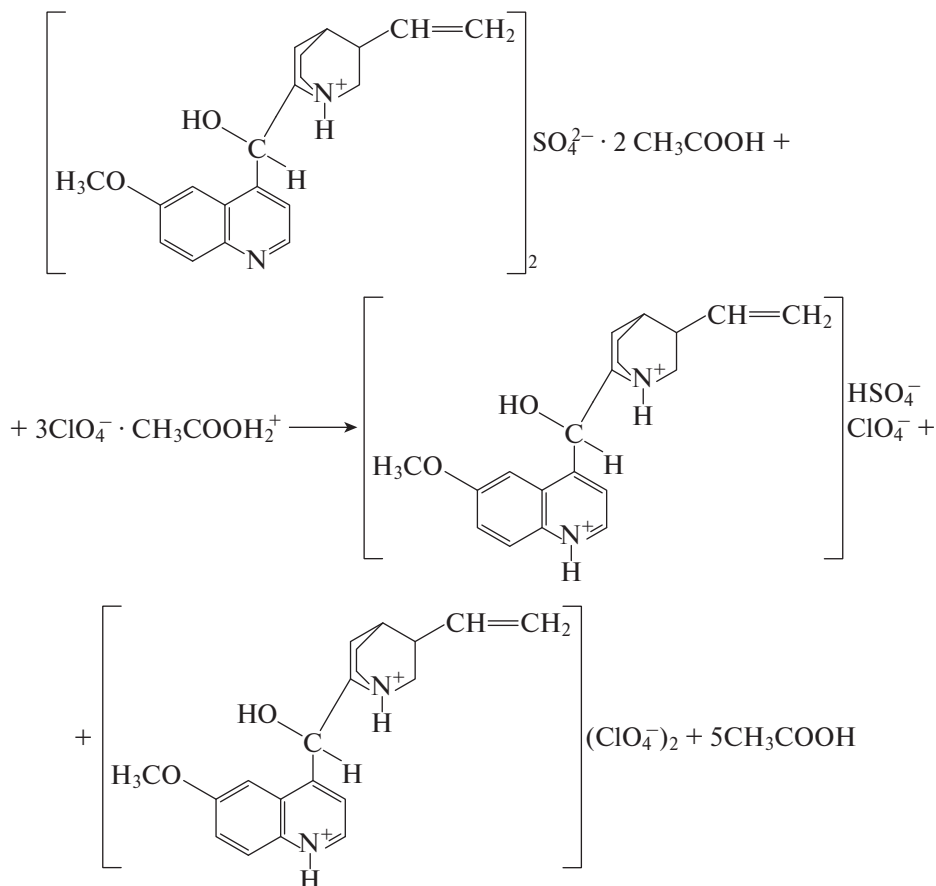


Образовавшийся гидросульфат-ион образует соль с одним протонированным гетероатомом азота, остальные три протонированных гетероатома азота образуют соли с перхлорат-ионами, причем образуется две соли: двойная хинина гидросульфат—перхлорат и хинина диперхлорат.



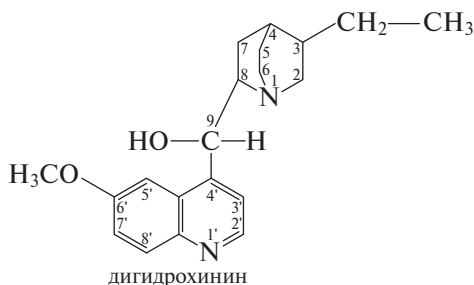


Суммарная реакция:

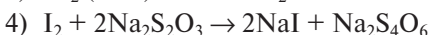
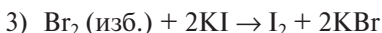
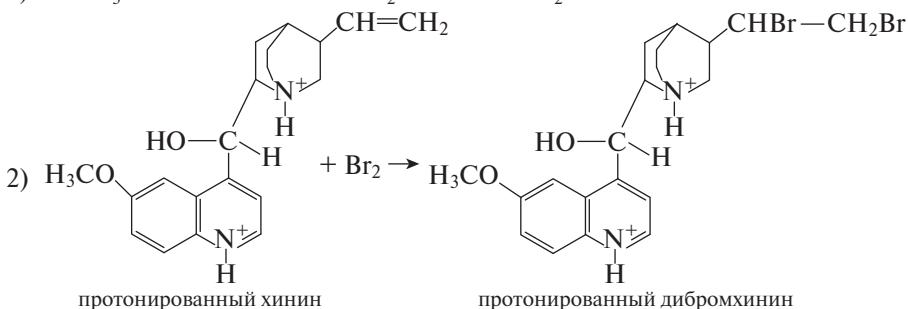


Таким образом, на титрование одного моля хинина сульфата идет три эквивалента 0,1 М хлорной кислоты. $M(1/z) = 1/3$ М. М.

В солях хинина может быть *примесь дигидрохинина*, которая определяется вместе с солями хинина при их количественном определении методом кислотно-основного титрования в неводной среде. Дигидрохинин, в отличие от хинина, вместо винильного радикала в положении 3 содержит этильный радикал.



Для определения примеси дигидрохинина проводят количественное определение хинина броматометрическим методом (способ обратного титрования) по винильному радикалу. Дигидрохинин этим методом не определяется.



Рассчитывают процентное содержание дигидрохинина и вычитают его из суммарного процентного содержания соли хинина и дигидрохинина. Разность между ними не должна превышать 10%.

Определение лекарственных веществ в таблетках

Титрование лекарственных средств в таблетках иногда проводится без отделения от наполнителей, иногда лекарственное вещество извлекают из таблеток в органический растворитель (хлороформ) и после удаления растворителя проводят количественное определение.

Определение лекарственных веществ в растворах для инъекций

При определении лекарственных веществ в растворах для инъекций необходимо предварительно удалить воду. Это достигается упариванием на водяной бане или нагреванием с уксусным ангидридом; при этом вода превращается в уксусную кислоту.

При просмотре НД на лекарственные формы методы кислотно-основного титрования в неводной среде часто заменяют методами УФ-спектрофотометрии.

4.2.1.2.2. Титрование кислот

При титровании веществ кислого характера наиболее часто используют такие протофильные растворители, как диметилформамид, пиридин, бутиламин, этилендиамин. *Титрантами* для определения кислот служат 0,1 М раствор на-

трия гидроксида в смеси метилового спирта и бензола, 0,1 М растворы метоксидов щелочных металлов (натрия, калия, лития), 0,1 М раствор тетрабутиламмония гидроксида.

В качестве *индикатора* чаще всего применяют тимоловый синий (титруют до изменения окраски от желтой до синей). Кроме того, конец титрования можно определять потенциометрическим методом.

Неводные *растворители* основного характера (протофильные) усиливают кислотные свойства слабых кислот и амфотерных соединений. Лучшим растворителем для титрования слабых кислот, pK_a которых не превышает 10,5—11,0, является диметилформамид, так как он имеет высокую диэлектрическую проницаемость, доступен, дешев, малолетуч. Этот растворитель содержит кислые примеси, поэтому его нейтрализуют непосредственно перед титрованием.

Карбоновые кислоты, соединения, содержащие енольный и фенольный гидроксилы, сульфаниламидные лекарственные средства, кислотные аналоги с имидной группой можно титровать в ацетоне. В качестве титранта целесообразно применять тетрабутиламмония гидроксид.

В зависимости от относительной электрофильности используемых растворителей, имеющих основной характер, в этих растворителях изменяется также и относительная сила кислот (табл. 4.5).

Таблица 4.5

Относительная сила кислот

Кислота	Растворитель		
	вода	диметилформамид	этилендиамин
Хлороводородная	Сильная	Сильная	Сильная
Бензойная	Слабая	Более сильная	Сильная
Фенол	Не титруется	Очень слабая	Слабая

Амфотерные соединения (*амфолиты*) в зависимости от растворителя могут проявлять как кислотный, так и основной характер (табл. 4.6).

Таблица 4.6

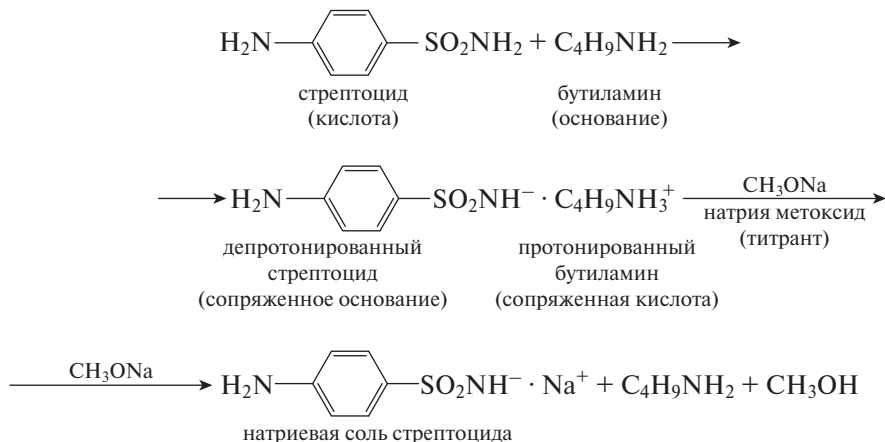
Условия титрования амфолитов

Соединение	Можно титровать	
	как кислоты (растворитель, титрант)	как основания (растворитель, титрант)
Изониазид	Диэтиламин, CH_3OK	$CH_3COOH-CHCl_3$, $HClO_4$
Теобромин	C_5H_5N , CH_3OK	$CH_3COOH-C_6H_6$, ангидрид уксусный, $HClO_4$
Сульфаниламиды	ДМФ, C_5H_5N , $C_4H_9NH_2$, ацетон, CH_3OK	Этиленгликоль — изопропиловый спирт (1 : 1), $HClO_4$

Методом неводного титрования могут быть определены карбоновые кислоты, аминокислоты, барбитураты, пуриновые алкалоиды (теобромин и теофиллин), сульфаниламиды, фенолы и другие соединения.

Фенолы могут титроваться в среде этилендиамина (обладающего более основными свойствами, чем диметилформамид) раствором натрия метоксида.

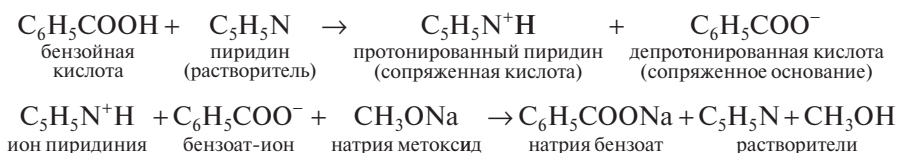
Такая слабая кислота, как стрептоцид, не может быть оттитрована в диметилформамиде, но титруется в среде *n*-бутиламина растворами натрия метоксида или тетрабуиламмония гидроксида (индикатор — азофиолетовый).



Другие сульфаниламидные лекарственные средства с более выраженными кислотными свойствами (с заместителями в сульфамидной группе) могут быть оттитрованы в среде диметилформамида растворами натрия гидроксида в смеси метилового спирта и бензола или метоксидов щелочных металлов.

Титрование в основных растворителях необходимо проводить в тщательно закрытых сосудах для титрования или в атмосфере инертного газа для исключения влияния углекислого газа, содержащегося в воздухе.

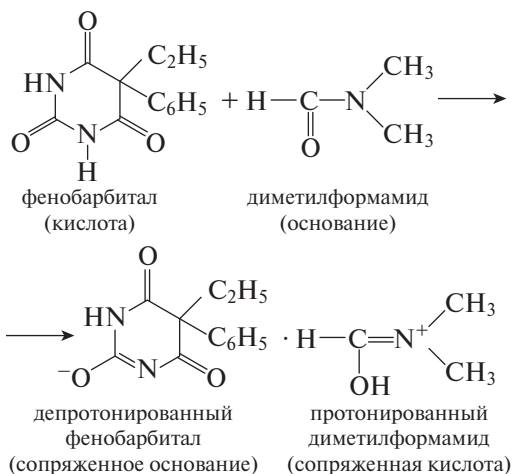
При растворении кислот и кислотных аналогов (фенолов, енолов, имидов и т. д.) в протоноакцепторных основных (протофильных) растворителях, таких как этилендиамин, пиридин, *n*-бутиламин и диметилформамид, образуются депротонированная кислота и протонированный растворитель (сопряженная кислота), например:



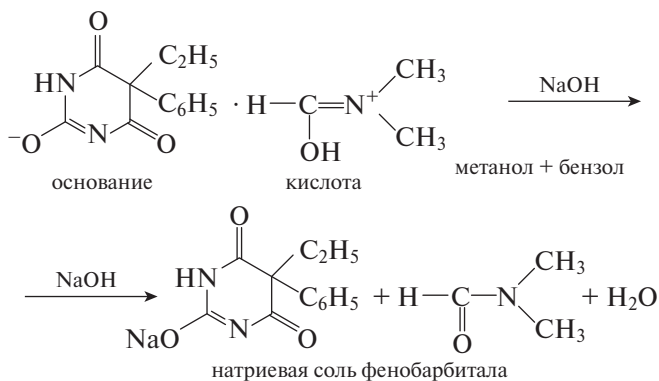
Определение барбитуратов проводится в среде диметилформамида титрованием более сильных кислот — например, фенобарбитала ($pK_a = 7,3-7,8$) — 0,1 М раствором натрия гидроксида в смеси метилового спирта и бензола, а очень слабых кислот — 0,1 М раствором натрия метоксида.

Определение фенобарбитала

Под действием основного растворителя диметилформамида (ДМФ), обладающего способностью присоединять протон, происходит усиление кислотных свойств фенобарбитала: образуется протонированный диметилформамид и депротонированный фенобарбитал (ионная пара):



При титровании ионной пары раствором натрия гидроксида на метиловом спирте и бензоле образуются натриевая соль фенобарбитала, диметилформамид и вода:



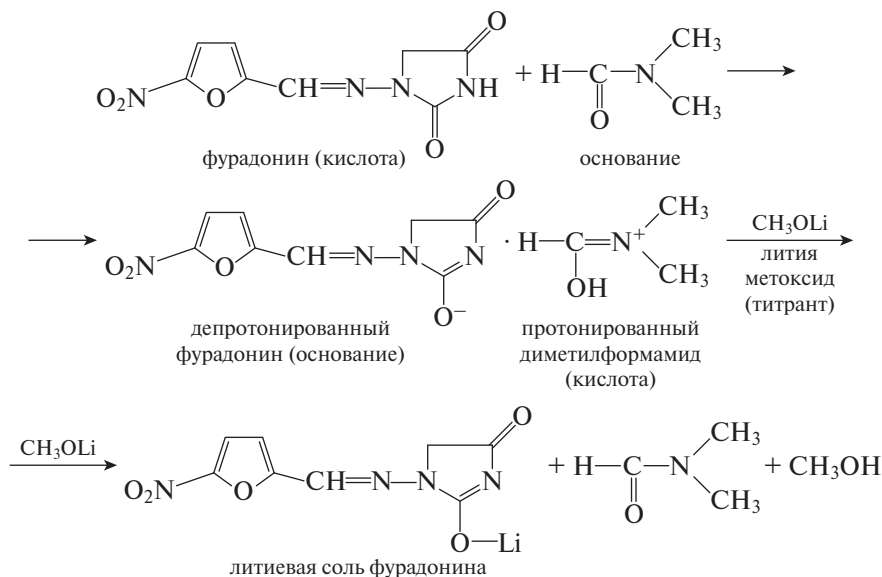
Методика. Около 0,2 г субстанции (точная навеска) растворяют в 10 мл диметилформамида, предварительно нейтрализованного по индикатору тимоловому синему в диметилформамиде, и титруют с тем же индикатором из полумикробюретки 0,1 М раствором натрия гидроксида в смеси метилового спирта и бензола до появления синего окрашивания.

1 мл 0,1 М раствора натрия гидроксида соответствует 0,02322 г фенобарбитала ($\text{C}_8\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_3$), которого должно быть не менее 99,0% и не более 101,0%. $M(1/z) = M$.

Фенобарбитал, как более сильную кислоту, определяют также методом алкалиметрии в спиртовом растворе (см. разд. 4.2.1.1.1).

Определение фурадонина

Фурадонин, благодаря имидной группе гидантоина, является NH-кислотой и может титроваться как кислота в среде диметилформамида 0,1 М растворами метоксидов щелочных металлов.

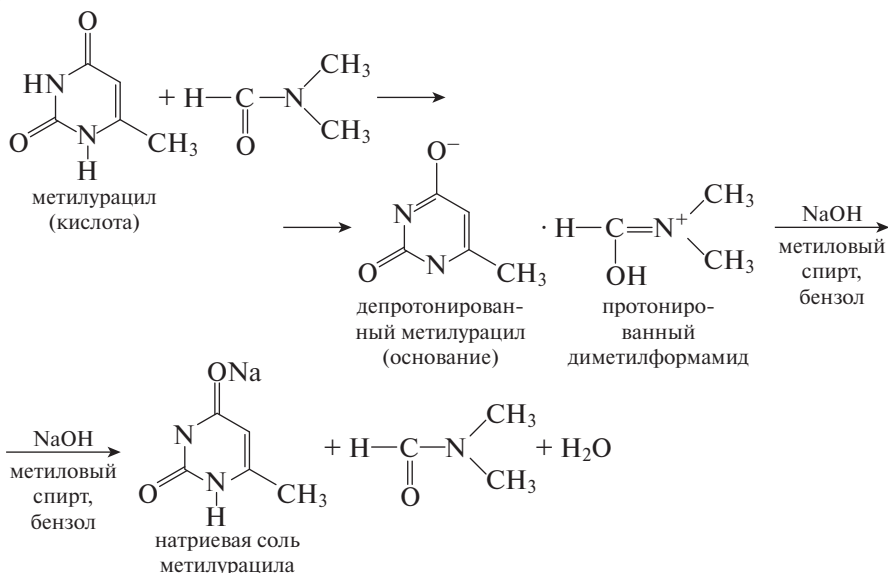


Методика. Около 0,4 г субстанции (точная навеска) растворяют в смеси 10 мл диметилформамида и 10 мл диоксана, добавляют 0,1 мл индикатора (раствор тимолового синего) в диметилформамиде и титруют 0,1 М раствором лития метоксида до зеленого окрашивания.

1 мл 0,1 М раствора лития метоксида соответствует 0,02382 г фурадонина ($\text{C}_8\text{H}_6\text{N}_4\text{O}_5$), которого должно быть не менее 99,0% и не более 101,0%. $M(1/z) = M$.

Определение метилурацила

Примечание. Определение основано на реакциях:

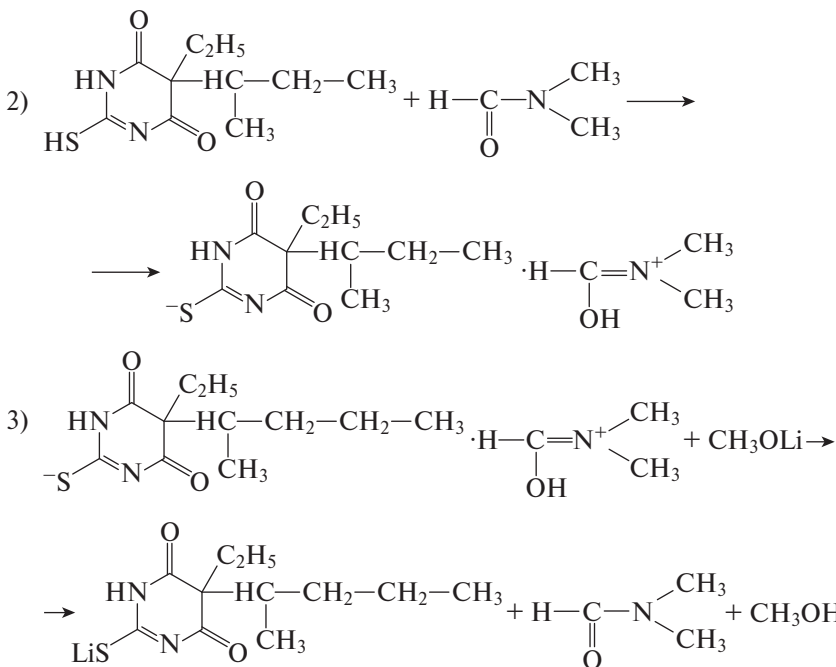
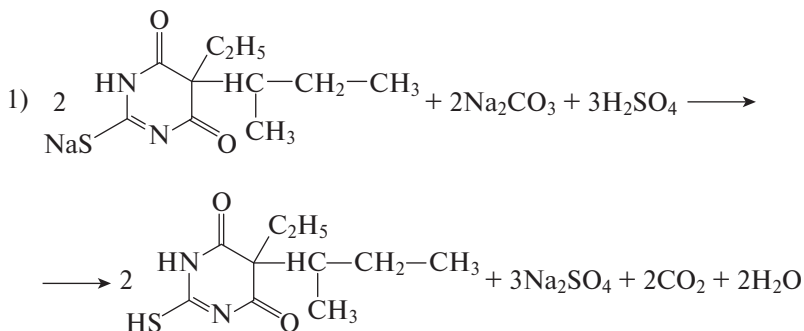


Методика. Около 0,15 г субстанции (точная навеска) растворяют в 25 мл диметилформамида, предварительно нейтрализованного по индикатору 1% раствору тимолового синего в диметилформамиде, и титруют 0,1 М раствором натрия гидроксида в смеси метанола и бензола до появления сине-голубого окрашивания (индикатор — 0,2 мл 1% раствора тимолового синего в диметилформамиде), не исчезающего в течение 30 с.

1 мл 0,1 М раствора натрия гидроксида соответствует 12,61 мг метилурацила ($C_5H_6N_2O_2$), которого должно быть не менее 98,5%. $M(1/z) = M$.

Определение тиопентал-натрия

Сначала из раствора тиопентала натрия осаждают серной кислотой кислотную форму, которую экстрагируют хлороформом, затем хлороформ отгоняют, а остаток высушивают, затем остаток растворяют в диметилформамиде и титруют стандартным раствором лития метоксида.



Методика. Растворяют 0,15 г испытуемого вещества (точная навеска) в 5 мл воды, добавляют 2 мл 10% серной кислоты и экстрагируют четырьмя порциями хлороформа объемом 10 мл. Фильтруют объединенные хлороформные экстракты, выпаривают фильтрат досуха на водяной бане и растворяют остаток в 30 мл диметилформамида, предварительно нейтрализованного 0,1 М раствором лития метоксида. Сразу же титруют 0,1 М раствором лития метоксида, используя в качестве индикатора 0,1 мл раствора тимолового синего в метаноле, до появления синего окрашивания. Во время титрования защищают раствор от влияния атмосферного оксида углерода (IV).

1 мл 0,1 М раствора лития метоксида соответствует 26,43 мг тиопентала натрия ($C_{11}H_{17}N_2NaO_2S$), которого должно быть в пересчете на сухое вещество не менее 84,0% и не более 87,0%. $M(1/z) = M$. М.

4.2.2. Методы окисления-восстановления

В основе данных методов лежит применение окислительно-восстановительных реакций. Если определяемое вещество способно отдавать электроны, т. е. действовать как восстановитель, то его можно определить титрованием стандартным раствором подходящего окислителя, и наоборот. КТТ чаще всего определяется с помощью специальных *окислительно-восстановительных индикаторов* (ферроин, дифениламин), специфических индикаторов (например, крахмал — индикатор на йод) или же безындикаторным методом (в перманганатометрии индикатором служит избыток титранта). Кроме того, КТТ может быть определена потенциометрическим методом.

Молярную массу эквивалента окислителя (или восстановителя) находят путем деления его молекулярной массы на число принимаемых (или отдаваемых) им в данной химической реакции электронов:

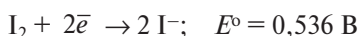
$$ЭМ = \frac{Мол. м.}{n}$$

Методами окисления-восстановления может быть определено количественное содержание многих лекарственных средств, которые в достаточной степени проявляют окислительные или восстановительные свойства; применение косвенных методов позволяет проводить количественное определение лекарственных веществ, не обладающих окислительно-восстановительными свойствами.

В фармацевтическом анализе применяется много методов окислительно-восстановительного титрования: йодометрия, броматометрия, перманганатометрия, цериметрия и др.

4.2.2.1. Йодометрия

В основе йодометрического метода лежит полуреакция:



Из этого уравнения следует, что каждый атом йода присоединяет один электрон и, таким образом, масса эквивалента йода становится равной его атомной массе.

Йод — слабый окислитель, он применяется для определения сильных восстановителей в средах, близких к нейтральной. Титрованный раствор йода представляет собой раствор йода в водном растворе йодида (йод очень мало растворим в воде и легко растворим в водном растворе калия йодида с образованием трийодидного комплекса KI_3^-).

КТТ может быть определена одним из способов:

1) при титровании бесцветных растворов — по окраске трийодид-иона (желтый цвет);

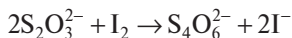
2) для более высокой чувствительности к раствору добавляют несколько миллилитров не смешивающегося с водой растворителя, например хлороформа. При встряхивании основная масса йода переходит в органический слой и придает ему интенсивную фиолетовую окраску;

3) наиболее широко используемым индикатором в йодометрии является водная суспензия крахмала.

Крахмал — специфический индикатор, образующий в присутствии небольших количеств йода адсорбционный комплекс, окрашенный в синий цвет, в образовании которого участвует растворимая часть крахмала — β -амилоза. Комплекс легко разрушается, а следовательно, раствор обесцвечивается при восстановлении I_2 до I^- . При большой концентрации I_2 крахмал разрушается с образованием продуктов, которые служат необратимыми индикаторами. Поэтому крахмал следует добавлять к растворам, содержащим незначительные количества йода, на что указывает светло-желтая окраска раствора.

При способе обратного титрования к испытуемому раствору добавляют избыток стандартного раствора йода и после окончания реакции окисления испытуемого вещества избыток йода титруют раствором натрия тиосульфата.

При определении окислителей в раствор, содержащий окислитель, вводят избыток калия йодида. В результате окисления йодид-ионов определяемым окислителем выделяется эквивалентное количество йода, который титруют раствором натрия тиосульфата:



Образование тетраионат-иона сопровождается потерей двух электронов двумя ионами тиосульфата; молярная масса эквивалента тиосульфата в этой реакции равна его молекулярной массе.

При определении восстановителей применяется как прямое, так и обратное титрование. Йодометрическим методом определяют многие лекарственные средства с восстановительными свойствами, например натрия тиосульфат, кислоту аскорбиновую, метионин, изониазид, фурацилин, анальгин, раствор формальдегида, глюкозу и др. Йодометрический метод применяется для количественного определения β -лактамидов: суммы пенициллинов в солях бензилпенициллина, полусинтетических цефалоспоринов (цефалексина и цефалотина). Метод основан на окислении йодом продуктов щелочного гидролиза пенициллинов или цефалоспоринов.

Для определения антипирина используется реакция электрофильного замещения; для определения кофеина — реакция образования периодида, в обоих случаях применяют способ обратного титрования.

Определение йода

Методика. В точно взвешенную колбу с притертой пробкой, содержащую 10 мл раствора калия йодида, добавляют 0,2 г растертого лекарственного вещества и снова взвешивают. Полученный раствор доводят водой до 20 мл и титруют 0,1 М раствором натрия тиосульфата до обесцвечивания (индикатор — крахмал).

1 мл 0,1 М раствора натрия тиосульфата соответствует 0,01269 г йода, которого должно быть не менее 99,0%. Так же определяется йод в 5% и 10% растворах йода спиртовых.

Определение натрия тиосульфата

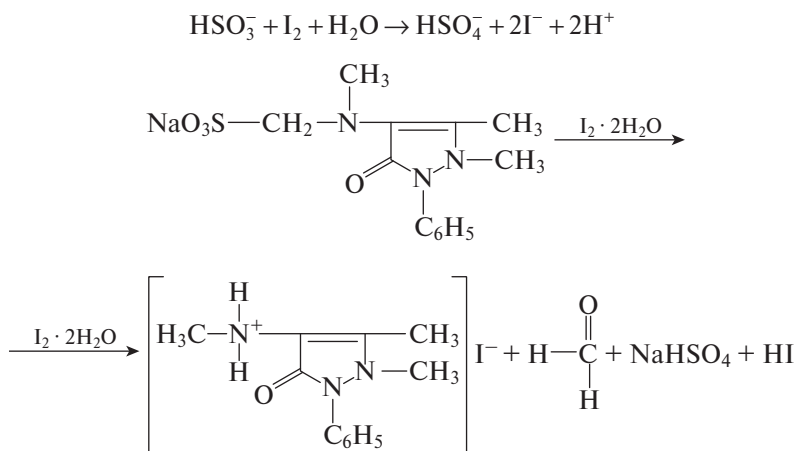
Методика. Около 0,5 г субстанции (точная навеска) растворяют в 25 мл воды и титруют 0,1 М раствором йода (индикатор — крахмал).

1 мл 0,1 М раствора йода соответствует 0,02482 г натрия сульфата ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$), которого должно быть не менее 99,0% и не более 102,0%.

Определение анальгина

В основе определения лежит реакция окисления серы сульфитной до сульфатной раствором йода.

Для предотвращения гидролиза анальгина навеску помещают в сухую колбу и растворяют в 96% спирте. Чтобы исключить окисление формальдегида, который может окисляться йодом только в щелочной среде, к раствору анальгина добавляют 0,01 М раствор хлороводородной кислоты. В результате реакции окисления анальгина йодом образуются натрия гидросульфат и две молекулы йодоводородной кислоты, одна из которых образует соль (гидройодид) с 4-метиламиноантипирином (продуктом гидролиза анальгина):

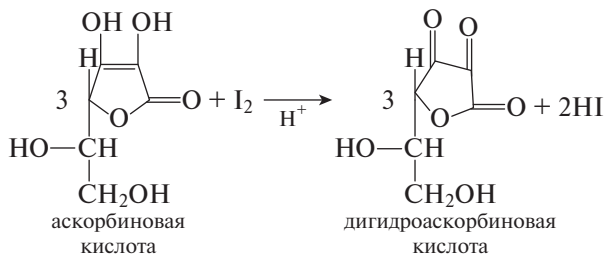


Методика. Около 0,15 г (точная навеска) субстанции помещают в сухую колбу, прибавляют 20 мл спирта 96%, 5 мл 0,01 М раствора хлороводородной кислоты и тотчас титруют 0,1 М раствором йода при перемешивании до появления желтой окраски, не исчезающей в течение 30 с.

1 мл 0,1 М раствора йода соответствует 16,67 мг безводного анальгина ($\text{C}_{13}\text{H}_{16}\text{N}_3\text{NaO}_4\text{S}$), которого должно быть не менее 99,0%. $M(1/z) = 1/2$ М. М.

Определение аскорбиновой кислоты

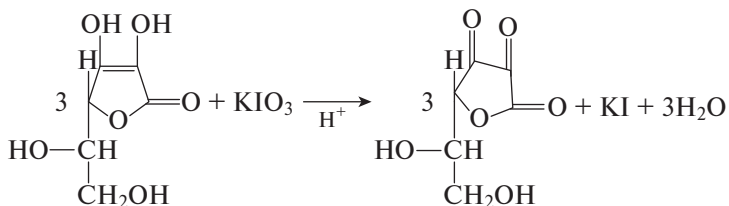
Определение основано на восстановительных свойствах лекарственного вещества и проводится йодатометрическим или йодометрическим методами.



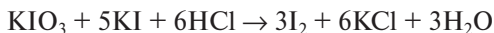
Методика. Около 0,4 г субстанции (точная навеска) растворяют в смеси 100 мл свежеприготовленной и охлажденной воды и 25 мл разведенной серной кислоты. Сразу же титруют раствор 0,1 М раствором йода, применяя в качестве индикатора раствор крахмала, прибавляемый в конце титрования.

1 мл 0,1 М раствора йода соответствует 0,008806 г аскорбиновой кислоты ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$), которой должно быть не менее 99,0% (МФ III). $M(1/z) = 1/2 \text{ М. М.}$

По НД аскорбиновая кислота определяется количественно йодатометрическим методом, основанным на окислении субстанции калия йодатом в кислой среде.



КТТ определяют по выделению йода, который образуется при взаимодействии избыточной капли титранта с калия йодидом:

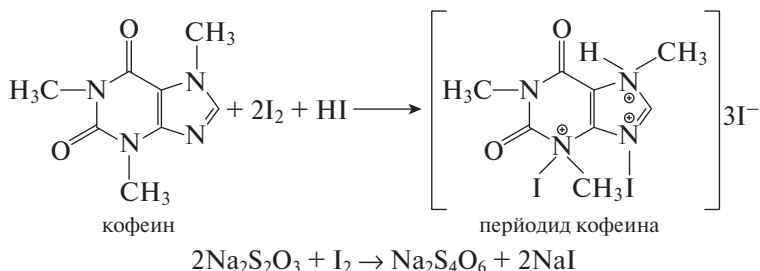


Методика. Около 0,1 г (точная навеска) субстанции растворяют в 20 мл воды, прибавляют 0,5 мл 1% раствора калия йодида, 1 мл 2% раствора хлороводородной кислоты и титруют 0,0167 М (0,1 н.) раствором калия йодата до появления стойкого слабо-синего окрашивания (индикатор — 2 мл раствора крахмала). Параллельно проводят контрольный опыт.

1 мл 0,0167 М раствора калия йодата соответствует 8,824 мг аскорбиновой кислоты ($\text{C}_6\text{H}_8\text{O}_6$), которой должно быть не менее 99,0%. $M(1/z) = 1/2 \text{ М. М.}$

Определение кофеина в кофеин-бензоате натрия

Определение основано на образовании осадка кофеина перйодида при взаимодействии лекарственного вещества с избытком титрованного раствора йода в кислой среде. После фильтрации осадка в части фильтрата определяют избыток йода путем титрования раствором натрия тиосульфата:

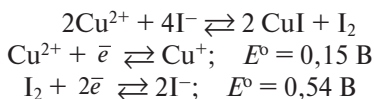


Методика. Около 0,3 г субстанции (точная навеска) растворяют в 30 мл воды в мерной колбе вместимостью 100 мл. К раствору приливают 10 мл серной кислоты разведенной, 50 мл 0,1 М раствора йода, доводят объем раствора водой до метки и тщательно перемешивают. После отстаивания в течение 15 мин раствор быстро фильтруют через ватный фильтр в сухую колбу, прикрыв воронку часовым стеклом. Первые 10—15 мл фильтрата отбрасывают. В 50 мл фильтрата избыток йода оттитровывают 0,1 М раствором натрия тиосульфата, прибавляя в конце титрования раствор крахмала. Параллельно проводят контрольный опыт.

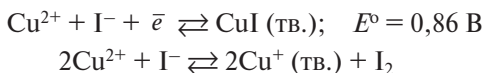
1 мл 0,1 М раствора йода соответствует 0,004855 г безводного кофеина ($\text{C}_8\text{H}_{10}\text{N}_4\text{O}_2$), которого в пересчете на сухое вещество должно быть не менее 38,0% и не более 40,0%. $M(1/z) = 1/4 \text{ М. М.}$

Определение меди сульфата

Определение основано на реакции:



Нормальный потенциал системы $\text{Cu}^{2+}/\text{Cu}^+$, равный 0,15 В, ниже потенциала системы $\text{I}_2/2\text{I}^-$ (0,54 В), однако равновесие может быть смещено вправо вследствие малой растворимости меди (I) йодида в присутствии достаточного избытка йодида. В реально протекающей полуреакции нормальный потенциал системы $\text{Cu}^{2+}/\text{Cu}^+$ равен 0,86 В:



и поэтому равновесие реакции смещено вправо.

В этой реакции йодид служит не только восстановителем меди (II), но и осадителем меди (I). Выделившийся йод титруют раствором натрия тиосульфата.

Методика. Около 0,5 г субстанции (точная навеска) растворяют в 25 мл воды, прибавляют 2 мл серной кислоты разведенной, 1,5 г калия йодида и выделившийся йод титруют 0,1 М раствором натрия тиосульфата (индикатор — крахмал).

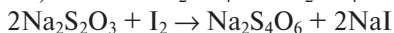
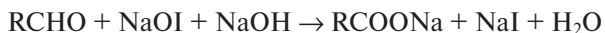
1 мл 0,1 М раствора натрия тиосульфата соответствует 0,02497 г медного купороса ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$), которого должно быть не менее 98,0% и не более 101,0%. $M(1/z) = \text{М. М.}$

Определение формальдегида и глюкозы

Определение основано на окислении альдегидной группы этих соединений раствором йода в щелочной среде, где образуется гипойодит:

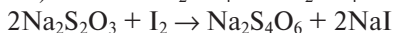
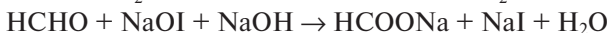


Образовавшийся гипойодит окисляет альдегиды до карбоновых кислот; после подкисления раствора остаток гипойодита с натрия йодидом образует йод, который оттитровывают стандартным раствором натрия тиосульфата.



Определение раствора формальдегида

Определение раствора формальдегида основано на реакциях:

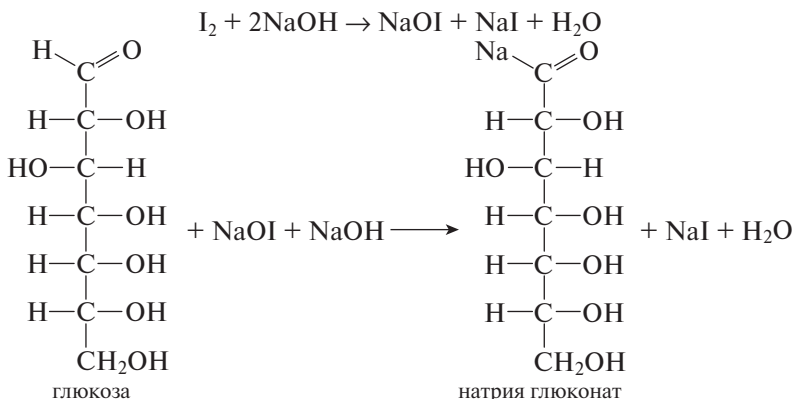


Методика. Около 1 г субстанции (точная навеска) помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл; доводят водой до объема 100 мл. К 5 мл этого раствора в колбе с притертой пробкой прибавляют 20 мл 0,1 М раствора йода и 10 мл 1 М раствора натрия гидроксида, взбалтывают и оставляют в темном месте на 10 мин. Затем прибавляют 5,5 мл 1 М раствора серной кислоты, и выделившийся йод титруют 0,1 М раствором натрия тиосульфата до обесцвечивания (индикатор — крахмал).

1 мл 0,1 М раствора йода соответствует 0,001501 г формальдегида (CH_2O), которого в лекарственном средстве должно быть 36,5—37,5%. $M(1/z) = 1/2$ М. М.

Определение глюкозы

В основе определения лежат реакции:

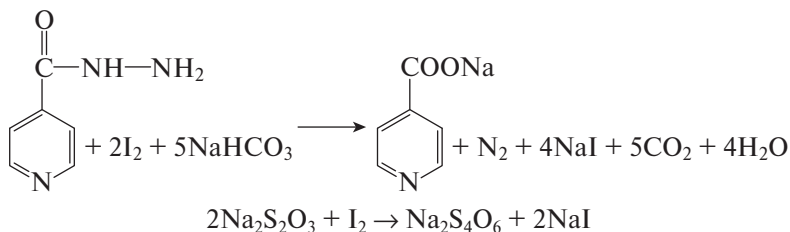


Методика. Около 0,1 г глюкозы (точная навеска) растворяют в 50 мл воды, прибавляют 25 мл 0,1 М раствора йода и 10 мл 5% раствора натрия карбоната. Оставляют на 20 мин в темном месте и прибавляют 15 мл 10% кислоты серной. Титруют выделившийся йод 0,1 М раствором натрия тиосульфата, используя раствор крахмала в качестве индикатора. Повторяют операцию без испытуемого вещества и вносят необходимые поправки.

1 мл 0,1 М раствора йода соответствует 9,008 мг глюкозы ($C_6H_{12}O_6$), которой должно быть не менее 99,0% и не более 101,5% в пересчете на безводное вещество (МФ III). $M(1/z) = 1/2$ М. М.

Определение изониазида

Изониазид в гидрокарбонатной среде окисляется избытком титрованного раствора йода до азота. Избыток йода оттитровывают раствором натрия тиосульфата.

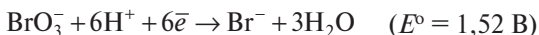


Методика. Около 0,1 г субстанции (точная навеска) помещают в коническую колбу вместимостью 500 мл с притертой пробкой, растворяют в 100 мл воды. Прибавляют 2 г натрия гидрокарбоната, 50 мл 0,1 М раствора йода и оставляют на 30 мин при температуре 38—40 °С в темном месте. После этого ставят на 10 мин в баню со льдом и затем прибавляют небольшими порциями 20 мл смеси (1 объем концентрированной хлороводородной кислоты + 2 объема воды) при охлаждении раствора. Избыток йода титруют 0,1 М раствором натрия тиосульфата (индикатор — крахмал). Параллельно проводят контрольный опыт.

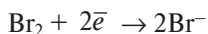
1 мл 0,1 М раствора йода соответствует 0,003428 г изониазида, которого в субстанции должно быть не менее 98,0%. $M(1/z) = 1/4$ М. М.

4.2.2.2. Броматометрия

Метод основан на применении в качестве титранта калия бромата, который в кислой среде является сильным окислителем:

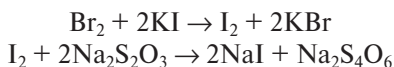


Обычно в анализируемый раствор перед титрованием добавляют калия бромид, который при взаимодействии с броматом в кислой среде выделяет бром. Образующийся бром используется как окислитель:



В качестве индикаторов при прямом броматометрическом определении чаще применяют кислотно-основные индикаторы (метилоранжевый, метиловый красный, конго красный), которые в КТТ необратимо окисляются

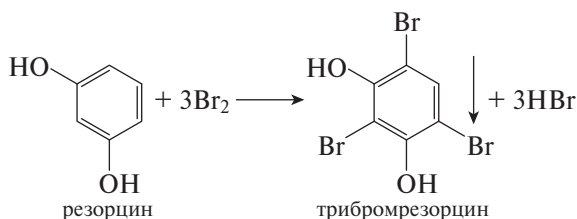
избытком окислителя (обесцвечиваются). При обратном титровании избыток брома определяют йодометрически:



Броматометрический метод применяется для количественного определения лекарственных средств, которые являются восстановителями, например, изониазида, а также фенолов (фенола, тимола, резорцина, салициловой кислоты, синэстрола и др.) и первичных ароматических аминов (например, стрептоцида). Определение фенолов и ароматических аминов основано на реакции электрофильного замещения — бромировании.

Определение резорцина

Анализ основан на реакции:

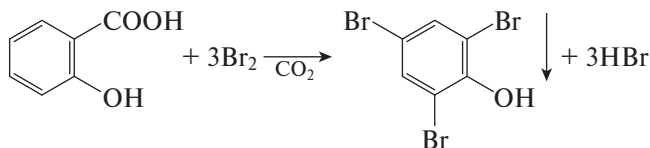


Методика. Около 0,2 г субстанции (точная навеска) помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в 20 мл воды и доводят объем раствора водой до метки. Переносят 20 мл этого раствора в склянку для бромирования вместимостью 250 мл, прибавляют 40 мл 0,0167 М (0,1 н.) раствора калия бромата, 10 мл раствора калия бромида, 10 мл 50% раствора серной кислоты, перемешивают и оставляют на 15 мин. Затем к смеси прибавляют 20 мл раствора калия йодида, смесь сильно взбалтывают и оставляют на 10 мин в темном месте. После этого добавляют 2—3 мл хлороформа и титруют выделившийся йод 0,1 М раствором натрия тиосульфата. Параллельно проводят контрольный опыт.

1 мл 0,0167 М раствора калия бромата соответствует 0,001835 г резорцина (C₆H₆O₂), которого должно быть не менее 99,0%. $M(1/z) = 1/6$ М. М.

Определение натрия салицилата

Определение основано на бромировании кислоты салициловой, при этом происходит декарбоксилирование и образуется трибромфенол.

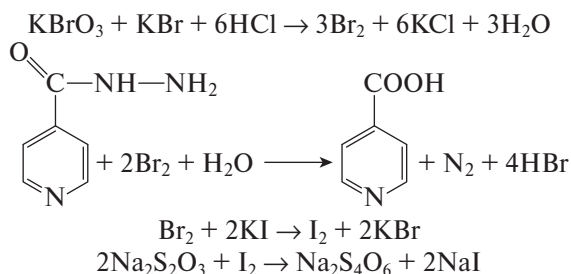


Методика. Около 0,075 г (точная навеска) натрия салицилата растворяют в 50 мл воды, прибавляют 25 мл 0,033 М раствора калия бромата, 1 г калия бромида, 10 мл 2 М раствора хлороводородной кислоты и оставляют на 15 мин. Добавляют 1 г калия йодида и оставляют в темном месте на 10 мин. Титруют 0,2 М раствором натрия тиосульфата при встряхивании.

1 мл 0,033 М раствора калия бромата соответствует 0,005336 г натрия салицилата, которого должно быть не менее 99,5%. $M(1/z) = 1/6 M$.

Определение изониазида

Определение по МФ II основано на окислении изониазида бромом, полученным из калия бромата и калия бромида в среде хлороводородной кислоты; избыток брома определяют йодометрически:

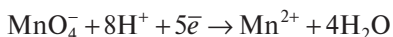


Методика. Около 0,05 г субстанции (точная навеска) растворяют в 50 мл воды в колбе с притертой пробкой; прибавляют 25 мл 0,0167 М раствора калия бромата, 2,5 г калия бромида и 10 мл хлороводородной кислоты, оставляют на 15 мин. Осторожно прибавляют 1 г калия йодида, растворенного в 5 мл воды, и титруют 0,1 М раствором натрия тиосульфата (индикатор — крахмал).

1 мл 0,0167 М раствора калия бромата соответствует 0,003429 г изониазида (C₆H₇N₃O), которого должно быть не менее 98,5% и не более 101,0% в пересчете на вещество, высушенное до постоянной массы при 105 °С. $M(1/z) = 1/4 M$.

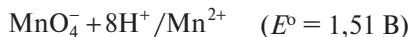
4.2.2.3. Перманганатометрия

Метод основан на реакциях окисления определяемого вещества перманганат-ионами. Титрование проводят в сильноокислых, чаще всего серноокислых растворах. Хлороводородную и азотную кислоты применять не следует, так как в их присутствии могут протекать конкурирующие окислительно-восстановительные реакции. Основное уравнение перманганатометрии:



Индикатором конца титрования служит розово-фиолетовая окраска титранта калия перманганата.

Достоинства перманганатометрического метода:



1) в связи с высоким окислительным потенциалом системы растворы калия перманганата в кислой среде можно применять для определения многих веществ, которые не взаимодействуют с более слабыми окислителями;

2) большинство окислительно-восстановительных реакций с участием ионов MnO_4^- протекают стехиометрически и при оптимально выбранных условиях с достаточной скоростью;

3) возможно титрование без индикатора;

4) калия перманганат является легкодоступным реагентом.

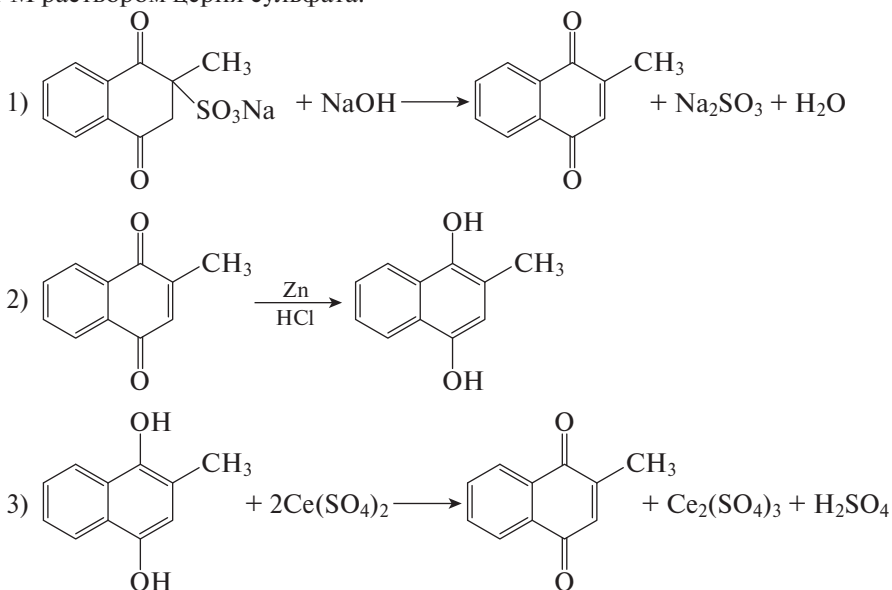
Дифенилбензидин и дифенилбензидин фиолетовый легко переходят друг в друга ($E^0(\text{Ind}_{\text{ок}}/\text{Ind}_{\text{вос}}) = 0,76 \text{ В}$).

Ферроин относится к двухцветным индикаторам, представляет собой комплексы ионов Fe^{2+} и Fe^{3+} с *o*-фенантролином.

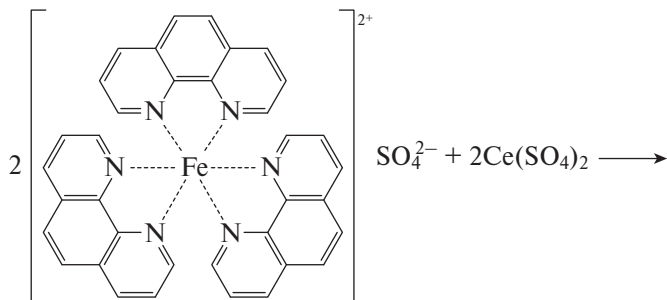
Цериметрический метод применяется для количественного определения викасола, токоферола ацетата, солей железа (II) (сульфата, глюконата), аминазина.

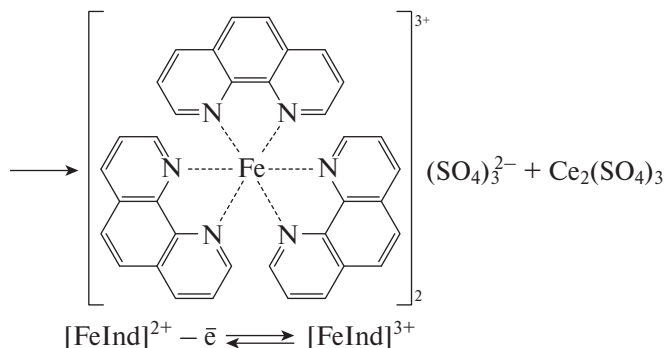
Определение викасола

Вначале действуют на лекарственное вещество щелочью и осаждают 2-метил-1,4-нафтохинон, который затем восстанавливают цинком в среде кислоты хлороводородной и титруют образовавшийся 2-метил-1,4-нафтогидрохинон 0,1 М раствором церия сульфата:



Индикатор — ферроин — красного цвета комплекс железа (II) с 1,10-фенантролином (*o*-фенантролином). В эквивалентной точке Ce^{4+} окисляет Fe^{2+} до Fe^{3+} , который с *o*-фенантролином образует комплекс голубого цвета. Титруют до зеленого окрашивания (голубой цвет комплекса с желтым раствором титранта дает зеленую окраску):



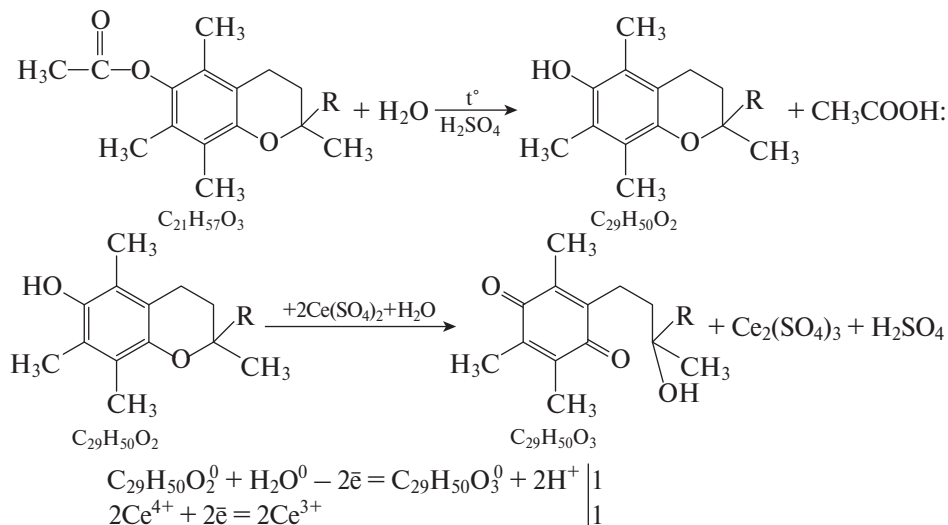


Методика. Около 0,3 г субстанции (точная навеска) растворяют в 20 мл воды, переносят в делительную воронку, прибавляют 5 мл 1 М раствора натрия гидроксида и извлекают хлороформом (3 раза по 20 мл). Объединенные хлороформные извлечения промывают 10 мл воды, фильтруют через бумажный фильтр, смоченный хлороформом, и промывают фильтр 5 мл хлороформа. Хлороформ удаляют досуха в вакууме при комнатной температуре. Остаток растворяют в 15 мл кислоты уксусной ледяной, добавляют 15 мл кислоты хлороводородной разведенной; 3 г цинковой пыли и оставляют на 30 мин в темном месте, изредка перемешивая. Затем содержимое колбы быстро фильтруют через вату в другую колбу. Осадок в колбе и фильтр немедленно промывают водой (3 раза по 10 мл). К полученному фильтрату добавляют 2—3 капли раствора *o*-фенантролина и титруют 0,1 М раствором церия сульфата до появления зеленого окрашивания. Параллельно проводят контрольный опыт.

1 мл 0,1 М раствора церия сульфата соответствует 0,01652 г викасола ($\text{C}_{11}\text{H}_9\text{NaO}_5\text{S} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$), которого должно быть не менее 95,0%. $M(1/z) = 1/2$ М. М.

Определение токоферола ацетата

Титрование проводят после кислотного гидролиза лекарственного вещества. Образовавшийся токоферол титруют 0,1 М раствором церия сульфата.



Методика. Около 0,12 г субстанции (точная навеска) растворяют в 10 мл абсолютного спирта, добавляют 10 мл раствора кислоты серной в абсолютном спирте и кипятят в течение 2 ч на водяной бане в колбе с обратным холодильником. После охлаждения до комнатной температуры смесь переводят в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводят объем раствора до метки абсолютным спиртом. К 20 мл этого раствора добавляют 20 мл абсолютного спирта, 10 мл воды и 2 капли раствора дифениламина и титруют при постоянном перемешивании 0,01 М раствором церия сульфата со скоростью 25 капель в 10 с, защищая титруемый раствор от действия прямого солнечного света, до появления сине-фиолетового окрашивания, устойчивого в течение 10 с. Параллельно проводят контрольный опыт.

1 мл 0,01 М раствора церия сульфата соответствует 0,002364 г токоферола ацетата ($C_{31}H_{52}O_3$), которого должно быть не менее 95,0%. $M(1/z) = 1/2$ М. М.

4.2.3. Нитритометрия

Нитритометрия — титриметрический метод, применяемый для количественного определения первичных ароматических аминов, их ацилированных производных (после предварительного гидролиза) или ароматических нитропроизводных, которые легко могут быть восстановлены до ароматических аминов. Этот метод может быть также использован для определения вторичных ароматических и алифатических аминов, гидразидов и других соединений. В нитритометрии титрантом является натрия нитрит.

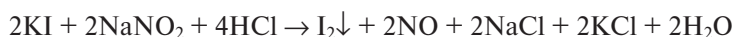
Первичные ароматические амины при действии натрия нитрита в кислой среде образуют соли диазония, а вторичные алифатические и ароматические амины — нитрозопроизводные.

КТТ определяют двумя способами: 1) электрохимическим (потенциометрическое титрование); 2) визуальным (с помощью внутренних и внешних индикаторов).

Индикатор тропеолин 00, который в кислой среде окрашен в красно-фиолетовый цвет, от избытка азотистой кислоты (HNO_2) становится бесцветным или слабо-желтым.

Йодкрахмальная бумага как внешний индикатор может быть применена во всех случаях нитритометрического определения лекарственных средств. Индикатор — йодкрахмальная бумага; фильтровальная бумага, пропитанная водными растворами крахмала и калия йодида. Титруемую жидкость стеклянной палочкой наносят на полоску йодкрахмальной бумаги.

Титрование с йодкрахмальной бумагой ведут до тех пор, пока капля титруемого раствора, взятая через 1 мин после прибавления титранта, не будет немедленно вызывать синее окрашивание бумаги, что говорит о присутствии избытка нитрита натрия в реакционной смеси:



Параллельно проводят контрольный опыт.

Методика нитритометрического определения представлена в виде общей фармакопейной статьи «Нитритометрия» (ГФ XIII).

Титрование с натрия нитритом

Если не указано иначе, точную навеску образца лекарственного средства, указанную в частной фармакопейной статье, растворяют в смеси 10 мл воды и 10 мл хлороводородной кислоты разведенной (8,3%). Прибавляют воду до общего объема 80 мл, 1 г калия бромид и при постоянном перемешивании титруют 0,1 М раствором натрия нитрита. В начале титрования прибавляют раствор натрия нитрита со скоростью 2 мл/мин, а в конце (за 0,5 мл до эквивалентного количества) — 0,05 мл/мин.

Титрование проводят при температуре раствора 15—20 °С, однако в некоторых случаях требуется охлаждение до 0—5 °С, так как соли диазония непрочные и легко разлагаются, особенно при повышенной температуре.

Точку эквивалентности определяют электрометрическими методами (потенциометрическое титрование, амперометрическое титрование), с помощью внутренних индикаторов или внешнего индикатора (йодкрахмальной бумаги). При потенциометрическом титровании в качестве индикаторного применяют платиновый электрод, при этом в качестве электродов сравнения используют хлорсеребряный или насыщенный каломельный электрод.

На электроды накладывают разность потенциалов 0,3—0,4 В, если не указано иначе в частной фармакопейной статье.

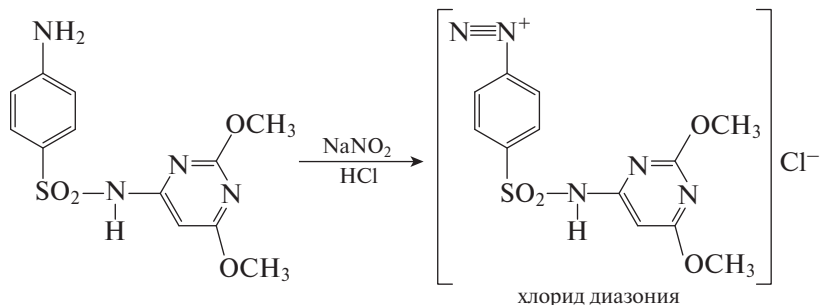
В качестве внутренних индикаторов используют тропеолин 00 (4 капли раствора), тропеолин 00 в смеси с метиленовым синим (4 капли раствора тропеолина 00 и 2 капли раствора метиленового синего), нейтральный красный (2 капли в начале и 2 капли в конце титрования).

Титрование с тропеолином 00 проводят до перехода окраски от красной к желтой, со смесью тропеолина 00 с метиленовым синим — от красно-фиолетовой к голубой, с нейтральным красным — от красно-фиолетовой к синей. Выдержку в конце титрования с нейтральным красным увеличивают до 2 мин.

Параллельно проводят контрольный опыт.

Определение сульфадиметоксина

В основе определения сульфадиметоксина лежит реакция:

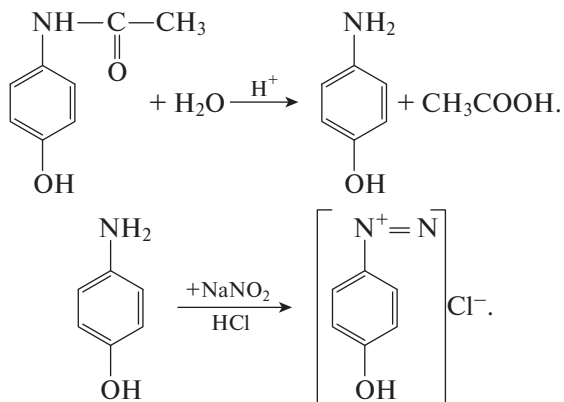


Методика. Около 0,5 г субстанции (точная навеска) растворяют в смеси 75 мл воды и 10 мл хлороводородной кислоты концентрированной и титруют по общей статье «Нитритометрия», конец титрования устанавливают по йодкрахмальной бумаге.

1 мл 0,1 М раствора натрия нитрита соответствует 31,03 мг сульфадиметоксина ($\text{C}_{12}\text{H}_{14}\text{N}_4\text{O}_4\text{S}$), которого должно быть не менее 99,0%. $M(1/z) = M$.

Определение парацетамола

Вначале проводят кислотный гидролиз лекарственного вещества, а затем образовавшийся первичный ароматический амин (*para*-аминофенол) определяют нитритометрическим методом.

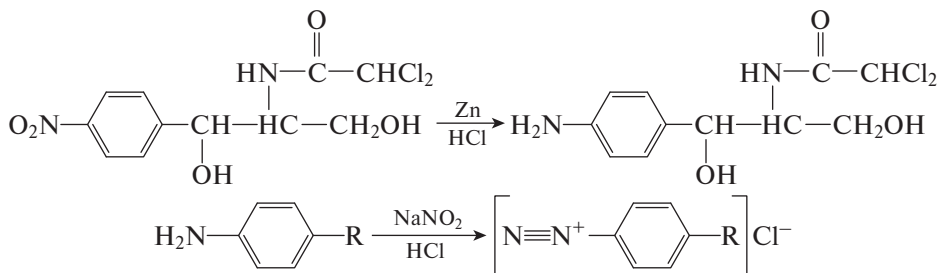


Около 0,25 г (точная навеска) субстанции кипятят с обратным холодильником с 10 мл 50% раствора серной кислоты в течение 1 ч. Холодильник промывают 30 мл воды, количественно переносят содержимое колбы в сосуд для диазотирования, разбавляют водой до 80 мл, прибавляют 1 г калия бромида и титруют как указано в общей статье «Нитритометрия». Конец титрования устанавливают по йодкрахмальной бумаге.

1 мл 0,1 М раствора натрия нитрита соответствует 15,12 мг парацетамола ($\text{C}_8\text{H}_9\text{NO}_2$), которого должно быть не менее 99,9% и не более 101,1%. $M(1/z) = M$.

Определение левомицетина

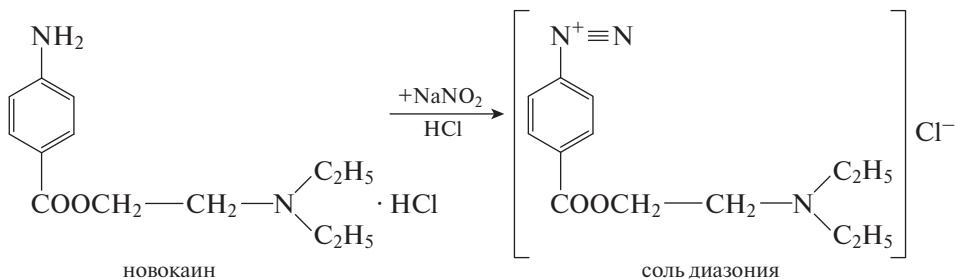
Определение проводится после восстановления ароматической нитрогруппы до аминогруппы.



Методика. Около 0,5 г (точная навеска) субстанции помещают в коническую колбу вместимостью 250 мл, прибавляют 20 мл хлороводородной кислоты концентрированной и осторожно, небольшими порциями, 5 г цинковой пыли. Остатки цинковой пыли смывают со стенок колбы 10 мл хлороводородной кислоты концентрированной и перемешивают до полного растворения цинковой пыли. Полученный раствор титруют как указано в общей статье «Нитритометрия». Одновременно проводят контрольный опыт.

1 мл 0,1 М раствора натрия нитрита соответствует 32,31 мг левомицетина ($C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$), которого должно быть не менее 99,0% в пересчете на сухое вещество. $M(1/z) = M$.

Определение новокаина гидрохлорида

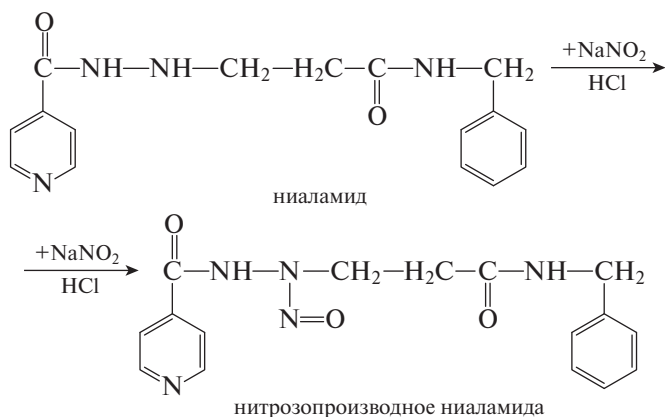


Методика. Около 0,3 г (точная навеска) субстанции растворяют в смеси 10 мл воды и 10 мл хлороводородной кислоты разведенной (8,3%). Полученный раствор титруют согласно общей статье «Нитритометрия». Одновременно проводят контрольный опыт.

1 мл 0,1 М раствора натрия нитрита соответствует 27,28 мг новокаина гидрохлорида ($C_{13}H_{20}N_2O_2 \cdot \text{HCl}$), которого должно быть не менее 99,5% и не более 101,0%. $M(1/z) = M$.

Определение ниаламида

Определение основано на образовании нитрозопроизводного ниаламида за счет вторичной алифатической аминогруппы:



Методика. Около 0,5 г субстанции (точная навеска) растворяют в 20 мл хлороводородной кислоты разведенной и далее проводят исследование по указаниям в статье «Нитритометрия». В случае применения внутренних индикаторов используют тропеолин 00 в смеси с метиленовым синим.

1 мл 0,1 М раствора натрия нитрита соответствует 0,02984 г ниаламида, которого в лекарственном веществе должно быть не менее 99,0%. $M(1/z) = M$.

4.2.4. Метод осаждения (аргентометрия)

Осадительное титрование — метод анализа, основанный на измерении объема стандартного раствора титранта-осадителя. В основном в реакциях этого метода взаимодействуют ионы в соотношении 1 : 1. Наиболее часто для количественного анализа лекарственных средств применяется реакция осаждения раствором серебра нитрата и раствором аммония тиоцианата. Многие лекарственные средства соединений галогенидов количественно определяются по реакции осаждения серебра нитратом (аргентометрия). Применяется для их анализа и меркурометрический способ, но более ограниченно вследствие токсичности соединений ртути.

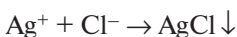
Определение точки эквивалентности проводится визуально по изменению цвета раствора или осадка в присутствии индикаторов или электрохимическими методами (чаще потенциометрическим). *Индикаторы*, используемые для установления точки эквивалентности в аргентометрическом титровании, можно разделить на группы:

- 1) индикаторы, образующие окрашенные осадки;
- 2) индикаторы, образующие окрашенные комплексы;
- 3) адсорбционные индикаторы.

Метод Мора

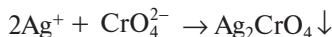
Используется для определения хлоридов и бромидов, имеющих в титруемых растворах нейтральную реакцию; титруют раствором серебра нитрата (прямое титрование). В качестве индикатора применяют калия хромат, образующий в момент полного осаждения с хлорид(бромид)-ионами оранжево-желтый осадок серебра хромата:

реакция титрования



$$\text{ПР}(\text{AgCl}) = 1,78 \cdot 10^{-10}$$

реакция в КТТ



$$\text{ПР}(\text{Ag}_2\text{CrO}_4) = 2 \cdot 10^{-12}$$

Растворимость серебра хромата значительно выше растворимости серебра хлорида (бромиды). Поэтому при малой концентрации хромат-ионов (обычно 0,005 М) в присутствии избытка хлорид-ионов при добавлении стандартного раствора серебра нитрата в первую очередь происходит осаждение серебра хлорида и только после полного осаждения серебра хлорида (момент эквивалентности) образуется серебра хромат. Титрование этим методом проводят при рН 7,0—10,0. В кислой среде равновесие смещено вправо и чувствительность индикатора резко понижается.



Титрование йодид-ионов не дает удовлетворительных результатов, так как осадок серебра йодида адсорбирует хромат-ионы и момент эквивалентности фиксируется неточно.

Определение натрия хлорида и калия хлорида

Методика. Около 1 г субстанции (точная навеска) растворяют в воде в мерной колбе вместимостью 50 мл и доводят объем раствора водой до метки. Получен-

ный раствор объемом 5 мл разбавляют водой до объема 40 мл и титруют 0,1 М раствором серебра нитрата до оранжево-желтого окрашивания (индикатор — калия хромат).

1 мл 0,1 М раствора серебра нитрата соответствует 0,007456 г калия хлорида (KCl) и 0,005844 г натрия хлорида (NaCl), которых должно быть не менее 99,5%. $M(1/z) = M$.

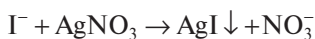
Определение калия бромида и натрия бромида

Методика. Около 0,2 г субстанции (точная навеска), предварительно высушенной при 110 °С в течение 4 ч, растворяют в 20 мл воды и титруют 0,1 М раствором серебра нитрата до оранжево-желтого окрашивания (индикатор — калия хромат).

1 мл 0,1 М раствора серебра нитрата соответствует 0,01190 г калия бромида (KBr) и 0,01029 г натрия бромида (NaBr), которых в высушенном лекарственном средстве должно быть не менее 99,0% и не более 100,6%. $M(1/z) = M$.

Метод Фольгарда

Основан на осаждении галогенидов избытком стандартного раствора серебра нитрата и титровании избытка серебра нитрата стандартным раствором аммония тиоцианата в кислой среде (обратное титрование). В качестве индикатора используют растворы солей железа (III), например железа (III) аммония сульфат (квасцы железоаммониевые). После осаждения избытка ионов серебра аммония тиоцианатом избыток титранта (аммония тиоцианата) образует с Fe^{3+} в растворе красного цвета комплексы $[Fe(SCN)]^{2+}$, $[Fe(SCN)_2]^+$, $[Fe(SCN)_6]^{3-}$.



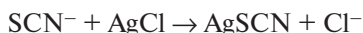
Реакция титрования:



Реакция в конечной точке титрования:

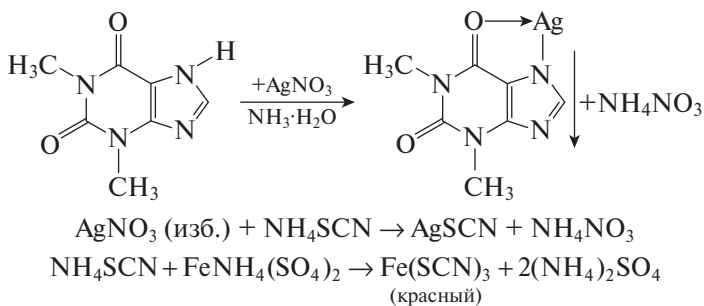


Осадки серебра йодида и серебра бромида менее растворимы, чем серебра тиоцианат, и поэтому избыток серебра нитрата титруют непосредственно раствором аммония тиоцианата. Серебра хлорид, напротив, более растворим, чем тиоцианат, и его следует отделять фильтрованием, чтобы при титровании он не перешел в тиоцианат:



Определение теофиллина в эуфиллине

Определение основано на осаждении соли серебра теофиллина в присутствии аммиака при нагревании и титровании избытка серебра нитрата раствором аммония тиоцианата (после фильтрования осадка).



Методика. Помещают около 0,25 г субстанции (точная навеска) в коническую колбу вместимостью 250 мл, прибавляют 50 мл воды, 8 мл 10% раствора аммиака и слегка нагревают смесь на водяной бане до получения раствора. Прибавляют 20 мл 0,1 М раствора серебра нитрата, перемешивают, нагревают и кипятят в течение 15 мин. Охлаждают до температуры 5—10 °С в течение 20 мин, затем фильтруют через стеклянный фильтр при разреженном давлении и промывают осадок тремя порциями воды по 10 мл. Подкисляют объединенные фильтраты и промывные воды азотной кислотой концентрированной, затем прибавляют еще 3 мл этой кислоты. Охлаждают, прибавляют 2 мл раствора железа (III) аммония сульфата и титруют избыток серебра нитрата раствором аммония тиоцианата.

1 мл 0,1 М раствора серебра нитрата соответствует 18,02 мг теофиллина ($\text{C}_7\text{H}_8\text{N}_4\text{O}_2$), которого должно быть не менее 78,0% и не более 86,0% в субстанции (МФ III). $M(1/z) = \text{М. М.}$

Метод Фаянса

Метод основан на применении *адсорбционных индикаторов* — кислоты или соли, которые в момент эквивалентности адсорбируются на осадке серебра галогенида и изменяют цвет осадка. В первую очередь на осадке адсорбируются ионы, одноименные с осадком. Например, при титровании раствора калия йодида раствором серебра нитрата на осадке серебра йодида до точки эквивалентности будут адсорбироваться преимущественно йодид-ионы и для нейтрализации отрицательного заряда к частицам осадка будут притягиваться положительно заряженные ионы K^+ из раствора. После достижения точки эквивалентности адсорбироваться на осадке будут избыточные ионы Ag^+ , и для нейтрализации положительного заряда осадка из раствора будут притягиваться отрицательно заряженные ионы, в том числе анионы индикатора, которые изменяют желтый цвет осадка AgI на розовый (индикатор натрия эозинат).

Реакция титрования: $\text{Ag}^+ + \text{I}^- \rightarrow \text{AgI} \downarrow$

Реакция в конечной точке титрования: $\text{Ag}^+ + \text{AgI} + \text{Ind}^- \rightarrow \text{AgI} : \text{Ag}^+ : \text{Ind}^- \downarrow$
(розовый)

Титрование с адсорбционными индикаторами проводится при определенном значении рН среды, при котором преобладает ионная форма индикатора.

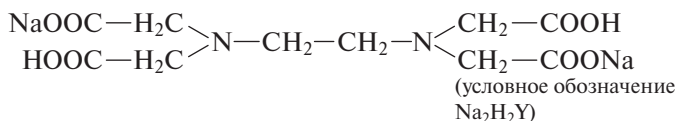
Определение калия йодида и натрия йодида

Методика. Около 0,3 г субстанции (точная навеска), предварительно высушенной при 110 °С в течение 4 ч, растворяют в 30 мл воды, прибавляют 1,5 мл разведенной уксусной кислоты, 5 капель 0,1% раствора натрия эозината и титруют 0,1 М раствором серебра нитрата до перехода окраски осадка от желтой до розовой.

1 мл 0,1 М раствора серебра нитрата соответствует 0,01660 г калия йодида (KI), которого в высушенном лекарственном средстве должно быть не менее 99,5%, или 0,01499 г натрия йодида (NaI), которого в высушенном лекарственном средстве должно быть не менее 99,0%. $M(1/z) = M$. М.

4.2.5. Комплексонометрия

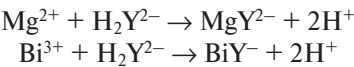
Комплексонометрия — титриметрический метод, основанный на реакциях комплексообразования ионов металлов с комплексоном. **Комплексономы** называют полидентатные хелатообразующие органические соединения, отличающиеся наличием в их молекулах основных и кислотных групп, обеспечивающих образование прочных растворимых в воде комплексов (*хелатов*) с ионами металлов. Основной группой обычно является третичная аминогруппа, в которой атом азота имеет неподеленную пару *p*-электронов; кислотной группой может быть ацетатная —CH₂COOH или карбоксильная —COOH и др. В качестве **титранта** наиболее часто применяются комплексон III, трилон Б, динариевая соль кислоты этилендиаминтетрауксусной (ЭДТА) — динатрия эдетат. Для написания формулы ЭДТА и ее ионов часто используют сокращения H₄Y, H₃Y[−], H₂Y^{2−}, HY^{3−}, Y^{4−}



ЭДТА — шестидентатный лиганд, так как содержит четыре карбоксильные группы и два атома азота, имеющие каждый по неподеленной паре электронов. С большинством металлов, несущих более одного положительного заряда, ЭДТА образует бесцветные хорошо растворимые в воде устойчивые хелатные комплексы октаэдрической структуры, которые состоят не менее чем из трех пятичленных хелатных колец. Хелаты ЭДТА с ионами металлов называют **комплексонатами**. Комплексонаты ионов металлов с координационным числом 6, например Fe³⁺, имеют пять хелатных циклов, а с координационным числом 4, например Zn²⁺, — три хелатных цикла.



Наиболее ценным свойством ЭДТА как титранта является его способность реагировать с ионами металла в соотношении 1 : 1 независимо от зарядов катиона, при этом происходит выделение двух ионов водорода, например:



Для связывания ионов водорода в анализируемый раствор добавляют аммиачный буфер или щелочь. Если определение проводят в кислой среде, ионы водорода не связываются.

Стабильность комплексов металлов с ЭДТА в значительной степени зависит от pH раствора. Большинство двухвалентных металлов образуют комплексы, устойчивые в щелочной среде, но хелаты щелочноземельных металлов разрушаются при pH < 8,0; в то же время многие комплексы двухвалентных металлов (например, цинка и свинца) также устойчивы в достаточно кислом растворе. Комплексы трехвалентных металлов благодаря дополнительной стабильности, которая обеспечивается увеличенным числом хелатных колец, часто устойчивы даже в сильноокислых растворах (табл. 4.7)

Таблица 4.7

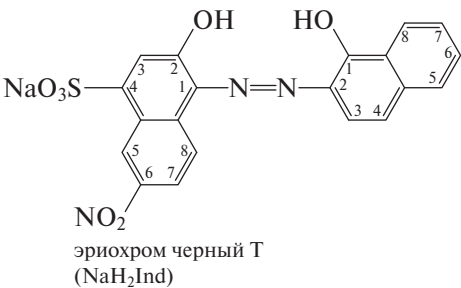
Константы стабильности хелатов ЭДТА с некоторыми металлами для 0,1 моль/л растворов при 20 °С

Металл или ион	Mg	Ca	Zn	Pb	Hg ²⁺	Fe ³⁺
Константа	8,7	10,6	16,1	17,6	20,4	25,1

Точку эквивалентности в комплексонометрии устанавливают *металлоиндикаторами* — органическими красителями, образующими с ионами титруемого металла интенсивно окрашенные комплексы, цвет которых отличается от окраски свободного индикатора, свойственного ему при данном значении pH.

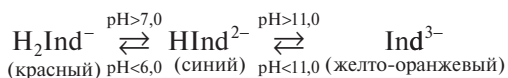
Комплекс индикатора с ионом металла должен быть достаточно устойчивым, но примерно в 10 раз менее устойчивым, чем комплекс металла с ЭДТА. Концентрация индикатора в растворе должна быть достаточно малой (индикатор должен связывать менее 0,01 ионов металла), изменение окраски индикатора должно быть четким, контрастным и быстрым.

Наиболее применяемый индикатор — эриохром черный Т (кислотный хром черный специальный, хромоген черный специальный ЕТ-00) — натриевая соль слабой трехосновной кислоты:



где Н — протоны индикатора 1[1-(гидрокси-2-нафтил)азо]-6-нитро-2-нафтол-4-сульфо кислоты натриевая соль.

Эриохром черный Т за счет 0,0'-диоксиазогруппы способен образовывать хелаты с ионами металлов. При $\text{pH} < 6,0$ протон сульфогруппы диссоциирован и индикатор присутствует в виде иона красного цвета; при $\text{pH} > 7,0$ преобладает форма HInd^{2-} синего цвета, а при $\text{pH} > 12,0$ полностью депротонированный ион Ind^{3-} желто-оранжевого цвета:



Комплексы металлов с эриохромом черным Т имеют красный цвет, поэтому для получения четкого перехода цвета (красный \rightarrow синий) необходимо проводить титрование с эриохромом черным Т в щелочной среде при $\text{pH} = 7,0\text{--}11,0$. При образовании комплексов металлов в этом интервале протон второго фенольного гидроксила замещается ионом металла, и полученный комплекс становится полностью депротонированным и для двухвалентных металлов имеет состав MInd^- .

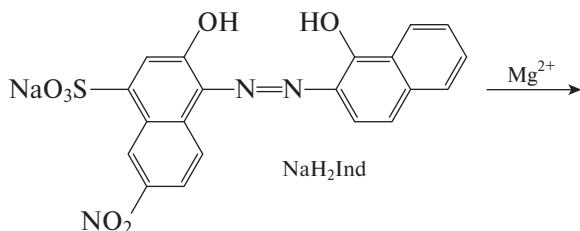
Эриохром черный Т применяется для титрования солей магния и цинка при $\text{pH} = 9,5\text{--}10,0$. Недостатком индикатора является малая устойчивость его растворов во времени. Поэтому чаще его применяют в смеси с натрия хлоридом (1: 100) (индикаторная смесь).

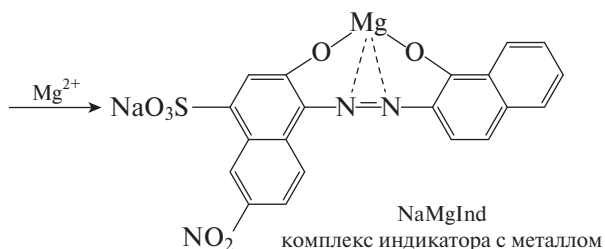
4.2.5.1. Методы титрования растворами ЭДТА

Прямое титрование используют при определении ионов металлов, быстро реагирующих с ЭДТА, при условии существования подходящего индикатора для определения КТТ. В способе прямого титрования к аликвотной части анализируемого раствора прибавляют буферный раствор для создания необходимого значения pH , вводят индикатор и титруют стандартным раствором ЭДТА до изменения окраски раствора. Способ прямого титрования применяют для определения ионов Ca^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+} , Bi^{3+} , Co^{2+} , Mn^{2+} и др.

Процесс *прямого комплексонометрического титрования* состоит из трех стадий:

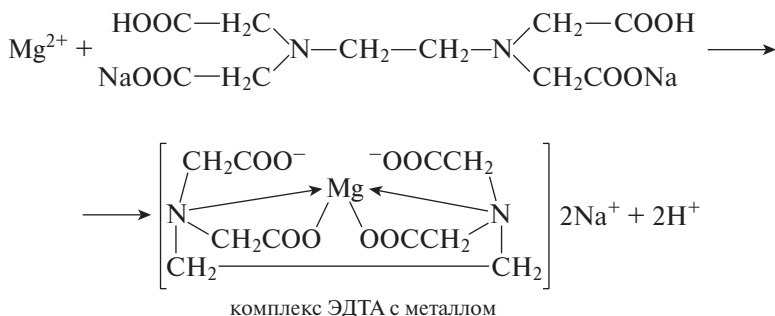
1) образование окрашенного комплекса индикатора с металлом. При добавлении индикатора к раствору, содержащему определяемый катион, образуется окрашенный комплекс металла с индикатором. Например, при определении магния сульфата точную навеску лекарственного вещества около 0,15 г растворяют в 50 мл воды, добавляют 5 мл аммиачного буферного раствора с $\text{pH} = 9,5\text{--}10,0$ и 0,1 г индикаторной смеси эриохрома черного Т. Образуется комплекс красно-фиолетового цвета эриохрома черного Т с магнием:



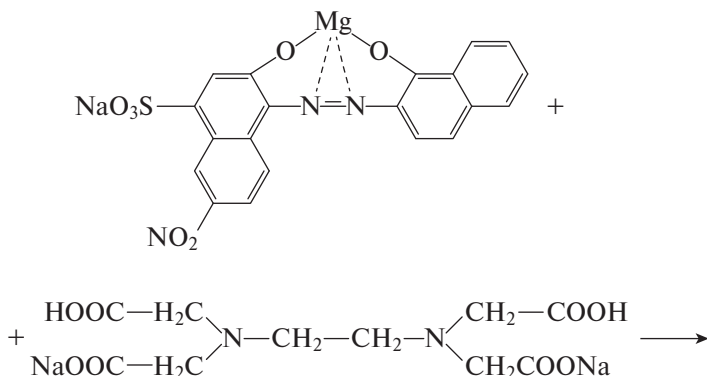


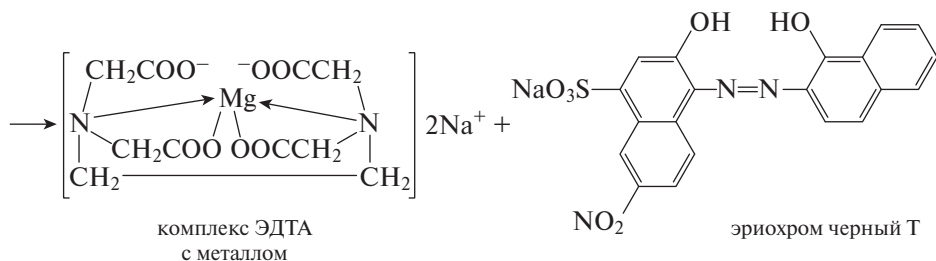
Далее титруют 0,05 М раствором трилона Б до появления синего окрашивания.

2) титрование раствором трилона Б свободных ионов металла. Индикатор добавляется в таком количестве, чтобы связать менее 0,01 (т. е. менее 1%) ионов металла. Следовательно, более 99% ионов металла находится в свободном виде и в ходе титрования связывается комплексоном в бесцветный растворимый комплекс ЭДТА с металлом:



3) разрушение комплекса металл—индикатор и образование более устойчивого комплекса металл—ЭДТА и свободного индикатора (конечная точка титрования). Конечная точка титрования достигается после того, как все ионы магния будут оттитрованы и добавлен избыток раствора трилона Б (1—2 капли). При этом красно-фиолетовая окраска раствора переходит в синюю:





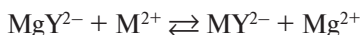
Обратное титрование применяют:

- при отсутствии подходящего индикатора для прямого титрования определяемого иона;
- при медленном протекании реакции иона определяемого металла с ЭДТА;
- в случае гидролиза ионов определяемого металла при оптимальной величине pH образования комплексоновата.

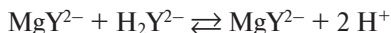
Обратное титрование применяют для определения катионов, образующих с ЭДТА очень устойчивые комплексы (например, Hg^{2+} — условная константа устойчивости — 20,4; Pb^{2+} — условная константа устойчивости — 17,6).

К анализируемому раствору, содержащему определяемый катион, добавляют избыток стандартного раствора ЭДТА (при оптимальном pH и в присутствии индикатора). Образуется комплекс определяемого катиона с ЭДТА, а избыток ЭДТА определяют обратным титрованием стандартным раствором магния сульфата или цинка сульфата в присутствии индикатора (чаще всего кислотного хром черного специального).

Титрование по заместителю, или *вытеснительное титрование*, используют наряду с методом обратного титрования, когда невозможно провести прямое титрование. При титровании по заместителю в анализируемый раствор вводят избыток ЭДТА в виде комплекса с магнием или цинком. Если катион определяемого металла образует с ЭДТА более устойчивый комплекс, чем магний или цинк, происходит реакция замещения:



Выделившиеся ионы магния в количестве, эквивалентном содержанию определяемых ионов, выявляют прямым титрованием раствором ЭДТА:



В общей фармакопейной статье «Комплексонометрическое титрование» приведены методики определения катионов алюминия, висмута, кальция, свинца, магния и цинка (ГФ XI, вып. 1, с. 186).

Определение катионов магния

Титрование проводят в аммиачном буферном растворе при $\text{pH} = 9,5\text{--}10,0$ с индикатором эриохромом черным Т.

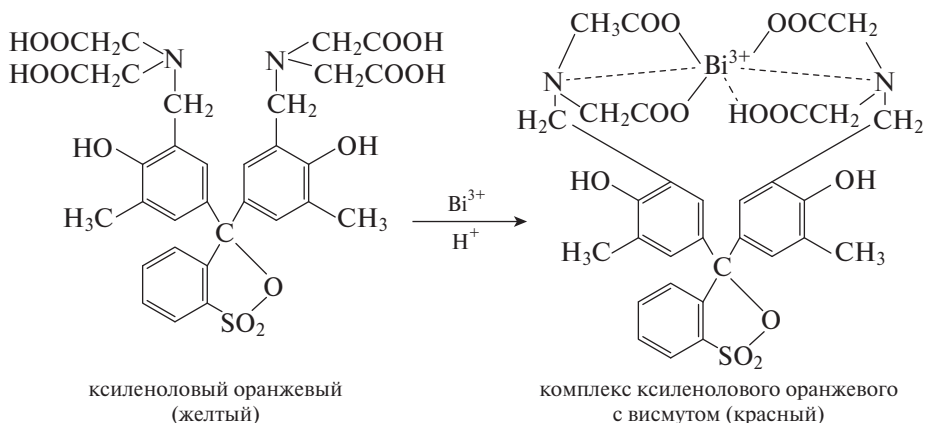
Методика. Точную навеску субстанции (соответствующую 0,02—0,03 г магния) растворяют, как указано в частной статье. Прибавляют 50 мл воды, 10 мл

буферного раствора с $\text{pH} = 9,5\text{--}10,0$, 0,1 г индикаторной смеси или 7 капель раствора индикатора эриохрома черного Т и титруют 0,05 М раствором трилона Б до синего окрашивания.

1 мл 0,05 М раствора трилона Б соответствует 0,001215 г магния. $M(1/z) = M$.

Определение катионов висмута

Определение проводят в кислой среде при $\text{pH} = 1,0\text{--}2,0$ с индикатором ксиленоловым оранжевым, который является трифенилметановым красителем. В кислой среде свободный индикатор окрашен в желтый цвет, а его комплекс с висмутом — в красный.



Методика. Точную навеску субстанции (соответствующую 0,1—0,2 г висмута) растворяют, как указано в частной статье. Прибавляют 50 мл воды и доводят pH до 1,0—2,0, добавляя по каплям кислоту азотную или раствор аммиака. Прибавляют 0,05 г индикаторной смеси ксиленолового оранжевого (0,1 г индикатора и 10 г калия нитрата растирают в ступке и перемешивают) и медленно титруют 0,05 М раствором трилона Б до желтого окрашивания.

1 мл 0,05 М раствора трилона Б соответствует 0,01045 г висмута. $M(1/z) = M$.

Определение катиона цинка

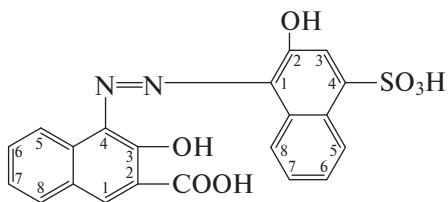
Проводится в слабокислой среде, в качестве буфера применяется гексаметилентетрамин.

Методика. Точную навеску субстанции (соответствующую 0,06—0,08 г цинка) растворяют, как указано в частной статье. Прибавляют 50 мл воды, 0,05 г индикаторной смеси ксиленолового оранжевого, 5 г гексаметилентетрамина и титруют 0,05 М раствором трилона Б до желтого окрашивания.

1 мл 0,05 М раствора трилона Б соответствует 0,003268 г цинка. $M(1/z) = M$.

Определение катиона кальция

Определение кальция проводится с индикатором хромовым темно-синим при $\text{pH} = 9,5\text{--}10,0$ (аммиачный буфер) или с индикатором кальконкарбоновой кислотой при добавлении натрия гидроксида.



кислота кальконкарбоновая

3-гидрокси-4-(2-гидрокси-4-сульфо-1-нафтилазо)-2-нафтойная кислота

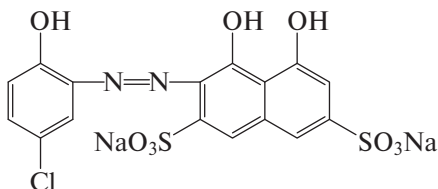
Кальконкарбоновая кислота в щелочной среде ($\text{pH} = 12,0\text{—}14,0$) имеет синюю окраску, а ее комплексы с кальцием в тех же условиях — розовую. Индикатор недостаточно устойчив в щелочной среде, поэтому его добавляют в конце титрования.

Хромовый темно-синий (кислотный хромовый темно-синий) в щелочной среде ($\text{pH} = 9,5\text{—}10,0$) имеет сине-фиолетовую окраску, а его комплексы с кальцием, магнием и цинком в тех же условиях — вишнево-красную.

Методика. Точную навеску субстанции (0,04—0,05 г кальция) растворяют, как указано в частной статье, в воде или хлороводородной кислоте разведенной и далее проводят определение по одному из приведенных способов:

а) доводят объем раствора водой до 100 мл и титруют 0,05 М раствором трилона Б. В конце титрования прибавляют 4 мл 30% раствора натрия гидроксида, 3 мл раствора кальконкарбоновой кислоты (0,025 г индикатора растворяют в 100 мл 50% спирта), появляется розовое окрашивание, продолжают титрование до перехода окраски в интенсивно-синюю;

б) доводят объем раствора водой до 50 мл, прибавляют 10 мл буферного раствора с $\text{pH} = 9,5\text{—}10,0$, 0,1 г индикаторной смеси (0,25 г индикатора и 25 г натрия хлорида растирают в ступке и перемешивают) или 7 капель раствора индикатора кислотного хромового темно-синего и титруют 0,05 М раствором трилона Б до сине-фиолетового окрашивания.



хромовый темно-синий (кислотный хром темно-синий)

2-(5-хлор-2-гидроксифенил)-азо-1,8-дигидрокси-нафталин-3,6-дисульфоновой кислоты динатриевая соль

Определение кальция хлорида

Методика. Около 0,8 г субстанции (точная навеска), отвешенных в закрывающемся бюксе, растворяют в воде, переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора водой до метки и тщательно перемешивают. К 25 мл приготовленного раствора прибавляют 5 мл аммиачного буферного раствора, 0,1 г индикаторной смеси или 7 капель раствора кислотного хромового темно-синего и титруют 0,05 М раствором трилона Б до сине-фиолетового окрашивания. Одновременно проводят контрольный опыт.

1 мл 0,05 М раствора трилона Б соответствует 0,01095 г кальция хлорида ($\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), которого в лекарственном средстве должно быть не менее 98,0%. $M(1/z) = M$.

Определение кальция глюконата

Методика. Около 0,4 г (точная навеска) субстанции растворяют при нагревании в 20 мл воды. После охлаждения прибавляют 10 мл аммиачного буферного раствора и титруют 0,05 М раствором натрия эдетата до появления сине-фиолетового окрашивания (индикатор — 0,5 мл раствора кислотного хромового темно-синего).

1 мл 0,05 М раствора трилона Б соответствует 22,42 мг кальция глюконата ($\text{C}_{12}\text{H}_{22}\text{CaO}_{14} \cdot \text{H}_2\text{O}$), которого должно быть не менее 99,0% и не более 101,6% для приготовления стерильных лекарственных форм и не менее 98,5% и не более 102,0% для приготовления нестерильных лекарственных форм. $M(1/z) = M$.

Определение магния сульфата

Методика. Около 0,15 г субстанции (точная навеска) растворяют в 50 мл воды, прибавляют 5 мл аммиачного буферного раствора и титруют при энергичном перемешивании 0,05 М раствором натрия эдетата до появления синего окрашивания (индикатор — кислотный хром черный специальный). Одновременно проводят контрольный опыт.

1 мл 0,05 М раствора натрия эдетата соответствует 12,32 мг магния сульфата ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$), которого должно быть не менее 99,0%. $M(1/z) = M$.

4.2.6. Определение азота в органических соединениях методом Кьельдаля

Определение азота в органических соединениях основано на *минерализации* азотсодержащего органического соединения при кипячении с серной кислотой концентрированной (азот минерализуется до аммиака, который с серной кислотой образует аммония сульфат), получении аммиака при добавлении раствора натрия гидроксида к минерализату и отгонке аммиака в раствор борной кислоты с последующим титрованием отгона раствором хлороводородной кислоты (прямое титрование, методы 1 и 2); методом обратного титрования (метод 3) отгоняют аммиак с водяным паром в приемник с избытком стандартного раствора серной или хлороводородной кислоты, избыток которой затем титруют стандартным раствором натрия гидроксида. По результатам титрования рассчитывают содержание азота.

Прибор для определения азота (рис. 4.1) состоит из парообразователя (1) с предохранительной трубкой (2), сменных грушевидных колб с длинным горлом (3), воронки для ввода щелочи (4) с зажимом или краном (5), брызгоуловителя (6), прямого холодильника (7) и сменных конических колб-приемников (8).

Стеклопосуда должна быть термостойкой. Прибор помещают в вытяжной шкаф. Вместо описанного прибора могут быть использованы приборы для автоматизированного определения азота по Кьельдалю. В таком случае определение проводят в соответствии с инструкцией, прилагаемой к прибору.

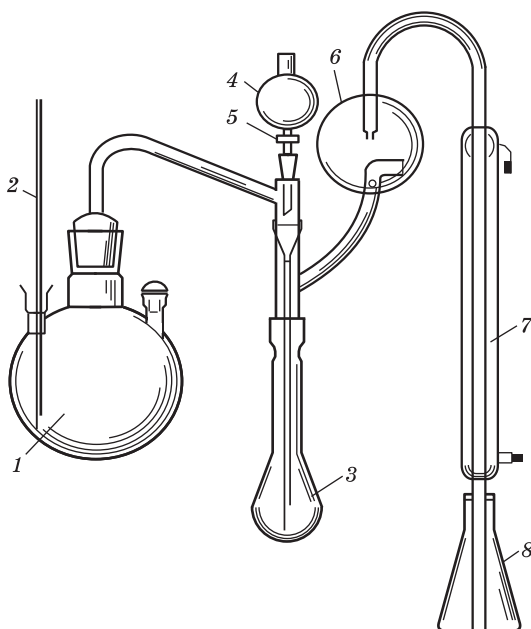


Рис. 4.1. Прибор для определения азота в органических соединениях

4.2.6.1. Общая статья «Определение азота в органических соединениях методом Кельдаля» по ГФ XII

1. Метод Кельдаля

В колбу Кельдаля (3) вместимостью 200—300 мл (другие объемы от 50 до 500 мл указаны в частной фармакопейной статье) помещают точную навеску или точный объем образца лекарственного средства (0,5—10,0 мл) с содержанием азота около 14—35 мг (если требуется пробоподготовка, она должна быть описана в частной фармакопейной статье), три стеклянных шарика для пенящихся веществ и 1 г растертой смеси калия сульфата и меди сульфата, взятых в соотношении 10 : 1 (другой состав смеси катализаторов указан в частной фармакопейной статье). Для трудносжигаемых веществ дополнительно в колбу (3) добавляют 0,05 г металлического селена и/или 1 мл водорода пероксида. Прибавляют 7 мл серной кислоты концентрированной и осторожно вращают колбу для стекания кислоты со стенок и ее перемешивания с содержимым колбы. Постепенно нагревают колбу (3), закрытую стеклянной воронкой, на асбестовой сетке над открытым пламенем газовой горелки или в электронагревательном приборе и далее кипятят содержимое в течение нескольких часов до получения раствора светло-зеленого цвета. На стенках колбы не должно оставаться обугленного вещества. Кипячение продолжают еще 30 мин или более до просветления раствора. Если при кипячении происходит сильное пенообразование, рекомендуется снять колбу Кельдаля с нагревательного прибора и дать пене осесть, затем снова продолжают нагревание, не допуская попадания пены в горло колбы. После охлаждения колбы Кельдаля в нее осторожно добавля-

ют 20 мл воды, вращая колбу для перемешивания содержимого, вновь охлаждают и присоединяют колбу к собранному аппарату, заранее промытому путем пропускания через него пара. В парообразователь наливают воду не менее половины объема, подкисленную 0,5 М или 0,05 М раствором серной кислоты по индикатору метиловому красному (2—3 капли) до слабо-розового цвета, для связывания аммиака, который может попасть из воздуха. Для обеспечения равномерного кипения воды в парообразователь помещают стеклянные шарики. В приемник перед началом отгонки наливают 20 мл 4% раствора кислоты борной и прибавляют 0,25 мл (5 капель) смешанного индикатора. Нижний конец внутренней трубки холодильника должен быть опущен в раствор, находящийся в приемнике. После сборки прибора в холодильник пускают воду и доводят до кипения воду в парообразователе. Затем в колбу (3) из воронки медленно по каплям прибавляют 40 мл 30% раствора натрия гидроксида, следя за тем, чтобы раствор в колбе (3) энергично перемешивался поступающим паром. Для обеспечения большей герметичности прибора в воронке следует оставлять некоторый избыток 30% раствора натрия гидроксида. Собирают около 100 мл отгона (или количество, указанное в частной фармакопейной статье). Во время отгонки колбу Кьельдаля нагревают так, чтобы объем жидкости в ней оставался постоянным. По окончании отгонки опускают приемник, трубку холодильника выводят из жидкости, промывают снаружи водой, продолжая подачу пара в колбу (3) в течение 1—2 мин; промывную воду собирают в тот же приемник. После этого прекращают нагревание парообразователя и немедленно отсоединяют колбу Кьельдаля от прибора. По окончании отгонки дистиллят титруют 0,1 М раствором хлороводородной кислоты или 0,05 М раствором серной кислоты (должно быть указано в частной фармакопейной статье) до перехода окраски смешанного индикатора из зеленой в красно-фиолетовую.

Проводят контрольный опыт таким же образом и с теми же реактивами, но без испытуемого образца; полученный результат используют для внесения поправки при расчете содержания азота.

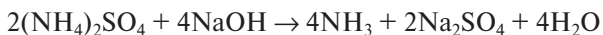
1 мл 0,1 М раствора хлороводородной кислоты или 0,05 М раствора серной кислоты соответствует 1,401 мг азота.

2. Микрометод Кьельдаля

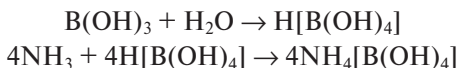
В колбу Кьельдаля вместимостью от 50 до 250 мл помещают точную навеску или указанный в частной фармакопейной статье объем образца лекарственного средства с содержанием азота 1,4—3,5 мг. Остальные операции проводят, как указано выше в методе 1, используя описанную ранее смесь катализаторов или, например, в лекарственных средствах, выделенных из природных источников или полученных биотехнологическими методами, 0,25 г смеси калия сульфата, меди сульфата и натрия селената в соотношении 20 : 5 : 8,5; в этом случае вместо 7 мл прибавляют 2 мл серной кислоты концентрированной.

В случае указанных лекарственных средств минерализацию проводят до тех пор, пока раствор не станет прозрачным. После этого нагревание продолжают еще 30 мин. В конце минерализации, когда вода испарится, прибавляют 1—3 капли водорода пероксида и продолжают нагревание в течение 10 мин до обесцвечивания раствора.

2) образование аммиака при добавлении к полученному раствору 30% раствора натрия гидроксида:



3) отгонка аммиака с водяным паром в приемник, содержащий 4% раствор кислоты борной, с образованием тетрагидроксидбората аммония (соли комплексной кислоты):



4) титрование тетрагидроксидбората аммония 0,1 М раствором хлороводородной кислоты:



Молярная масса эквивалента равна $1/4$ молекулярной массы дипрофилина.

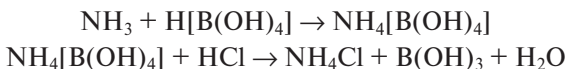
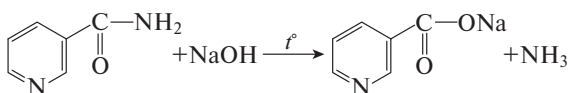
Методика. Около 0,1 г субстанции (точная навеска) помещают в колбу Кьельдаля вместимостью 200 мл и далее поступают, как указано в статье «Определение азота в органических соединениях методом Кьельдаля».

1 мл 0,1 М раствора хлороводородной кислоты соответствует 0,006356 г дипрофилина, которого в лекарственном средстве должно быть не менее 98,5%.
 $M(1/z) = 1/4 \text{ М. М.}$

Определение никотинамида

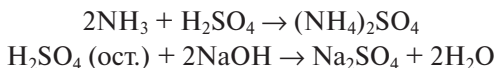
Амиды карбоновых кислот можно определять без стадии минерализации. Навеску лекарственного средства помещают в колбу Кьельдаля (колбу 3), собирают прибор, прибавляют раствор гидроксида натрия, выделившийся аммиак отгоняют с водяным паром в приемник с раствором борной кислоты. Отгон титруют 0,1 М раствором хлороводородной кислоты.

Определение основано на следующих реакциях:



Молярная масса эквивалента равна молярной массе никотинамида.

В некоторых методиках рекомендуется помещать в приемник не раствор борной кислоты, а 0,1 М раствор хлороводородной или серной кислоты в избытке. В этом случае выделившийся аммиак реагирует с серной кислотой, а избыток последней оттитровывают 0,1 М раствором натрия гидроксида:



$M(1/z) = \text{М. М.}$

Методика. Около 0,2 г никотинамида (точная навеска) растворяют в 75 мл воды в колбе Кьельдаля вместимостью 200 мл. Колбу присоединяют к прибору для отгонки аммиака (См. «Определение азота в органических соединениях»).

В колбу добавляют 25 мл 40% раствора натрия гидроксида и отгоняют с водяным паром полученный аммиак в приемник, содержащий 35 мл 0,1 М раствора серной кислоты. Перегонку заканчивают, когда в приемнике соберется около 300 мл жидкости. Избыток серной кислоты оттитровывают 0,1 М раствором натрия гидроксида. Индикатор — метиловый красный. Одновременно в тех же условиях проводят контрольный опыт.

1 мл 0,1 М раствора серной кислоты соответствует 0,01221 г никотинамида, которого должно быть не менее 98,5%. $M(1/z) = M$.

4.2.7. Метод сжигания веществ в колбе с кислородом

Метод применяется для определения галогенов (хлора, брома, йода, фтора), серы и фосфора.

Сущность метода состоит в разрушении органических веществ сжиганием в атмосфере кислорода, растворении образующихся продуктов сгорания в поглощающей жидкости и последующем определении элементов, находящихся в растворе в виде ионов.

Сожжение проводят в конической или круглодонной колбе вместимостью 750—1000 мл из термостойкого стекла со шлифом. В пробку колбы впаяна платиновая или нихромовая проволока диаметром 0,7—0,8 мм, заканчивающаяся платиновой или нихромовой корзиночкой либо спиралью (держатель), находящимися на расстоянии 1,5—2 см от дна колбы (рис. 4.2).

Около 0,05 г тонкоизмельченного вещества (точная навеска) насыпают на фильтровальную бумагу (рис. 4.3), которую сворачивают в виде пакетика, оставляя узкую полоску.

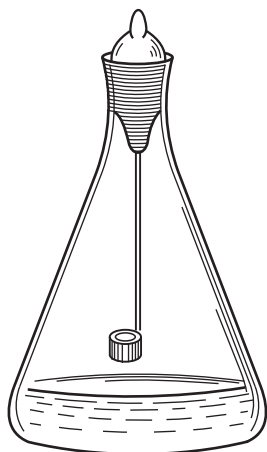


Рис. 4.2. Прибор для сжигания в кислороде

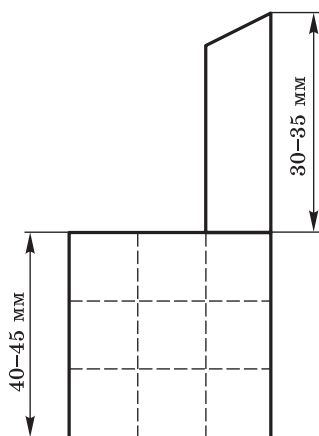


Рис. 4.3. Фильтровальная бумага для приготовления пакета

При исследовании жидкости навеску помещают в капилляр, заплавленный парафином, или в полиэтиленовую капсулу из нитропленки или метилцеллюлозы. Для труднолетучих жидкостей возможно применение двойного бумажного пакетика.

При исследовании мазеобразных веществ применяют капсулу из нитро-пленки или пакет из вощеной бумаги. Капсулы и капилляры заворачивают в пакетик из фильтровальной бумаги, оставляя узкую полоску. При анализе твердых и мазеобразных соединений, сгорающих со вспышкой, к навеске прибавляют 3—5 мг парафина. Подготовленную пробу помещают в держатель.

В колбу для сжигания наливают воду или другую поглощающую жидкость и пропускают в течение 3—5 мин ток кислорода. Затем поджигают свободный конец узкой полоски фильтровальной бумаги и немедленно плотно закрывают колбу пробкой, смоченной водой; во время сжигания следует придерживать пробку рукой. По окончании сжигания колбу оставляют на 30—60 мин при периодическом перемешивании, после чего проводят определение тем или иным методом, подходящим для данного элемента.

Одновременно проводят контрольный опыт.

Примечание. При работе необходимо соблюдать осторожность (надеть защитные очки, колбу поместить в предохранительный чехол, установить защитный экран)! Колба для сжигания должна быть тщательно вымыта и свободна от следов органических веществ и растворителей.

Определение йода

Методика. Точную навеску вещества, указанную в частной статье, сжигают, как описано выше, поглощая продукты сжигания 10 мл раствора натрия гидроксида (0,2 моль/л). Шлиф и держатель обмывают 25 мл 10% раствора калия ацетата в уксусной кислоте ледяной, к которому предварительно прибавляют 15 капель брома; затем пробку с держателем и стенки колбы тщательно отмывают 40 мл воды, прибавляют по каплям 85% муравьиную кислоту до обесцвечивания раствора, 20 мл 0,05 М раствора серной кислоты, 0,5 г калия йодида и выдерживают в темном месте в течение 5 мин. Выделившийся йод титруют 0,1 М раствором натрия тиосульфата. Индикатор — крахмал.

1 мл 0,1 М раствора тиосульфата натрия соответствует 0,002116 г йода.
 $M(1/z) = M \cdot M$.

Определение тиреоидина

Метод основан на определении содержания йода в тиреоидине (йодсодержащих гормонов щитовидной железы). При сжигании в колбе с кислородом органически связанный йод превращается в молекулярный. Поглощающей жидкостью является раствор натрия гидроксида, который с йодом образует натрия йодид и натрия гипойодит:



Затем йодид и гипойодит натрия окисляют раствором брома в кислоте уксусной ледяной до йодата натрия:



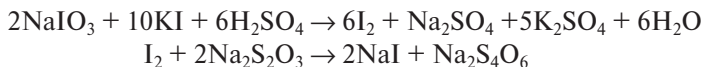
Избыток брома удаляют добавлением муравьиной кислоты:



Далее для удаления нитритов, образующихся при сжигании белковой части тиреоидина, добавляют раствор сульфаминовой кислоты:



После этого в колбу вносят калия йодид, и выделившийся йод титруют раствором тиосульфата натрия:



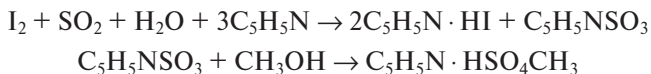
Методика. Около 0,0500 г лекарственного средства (точная навеска) помещают на кусочек обеззоленного фильтра, который заворачивают в виде паке-тика, помещают в платиновую спираль и сжигают в колбе с кислородом вме-стимостью 1 л.

Для поглощения йода применяют 2 мл 1 М раствора натрия гидрок-сида и 50 мл воды. После сжигания пробы содержимое колбы оставляют на 30 мин (через каждые 10 мин энергично встряхивают). Затем шлиф, спираль и внутренние стенки колбы обмывают 20—30 мл воды дистилли-рованной и вносят по каплям 2,5 мл раствора брома уксуснокислого (жел-тая окраска). Через 2 мин прибавляют по стенкам колбы 1 мл муравьиной кислоты концентрированной (раствор при этом обесцвечивается). Удаля-ют следы паров брома из колбы водоструйным насосом в течение 3 мин. Через 2 мин прибавляют 3 мл 3% раствора сульфаминовой кислоты. Через 3 мин в колбу вносят 1 г калия йодида, растворяют, помещают в темное ме-сто и через 2 мин титруют 0,005 М раствором натрия тиосульфата. Индика-тор — 0,3 мл 1% раствора крахмала. Одновременно проводят контрольный опыт (без сжигания).

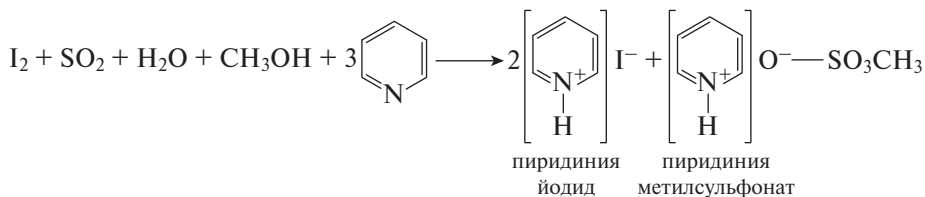
1 мл 0,005 М раствора натрия тиосульфата соответствует 0,0001058 г йода, которого должно быть 0,17—0,23%. $M(1/z) = M \cdot M$.

4.2.8. Определение воды методом титрования реактивом К. Фишера

Реактив К. Фишера — раствор диоксида серы, йода и пиридина в метиловом спирте. Взаимодействие этого реактива с водой протекает в две стадии стехио-метрически по уравнению:



или суммарно:



С помощью реактива К. Фишера можно точно и быстро определить любые количества воды, как в органических, так и неорганических соединениях, в различных растворителях, в летучих веществах, в которых определение воды другими методами затруднено или невозможно.

Титрованием реактивом К. Фишера может быть определена как гигроскопическая, так и кристаллизационная влага.

Реактивы и растворы, применяемые в данном методе, очень чувствительны к воде, поэтому необходимо соблюдать меры предохранения от атмосферной влаги.

Для титрования применяют прибор, представляющий закрытую систему, состоящую из бюретки, защищенной осушительной трубкой (хлорид кальция, фосфорный ангидрид, силикагель и т. п.), сосуда для подачи реактива и колбы для титрования, соединенной с бюреткой. Колба должна быть также снабжена предохранительной (осушительной) трубкой.

Титрование проводят при перемешивании, для чего удобно применять магнитную мешалку.

Определение воды реактивом К. Фишера

В сухую колбу вместимостью 100 мл вносят 5 мл спирта метилового и точную навеску субстанции, содержащую приблизительно от 0,03 до 0,05 г воды. Перемешивают 1 мин и титруют реактивом К. Фишера, прибавляя его при приближении к конечной точке по 0,1—0,05 мл.

Конец титрования может быть определен как визуально по изменению окраски от желтой до красновато-коричневой, так и электрометрическим титрованием «до полного прекращения тока». Изменение тока в конечной точке титрования при этом выражено настолько четко, что для ее определения построение графиков не обязательно. При исполнении модифицированной схемы на электроды накладывается разность потенциалов от 0,03 до 0,05 В.

Параллельно титруют 5 мл метилового спирта (контрольный опыт).

Содержание воды в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{(a-b) \cdot T \cdot 100}{v}$$

где a и b — объемы реактива К. Фишера, израсходованные на титрование в основном и контрольном опыте соответственно, мл;
 v — масса навески лекарственного вещества, г;
 T — титр реактива К. Фишера.

Приготовление реактива К. Фишера. Имеющийся в продаже реактив К. Фишера состоит из двух отдельных растворов 1 и 2, которые перед применением смешивают в объемном соотношении 1 : 2,17. Титр полученного реактива около 0,004 г/мл. Разведенный реактив с титром около 0,001 г/мл готовят, смешивая полученный раствор с метиловым спиртом в соотношении 1 : 1, и применяют только при электрометрическом определении КТТ.

Установка титра. Около 0,04 г воды (точная навеска) вносят в сухую колбу вместимостью 100 мл, содержащую 5 мл метилового спирта, и титруют реактивом К. Фишера, прибавляя его в конце титрования по 0,1—0,05 мл.

Одновременно титруют 5 мл метилового спирта.

Титр (T , г/мл) реактива К. Фишера вычисляют по формуле:

$$T = \frac{a}{b - b}$$

где a — масса навески воды, г;
 b и b — объемы реактива К. Фишера, израсходованные на титрование навески воды в метиловом спирте и в контрольном опыте соответственно, мл.

При установке титра разведенного реактива берут точную навеску воды около 0,01 г.

Титр реактива устанавливают каждый раз перед употреблением. Реактив К. Фишера хранят в сухом, защищенном от света месте в бутылках, плотно закрытых стеклянной пробкой.

Примечания.

1. При отсутствии готовых растворов 1 и 2 каждый из них может быть приготовлен следующим образом.

Раствор 1: в сосуд, содержащий 110 г пиридина и охлаждаемый льдом, пропускают обезвоженный оксид серы (IV) до привеса в 27 г. Срок годности раствора 6 месяцев.

Раствор 2: в сосуд из оранжевого стекла (с притертой пробкой) помещают 600 мл (475 г спирта метилового и 75 г йода), закрывают пробкой, перемешивают и оставляют до полного растворения йода. Срок годности раствора не ограничен.

2. Пиридин и метиловый спирт для опыта не должны содержать более 0,1% воды.

3. При определении воды в твердых веществах, нерастворимых в метиловом спирте, тонко измельченную навеску вещества взбалтывают с метиловым спиртом, после чего титруют реактивом К. Фишера. Время взбалтывания навески с метиловым спиртом, а также тот или иной растворитель должны быть указаны в частных статьях.

4. Реактив К. Фишера состава, описанного в п. 1, неприменим для анализа соединений, реагирующих с одним или несколькими компонентами реактива, например аскорбиновой кислоты, меркаптанов, сульфидов, гидрокарбонатов и карбонатов щелочных металлов, оксидов и гидроксидов металлов, альдегидов, кетонов и др.

5. Для определения воды в карбонильных соединениях и сильных кислотах при электрометрическом определении конечной точки можно использовать реактив К. Фишера видоизмененного состава, содержащий вместо метилового спирта N, N-диметилформамид.

Определение воды в бензилпеницилина новокаиновой соли

Определение проводят по методу К. Фишера (см. выше) с титром 1—1,2 мг воды на 1 мл в точной навеске лекарственного средства около 0,03 г. Конец титрования определяют электрометрически.

Содержание воды должно быть не более 4,2%.

Определение воды в оксациллина натриевой соли

Определение проводят по методике определения воды титрованием реактивом К. Фишера. Определяют по данному методу с титром 1—1,2 мг воды на 1 мл, в точной навеске около 0,03 г. Конец титрования определяют электрометрически.

Содержание воды должно быть не менее 3,5% и не более 5%.

Анализ качества лекарственных средств и их лекарственных форм

ГЛАВА 5

Неорганические лекарственные средства

5.1. Соединения кислорода

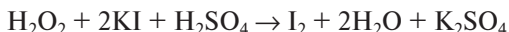
5.1.1. Водорода пероксид

Кислотные свойства водорода пероксида

Водорода пероксид очень слабая кислота.

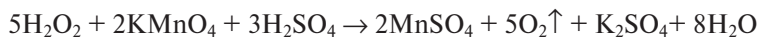
Окислительные свойства водорода пероксида

Методика. К 2 мл раствора пероксида водорода разведенного добавляют 1 мл серной кислоты, 1 мл раствора калия йодида, 5 мл хлороформа, взбалтывают. Слой хлороформа окрашивается в фиолетовый цвет

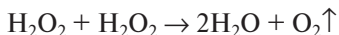


Восстановительные свойства водорода пероксида

Методика. К 5 мл раствора пероксида водорода разведенного добавляют 1 мл серной кислоты, 0,5 мл 1% раствора калия перманганата; раствор калия перманганата обесцвечивается.



Вследствие того, что водорода пероксид проявляет свойства и окислителя и восстановителя, он легко вступает в реакции диспропорционирования (самоокисление—самовосстановление), при этом идет его разложение:



Разложение водорода пероксида легко происходит в присутствии следов многих ионов тяжелых металлов. Быстрое разложение водорода пероксида в щелочной среде обуславливает требования к хранению его растворов; щелочность стекла, а также повышенная температура и свет служат причинами изменения их концентраций.

Образование надхромовых кислот

Специфичная реакция на пероксид водорода и его препараты — образование надхромовых кислот.

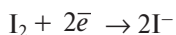
Методика. К 1 мл 3% раствора водорода пероксида прибавляют 0,2 мл серной кислоты разведенной, 2 мл эфира, 0,2 мл раствора калия дихромата, взбалтывают. Эфирный слой окрашивается в синий цвет.

Примечание. В качестве стабилизатора ГФ XIII для раствора водорода пероксида разведенного рекомендует натрия бензоат. Количественное определение стабилизатора проводится ацидиметрическим методом.

5.2. Галогены и их соединения

В медицинской практике в молекулярном состоянии применяется только **йод**. Широкое применение находят *соли* галогенводородных кислот — хлориды, бромиды, йодиды, в которых галоген находится в степени окисления -1 . Из солей кислородсодержащих кислот применяются гипохлориты, в которых галоген находится в степени окисления $+1$.

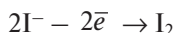
Галогены проявляют свойства *окислителей*:



Окислительные свойства их уменьшаются от фтора к йоду.

Окислительные свойства йода используются при анализе йода, его препаратов и определяют условия хранения йода и спиртовых растворов, приготовленных из него.

Галогениды являются *восстановителями*:



Легче всего отдает электрон йодид-ион, таким образом, он проявляет более сильные восстановительные свойства по сравнению с хлоридами и бромиды. Это свойство используется при анализе хлоридов, бромидов и йодидов в смеси, а также при анализе чистоты на примесь другого галогенида в лекарственном средстве. Так, примесь йодидов в калия бромиде можно определить по реакции с железа (III) хлоридом, который, как слабый окислитель, не вступает в реакцию с калия бромидом, а реагирует с более сильным восстановителем — калия йодидом (см. разд. 2.3).

Бром и хлор из соответствующих солей выделяют под действием более сильных окислителей.

Общей реакцией на галогениды является реакция образования нерастворимых в азотной кислоте осадков галогенидов серебра, которые отличаются по окраске и растворимости в растворе аммиака и карбоната аммония (см. разд. 2.3). Например, серебра хлорид растворим в растворе аммиака и аммония карбоната, серебра бромид — в растворе аммиака, серебра йодид нерастворим в растворах аммиака и аммония карбоната.

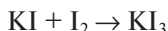
Все три галогенида серебра растворимы в растворе натрия тиосульфата с образованием комплекса $\text{Na}_3[\text{Ag}(\text{S}_2\text{O}_3)_2]$.

5.2.1. Йод

Йод имеет вид серовато-черных с металлическим блеском пластинок или кристаллов; он летуч при комнатной температуре, что необходимо учитывать при его хранении. Хранят йод в прохладном, защищенном от света месте в банках с притертыми пробками. В аптечных условиях его необходимо хранить отдельно от других препаратов.

При нагревании в сухой пробирке йод возгоняется, его пары имеют характерный фиолетовый цвет. Раствор йода в хлороформе, в котором он хорошо растворим, также фиолетовый. Экстракция йода в хлороформ используется при выделении йода из йодидов для их идентификации.

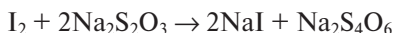
Йод хорошо растворим в растворе калия йодида:



Это свойство применяют при количественном определении для улучшения растворения йода в воде, а также приготовления 5% спиртового раствора йода.

Для подтверждения подлинности йода используется его способность окрашивать крахмал в синий цвет.

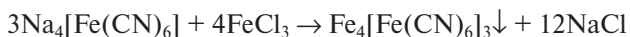
В йоде не должно быть посторонних примесей, нерастворимых в воде и имеющих окраску. При проведении этого испытания к раствору йода добавляют раствор натрия тиосульфата, с которым он образует бесцветное соединение. 1 г йода должен полностью раствориться в 25 мл 10% раствора натрия тиосульфата, образуя прозрачный и бесцветный раствор:



Йод не должен содержать примесь йодистого циана, который обнаруживается по реакции образования берлинской лазури. Для обесцвечивания йода к раствору добавляют сернистую кислоту:



Затем проводят реакцию образования берлинской лазури:

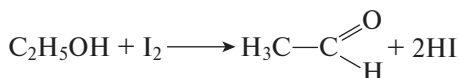


Для обнаружения примесей хлоридов используются реакция осаждения галогенидов серебра нитратом и различная растворимость галогенидов серебра в растворе аммиака. Предварительно к раствору йода добавляется сернистая кислота, раствор становится бесцветным вследствие образования продуктов реакции H_2SO_4 и HI . Образовавшиеся йодиды и возможная примесь хлоридов осаждаются серебром нитратом. При добавлении раствора аммиака серебра хлорид растворяется в нем, а серебра йодид отфильтровывают. К фильтрату добавляют азотную кислоту. Появление мути свидетельствует о наличии примеси хлоридов, количество которых регламентирует ГФ:



5.2.2. Спиртовые растворы йода

При растворении йода в 95% спирте получают 10% спиртовой раствор. Препарат относится к нестойким и скоропортящимся лекарственным средствам, поскольку при хранении йод вступает в окислительно-восстановительную реакцию со спиртом:



Степень изменения препарата регламентируется ГФ установлением предельного содержания HI путем титрования раствором натрия гидроксида после обесцвечивания раствора йода раствором натрия тиосульфата. Готовится препарат на непродолжительное время (до 1 мес.). Количественное содержание проверяется периодически не реже 1 раза в квартал.

Более устойчив при хранении 5% спиртовой раствор йода. В его состав входят калия йодид, йод и спирт (не менее 46%).

5.2.3. Хлороводородная кислота

Растворы хлороводорода: кислоту хлороводородную 24,8—25,2%, кислоту хлороводородную разведенную 8,2—8,4% — относят к лекарственным средствам. Это бесцветные прозрачные жидкости.

Кислота хлороводородная — летучая жидкость, поэтому ее хранят в склянках с притертыми пробками. Хлороводородная кислота является сильной; она взаимодействует со щелочами с образованием солей, что используется при ее количественном определении.

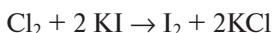
Хлорид-ион определяется по реакции с серебра нитратом. Как восстановитель, хлороводородная кислота реагирует с некоторыми окислителями с выделением хлора (например, с марганца диоксидом).

Восстановительные свойства хлороводородной кислоты

При нагревании 2 мл хлороводородной кислоты с несколькими крупинками марганца диоксида выделяется хлор:



Для обнаружения выделившегося хлора используется реакция с калия йодидом:



Эта реакция также служит для определения недопустимой примеси хлора в хлороводородной кислоте. Примесь сернистой кислоты, которая также должна отсутствовать, обнаруживается по обесцвечиванию раствора йода:

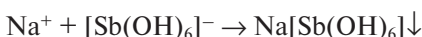


5.2.4. Натрия и калия хлориды

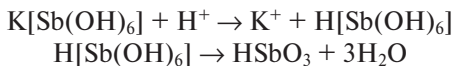
Натрия и калия хлориды относятся к ионным веществам. Они хорошо растворимы в воде: в растворе диссоциируют на ион металла и хлорид-ион.

Реакции на ион натрия

- 1) окрашивание пламени;
- 2) реакция с цинка уранилацетатом (см. разд. 2.3);
- 3) гексагидроксостибат-ион в строго нейтральной среде образует с ионами натрия белый кристаллический осадок натрия гексагидроксостибата



В щелочной среде осадок не образуется, а в кислой — образуется осадок кислоты сурьмяной:



Реакция на ион натрия с гексагидроксостибат-ионом

Методика. К 1 мл нейтрального раствора соли натрия (0,01—0,03 г иона натрия) прибавляют 1 мл раствора калия гексагидроксостибата. Выпадает белый кристаллический осадок.

Реакции на ион калия (см. Учебник).

Реакции на хлорид-ион (см. Учебник).

Ионы натрия и калия являются антагонистами по физиологическому действию, поэтому в натрия хлориде определяют примесь ионов калия по реакции с кислотой виннокаменной, а в калия хлориде — примесь ионов натрия по окрашиванию пламени в желтый цвет.

5.2.5. Натрия и калия бромиды

Бромиды натрия и калия хорошо растворимы в воде, белые кристаллические порошки. Натрия бромид гигроскопичен. Степень увлажнения его регламентируется путем определения потери в массе при высушивании. Реакция среды водных растворов нейтральна. Для идентификации применяются реакции на катионы и анионы.

Реакции на ионы натрия и калия (см. Учебник).

Реакции на бромид-ион (см. Учебник).

Примесь йодидов в натрия и калия бромиде определяется с помощью раствора железа (III) хлорида (см. разд. 3.3), примесь броматов, кальция, бария — по реакции с серной кислотой (по выделению Br_2 , CaSO_4 , BaSO_4).

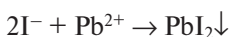
5.2.6. Натрия и калия йодиды

Натрия и калия йодиды — бесцветные или белые кристаллические порошки. Гигроскопичны. Вступают в реакцию с кислородом воздуха, выделяя при этом йод. При неправильном хранении буреют. Катализатором реакции является свет, поэтому хранить эти вещества необходимо в склянках оранжевого стекла в защищенном от света месте. Водные растворы имеют нейтральную реакцию. Идентифицируют по катионам и аниону.

Реакции на ионы натрия и калия (см. Учебник).

Реакции на йодид-ион (см. Учебник).

Кроме того, йодид-ион осаждается ионами висмута (см. разд. 2.3), ртути (II). С ионом свинца йодид-ион образует желтый осадок:

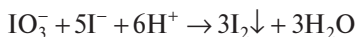


Если осадок йодида свинца растворить при нагревании, а затем охладить, то он снова выделяется в виде блестящих золотисто-желтых чешуек.

Образование йодида свинца

Методика. К 2 мл раствора йодида (0,003—0,002 г иона йодида) прибавляют несколько капель раствора свинца ацетата; появляется желтый осадок, растворимый при нагревании и вновь выпадающий при охлаждении.

Не допускается изменение йодидов при хранении под действием кислорода воздуха. Наличие продуктов окисления подтверждается испытанием по показателю «цветность». В йодидах регламентируется ряд примесей. Недопустимая примесь цианидов устанавливается по отрицательной реакции образования берлинской лазури, ионов бария — по отрицательной реакции образования бария сульфата. Примесь йодноватой кислоты определяется по отрицательной реакции с серной кислотой:



Отсутствие ионов тиосульфата и сульфита определяется по появлению синего окрашивания при прибавлении к раствору йодида крахмала и йода.

5.3. Соединения углерода

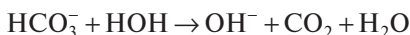
К данной группе относятся натрия гидрокарбонат и лития карбонат. Особенностью лития карбоната является малая растворимость в воде по сравнению с карбонатами других щелочных металлов. Поэтому реакции на ион лития проводят после растворения вещества в хлороводородной кислоте. Растворимые соли лития окрашивают пламя горелки в карминно-красный цвет, а с растворимыми фосфатами (или гидрофосфатами в щелочной среде) образуют белый осадок лития фосфата:



При действии неорганических кислот на каждый из препаратов (как солей слабой угольной кислоты) наблюдается бурное выделение пузырьков оксида углерода (IV).

5.3.1. Натрия гидрокарбонат

Водный раствор гидрокарбоната натрия имеет слабощелочную реакцию среды:



Натрия гидрокарбонат дает характерные реакции на ион натрия и гидрокарбонат-ион (см. разд. 2.3).

Натрия гидрокарбонат при несоблюдении условий хранения может превратиться в карбонат, поэтому строго регламентируется примесь карбонатов, которую количественно определяют по потере в массе вещества при прокаливании и по pH раствора. Недопустимыми примесями являются соли аммония, наличие которых может быть обусловлено процессом синтеза (аммиачный метод Сольве); определение примесей проводят со щелочью и красной лакмусовой бумагой; бумага не должна приобретать синюю окраску.

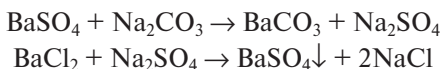
5.4. Соединения бария, кальция, магния

5.4.1. Бария сульфат

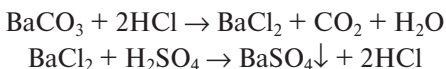
Определение подлинности бария сульфата

Проводят после кипячения его с раствором натрия карбоната.

Методика. 1 г субстанции кипятят 5 мин с 10 мл раствора натрия карбоната. Осадок фильтруют и промывают водой. Фильтрат нейтрализуют хлороводородной кислотой разведенной и добавляют 0,5 мл раствора бария хлорида; образуется белый осадок, нерастворимый в разведенных кислотах:



Осадок на фильтре обрабатывают 5 мл хлороводородной кислоты разведенной и фильтруют. При добавлении к фильтрату серной кислоты разведенной образуется белый осадок:



Важное место в контроле качества бария сульфата имеет определение примесей: кислотно-растворимых веществ, растворимых солей бария, сульфидов, фосфатов, сульфитов и других восстанавливающих веществ (ГФ XIII). Данные исследования обусловлены высокой разовой дозой и токсичностью растворимых солей бария.

Особые требования предъявляются к хранению лекарственного средства. Двойная упаковка бария сульфата (внутренняя из пергаментной бумаги) предохраняет его от действия влаги и углекислого газа воздуха.

Количественное определение бария сульфата проводят гравиметрическим методом.

5.4.2. Кальция хлорид. Кальция сульфат жженный. Магния сульфат. Магния оксид

Нерастворимые в воде лекарственные вещества, например магния оксид, предварительно растворяют в неорганических или уксусной кислотах. Анализ проводят по Ca^{2+} , Mg^{2+} и Cl^- и SO_4^{2-} . Ионы кальция и магния взаимодействуют с растворами щелочей с образованием гидроксидов; с раствором аммиака нерастворимый в воде гидроксид образует ион магния (отличие от иона кальция); с серной кислотой ион кальция образует белый осадок.

Качественные реакции кальция хлорида и магния сульфата

Методика. 0,1 г кальция хлорида растворяют в 10 мл воды и раствор делят на три пробирки: в первую пробирку добавляют раствор натрия гидроксида, выпадает осадок белого цвета; во вторую — раствор аммиака, осадок не образуется; в третью — раствор серной кислоты, выпадает осадок белого цвета.

0,1 г магния сульфата растворяют в 10 мл воды и разливают раствор на 3 пробирки, далее поступают как в методике на кальция хлорид. В первой и второй пробирке образуются осадки белого цвета; в третьей пробирке раствор остается прозрачным.

Примечание. Магния оксид предварительно растворяют в хлороводородной кислоте разведенной. В магния сульфате определяют допустимые примеси тяжелых металлов, железа и марганца; причем примесей марганца в субстанции, предназначенной для приготовления инъекционных лекарственных форм, не должно быть.

Реакции определения подлинности ионов кальция, магния, хлорид- и сульфат-ионов

См. разд. 2.3.

Методика. К 1 мл раствора соли кальция (0,002—0,02 г) прибавляют 1 мл раствора аммония оксалата; образуется белый осадок, нерастворимый в уксусной кислоте и растворе аммиака, растворимый в разведенных неорганических кислотах.

Соль кальция, смоченная хлороводородной кислотой и внесенная в бесцветное пламя, окрашивает его в кирпично-красный цвет.

К 1 мл раствора соли магния (0,002—0,005 г иона магния) прибавляют 1 мл раствора аммония хлорида, 0,5 мл раствора натрия фосфата и 1 мл раствора аммиака; образуется белый кристаллический осадок, растворимый в уксусной кислоте.

К 2 мл раствора, содержащего 0,005—0,05 г иона сульфата, прибавляют 0,5 мл хлороводородной кислоты разведенной и 0,5 мл раствора бария хлорида; образуется белый осадок, нерастворимый в разведенных кислотах.

К 2 мл раствора, содержащего около 0,002 г иона хлорида, прибавляют 0,5 мл азотной кислоты разведенной и 0,5 мл раствора серебра нитрата; образуется белый творожистый осадок, растворимый в растворе аммиака.

5.5. Соединения бора

Борная кислота (H_3BO_3) и натрия тетраборат ($\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$) — борсодержащие лекарственные средства. Борная кислота — очень слабая кислота ($K_1 = 6 \cdot 10^{-10}$; $K_2 = 2 \cdot 10^{-13}$; $K_3 = 2 \cdot 10^{-14}$); прочных солей не образует. Натрия тетраборат — соль тетраборной кислоты $\text{H}_2\text{B}_4\text{O}_7$.

Соединения бора, использующиеся в фармацевтическом анализе, образуют комплексные соединения со спиртами и др.

Определение подлинности соединений бора

Методика. Куркумовая бумага, смоченная раствором борной кислоты или буры (1 : 10) и несколькими каплями хлороводородной кислоты, окрашивается при высушивании в розовый или буровато-красный цвет, переходящий от смачивания раствором аммиака в зеленовато-черный.

Спиртовой раствор борной кислоты горит пламенем с зеленой каймой.

Раствор 0,2 г натрия тетрабората в 1 мл серной кислоты концентрированной и 3 мл 90% спирта горит пламенем с зеленой каймой вследствие образования борно-этилового эфира.

5.6. Соединения висмута, цинка, меди, серебра и железа

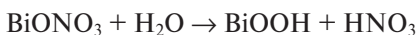
В анализе лекарственных средств данной группы используют качественные реакции катионов тяжелых металлов: с раствором аммиака, осаждения сульфидами, комплексобразования, окисления-восстановления.

5.6.1. Висмута нитрат основной

Смесь основных солей висмута нитрата. Состав непостоянен.

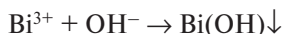
Висмута нитрат основной практически нерастворим в воде, поэтому анализ лекарственного вещества проводят после растворения в азотной или хлороводородной кислоте.

При смачивании водой порошка висмута нитрата основного препарат гидролизует и окрашивает синюю лакмусовую бумагу в красный цвет вследствие выделившейся азотной кислоты.



Реакция с раствором аммиака

Растворы соли и висмута с раствором аммиака образуют осадок висмута гидроксида белого цвета, нерастворимый в избытке реактива, но растворимый в минеральных кислотах.

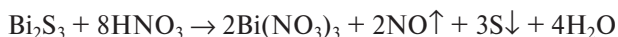


Реакция имеет практическое значение в анализе чистоты при определении примеси соединений меди. При наличии примеси иона меди с раствором аммиака образуется комплекс $[\text{Cu}(\text{NH}_3)_4]^{2+}$ темно-синего цвета.

Реакция осаждения сульфидами

Данная реакция используется для определения подлинности иона висмута (см. разд. 2.3).

Методика. 0,1 г субстанции взбалтывают с 3 мл хлороводородной кислоты разведенной и фильтруют. К фильтрату прибавляют 1 мл раствора натрия сульфида; образуется коричневатый-черный осадок, растворимый в азотной кислоте разведенной.



Кроме этого реакция осаждения сульфидами применяется для определения примеси солей щелочных и щелочноземельных металлов и для удаления иона висмута. Для этого вначале ион висмута осаждают сероводородом до Bi_2S_3 , отфильтровывают, а в фильтрате по остатку после прокаливания количественно определяют примесь.

Реакция комплексобразования с калия йодидом

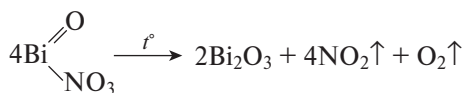
См. учебник.

Методика. Около 0,05 г иона висмута взбалтывают с 5 мл серной кислоты разведенной и фильтруют. К фильтрату прибавляют 2 капли раствора калия

йодида, образуется черный осадок, растворимый в избытке реактива с образованием раствора желто-оранжевого цвета.

Специфическая реакция на висмута нитрат основной

Субстанцию массой 0,5 г прокаливают. Выделяются желто-бурые пары, и образуется остаток ярко-желтого цвета. При прокаливании висмута нитрата основного происходит разложение лекарственного вещества до висмута оксида:

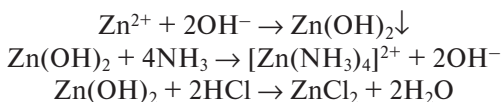


5.6.2. Цинка оксид. Цинка сульфат

Цинка оксид практически нерастворим в воде, поэтому для проведения анализа препарат предварительно растворяют в хлороводородной кислоте разведенной или уксусной кислоте, а затем проводят реакции на ион цинка. Идентификацию цинка сульфата проводят по катиону и аниону.

Реакция с раствором аммиака

Растворимые соли цинка с раствором аммиака образуют осадок цинка гидроксида белого цвета, растворимый в избытке реактива и неорганических кислотах:



Методика. К 2 мл нейтрального раствора соли цинка (0,005—0,02 г иона цинка) прибавляют 1—2 капли раствора аммиака. Выпадает белый осадок, растворимый в избытке реактива и неорганических кислотах.

Примечание. Реакция с раствором аммиака применяется при определении примесей ионов железа, меди, алюминия.

Примесь не должна обнаруживаться в пределах чувствительности реакции с раствором аммиака. При наличии примесей ионов железа, меди и алюминия с раствором аммиака выпадают осадки гидроксидов соответствующих металлов и образуется ион тетрааммина меди темно-синего цвета.

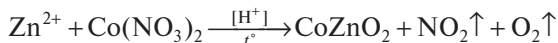
Реакция осаждения сульфидами

Данная реакция используется для определения подлинности иона цинка (см. разд. 2.3). Также при определении примеси других тяжелых металлов (для цинка сульфата) примесь не должна обнаруживаться. При наличии примеси других тяжелых металлов образуется осадок черного цвета MeS , в отличие от белого осадка цинка сульфида.

Методика. К 2 мл нейтрального раствора соли цинка (0,005—0,02 г иона цинка) прибавляют 0,5 мл раствора натрия сульфида, образуется осадок белого цвета, нерастворимый в уксусной кислоте разведенной и легко растворимый в хлороводородной кислоте разведенной.

Реакция осаждения калия гексацианоферратом (II)

Реакция используется для определения подлинности иона цинка (см. разд. 2.3). Кроме того, для соединений цинка проводят следующие испытания: цинка оксид при прокаливании желтеет, при охлаждении снова белеет; при сжигании фильтровальной бумаги, смоченной растворами соли цинка и кобальта нитрата, образуется зола, окрашенная в зеленый цвет, от образовавшегося кобальт-цинката (зелень Ринмана):



Методика

1) К 2 мл раствора соли цинка (0,005—0,02 г иона цинка) прибавляют 0,5 мл раствора калия гексацианоферрата (II); образуется белый осадок, нерастворимый в хлороводородной кислоте разведенной.

2) Фильтровальную бумагу смачивают последовательно несколькими каплями соли цинка, хлороводородной кислотой разведенной и 1—2 каплями раствора кобальта нитрата. Затем бумагу подсушивают и озоляют; зола окрашивается в зеленый цвет.

Реакция на сульфат-ион (см. Учебник).

5.6.3. Серебра нитрат

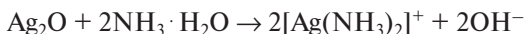
Бесцветные прозрачные кристаллы в виде пластинок или белых цилиндрических палочек. Очень легко растворим в воде. Анализ препарата проводят по иону серебра и нитрат-иону.

Реакция с раствором аммиака

Серебра нитрат с раствором аммиака образует серебра (I) оксид (осадок черного цвета):



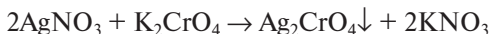
Серебра (I) оксид растворим в избытке раствора аммиака с образованием комплексного соединения:



Реакции осаждения

а) хлоридами, бромиды, йодидами (см. Учебник);

б) калия хроматом K_2CrO_4 . Серебра нитрат образует с калия хроматом осадок серебра хромата кирпично-красного цвета, растворимого в азотной кислоте и растворе аммиака:



Реакция восстановления (серебряного зеркала)

Реакция используется для идентификации иона серебра:



Реакция серебряного зеркала

Методика. К 1 мл раствора серебра нитрата (около 0,005 г иона серебра) прибавляют раствор аммиака до растворения образующегося вначале осадка; затем прибавляют 2—3 капли раствора формальдегида и нагревают; на стенках пробирки образуется блестящий налет металлического серебра.

5.6.4. Коллоидные препараты серебра. Колларгол. Протаргол

Реакции коллоидных препаратов серебра

Вначале проводят полное озоление лекарственного средства для перевода связанного с белком серебра в ионное состояние и далее выполняют реакции на ион серебра и белок.

Методика. 0,1 г протаргола или 0,2 г колларгола нагревают; при этом происходит обугливание и распространяется запах жженого рога (белок).

Полученный после полного озоления серовато-белый остаток растворяют в 10 мл азотной кислоты разведенной и фильтруют. К фильтрату приливают 1—2 мл хлороводородной кислоты разведенной: образуется белый творожистый осадок, растворимый в растворе аммиака (ион серебра).

0,1 г протаргола или 0,5 г колларгола растворяют в 5 мл воды, прибавляют 2 мл хлороводородной кислоты разведенной и нагревают до начала кипения. Выделившийся осадок отфильтровывают через двойной плотный фильтр.

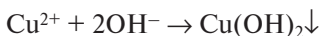
К прозрачному слабо-желтому фильтрату прибавляют 0,5 мл раствора натрия гидроксида и перемешивают, затем добавляют 0,2 мл раствора меди сульфата и снова хорошо перемешивают; появляется фиолетовое окрашивание (белок, биуретовая реакция).

5.6.5. Меди сульфат

Синие кристаллы или синий кристаллический порошок; выветривается на воздухе; легко растворим в воде. Идентификацию проводят на ион меди и сульфат-ион.

Реакция с раствором аммиака

Растворимые соли меди (II) с раствором аммиака образуют осадок меди гидроксида голубого цвета:



При добавлении избытка раствора аммиака образуется раствор темно-синего цвета (ион меди (II) тетрааммина):

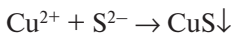


При прибавлении к раствору вещества (1 : 20) раствора аммиака образуется голубой осадок, растворяющийся в избытке реактива; полученный раствор приобретает темно-синее окрашивание.

Реакция используется для доказательства подлинности иона меди, кроме того, реакция с раствором аммиака служит для обнаружения примеси ионов меди в других лекарственных веществах.

Реакция осаждения сульфидами

Растворимые соли меди (II) с натрия сульфидом образуют меди сульфид (осадок черного цвета), нерастворимый в хлороводородной кислоте разведенной:



Реакция может служить для доказательства наличия ионов меди, но в основном применяется при определении примесей солей металлов, не осаждаемых сероводородом (ионы Na^+ ; Li^+ ; K^+ ; Mg^{2+} ; NH_4^+), для предварительного осаждения ионов меди в виде меди сульфида.

Реакция осаждения калия гексацианоферратом (II)

При взаимодействии с солями меди образует красно-бурый осадок комплексной соли $\text{Cu}_2[\text{Fe}(\text{CN})_6]$, нерастворимый в разведенных кислотах и растворимый в растворе аммиака с образованием комплексного иона меди (II) тетрааммина (темно-синего цвета):

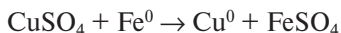


При прибавлении к раствору вещества (1 : 20) 2—3 капль раствора калия гексацианоферрата (II) образуется красно-бурый осадок.

Специфические реакции: восстановление металлами, йодидами (реакция используется для количественного определения меди сульфата) и окрашивание пламени.

Реакция восстановления металлами

Металлы (железо, цинк, алюминий) восстанавливают Cu^{2+} до элементной меди:



Раствор вещества (1 : 20) при соприкосновении с железом покрывает его красным налетом металлической меди.

Окрашивание пламени

Соли меди (II) окрашивают пламя в зеленый цвет в присутствии хлороводородной кислоты концентрированной.

Платиновую петлю опускают в хлороводородную кислоту концентрированную, а затем захватывают ею несколько кристалликов соли меди и вносят в пламя. Пламя окрашивается в зеленый цвет.

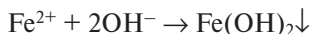
Реакция на сульфат-ион (см. Учебник).

5.6.6. Железа (II) сульфат

Прозрачные кристаллы светло-голубовато-зеленого цвета. Растворим в воде с образованием раствора слабокислой реакции, так как соль образована сильной кислотой и слабым основанием; на воздухе выветривается. Идентификацию препарата проводят по иону железа (II) и сульфат-иону.

Реакция с раствором аммиака

Растворимые соли железа (II) с раствором аммиака образуют осадок железа (II) гидроксида зеленого цвета, постепенно переходящий на воздухе в осадок бурого цвета железа (III) гидроксида, нерастворимый в избытке реактива:



Реакция в основном имеет значение при определении примесей солей меди.

Примесь является недопустимой, при наличии примеси раствор окрашивается в темно-синий цвет комплексного иона $[\text{Cu}(\text{NH}_3)_4]^{2+}$.

Реакция осаждения с калия гексацианоферратом (III)

Используется для определения подлинности солей железа (II) (см. разд. 2.3).

К 2 мл вещества (около 0,02 г иона железа (II)) прибавляют 1 мл раствора калия гексацианоферрата (III) и 0,5 мл хлороводородной кислоты разведенной; образуется осадок синего цвета.

Реакция осаждения сульфидами

Реакция служит для определения подлинности иона железа (II) (см. разд. 2.3).

К раствору соли железа (II) (около 0,02 г иона железа (II)) прибавляют раствор аммония сульфида, образуется осадок черного цвета, растворимый в неорганических кислотах.

Реакция на сульфат-ион: см. разд. 2.3.

5.7. Схема анализа неизвестного лекарственного вещества неорганической природы

Для проведения контрольной работы рекомендуются следующие лекарственные вещества: раствор водорода пероксида, магния пероксид, таблетки гидроперита, хлороводородная кислота, спиртовые растворы йода, калия и натрия хлориды, бромиды и йодиды, натрия гидрокарбонат, лития карбонат, натрия тетраборат, борная кислота, бария сульфат, магния оксид, магния сульфат, кальция хлорид, натрия тиосульфат, натрия нитрит, цинка оксид, цинка сульфат, меди сульфат, серебра нитрат, железа (II) сульфат, висмута нитрат основной. Лекарственные вещества предлагаются в виде порошков и лекарственных форм.

При получении на анализ лекарственной формы необходимо знать, какое лекарственное вещество применяется в этой лекарственной форме. Большинство лекарственных веществ изучаемой группы — порошки. В растворах для инъекций используются натрия хлорид, натрия тиосульфат, натрия гидрокарбонат (последний не выпускается в ампулах).

На исследование могут быть даны хлороводородная кислота в виде раствора, раствор водорода пероксида, спиртовой раствор йода. В виде таблеток используются висмута нитрат основной, гидроперит, а также таблетки для приготовления растворов: натрия хлорид, калия бромид, калия йодид.

Физические свойства

Агрегатное состояние и цвет. Большинство исследуемых веществ представлены в виде твердых веществ, как правило, это порошки белого цвета, кристалличе-

ские или аморфные. Натрия бромид гигроскопичен. Калия йодид отсыревает. Натрия йодид на воздухе сыреет и разлагается с выделением йода. Кристаллогидраты (магния сульфат, цинка сульфат и др.) выветриваются на воздухе, при этом изменяется их внешний вид.

Меди сульфат голубого цвета, железа (II) сульфат — голубовато-зеленого цвета. **Жидкости:** раствор пероксида водорода и хлороводородная кислота — прозрачные и бесцветные. Спиртовые растворы йода бурого цвета и имеют характерный запах.

Окраска пламени. Соли натрия окрашивают бесцветное пламя горелки в желтый цвет, соли калия — в фиолетовый, соли кальция — в кирпично-красный, соли бария — в зеленый, лития — в карминово-красный.

Прокаливание. Неорганические вещества при прокаливании, в отличие от органических, не горят, многие не изменяют свой внешний вид. Изменяется при прокаливании цинка оксид (желтеет, а при охлаждении вновь белеет), висмута нитрат основной образует желто-оранжевый осадок висмута оксида, при этом выделяются желто-бурые пары оксида азота; натрия тиосульфат плавится в кристаллизационной воде, разлагается с выделением серы, которая горит пламенем синего цвета; железа (II) сульфат темнеет, натрия и калия йодиды темнеют вследствие выделения йода; характерную стекловидную сплавленную массу при прокаливании образует кислота борная.

Растворимость и реакция среды. Лекарственные вещества можно разделить по растворимости в воде на две большие группы: растворимые и нерастворимые.

Растворимы в воде калия и натрия хлориды, бромиды, йодиды, натрия гидрокарбонат, тиосульфат, нитрит, тетраборат, сульфаты магния, меди, цинка, железа, серебра нитрат, борная кислота.

Нерастворимы в воде цинка и магния оксиды, магния пероксид, висмута нитрат основной, лития карбонат, бария сульфат.

Если лекарственное вещество в воде нерастворимо, проверяют его растворимость в кислотах и щелочах.

В кислотах растворимы лития карбонат, магния и цинка оксиды, магния пероксид, висмута нитрат основной.

Цинка оксид растворим как в кислотах, так и в щелочах, а также в растворе аммиака.

Бария сульфат нерастворим ни в кислотах, ни в щелочах.

У растворимых в воде веществ проверяют по лакмусу реакцию среды водного раствора.

Хлороводородная кислота имеет сильноокислую реакцию среды, раствор водорода пероксида и борной кислоты — слабоокислую.

Вследствие гидролиза солей, образованных сильным основанием и слабой кислотой, их растворы имеют щелочную реакцию среды (натрия гидрокарбонат, натрия тетраборат, натрия нитрит).

Соли слабых оснований и сильных кислот имеют кислую реакцию среды (цинка сульфат, железа (II) сульфат, меди сульфат).

Химические свойства

Реакции с кислотами и щелочами. При взаимодействии кислот с солями, образованными нестойкими кислотами (натрия гидрокарбонат, лития карбонат, натрия нитрит, натрия тиосульфат), образуются пузырьки газа или выпадает осадок.

При действии щелочей некоторые катионы образуют осадки гидроксидов. Так, с натрия гидроксидом образуются осадки гидроксидов магния, кальция, цинка, меди, железа, висмута. В избытке гидроксида натрия осадки гидроксидов цинка и меди растворяются. Нитрат серебра с гидроксидом натрия образует черный осадок оксида серебра. С раствором аммиака образуют гидроксиды ионы магния, цинка, меди, железа, висмута. В избытке аммиака гидроксиды цинка, меди, серебра образуют растворимые комплексные соединения.

Реакции осаждения. Общим осадительным реактивом на галогениды является раствор серебра нитрата в присутствии азотной кислоты. Образующиеся осадки отличаются по цвету и растворимости в растворе аммиака.

С раствором серебра нитрата характерную реакцию дает натрия тиосульфат. Серебра нитрат дает осадки с большинством анионов.

Катионы цинка дают белые осадки с раствором натрия сульфида, а катионы висмута, железа, меди, серебра — темные осадки.

Окислительно-восстановительные свойства. Окислительными свойствами обладают пероксид водорода, натрия нитрит, серебра нитрат, меди сульфат и др.

Наличие у исследуемого лекарственного вещества окислительных свойств проверяют реакцией с раствором калия йодида в присутствии серной кислоты по появлению бурого окрашивания от выделяющегося йода. Следует учесть, что серебра нитрат с раствором калия йодида дает осадок йодида серебра желтого цвета, меди сульфат с раствором калия йодида дает осадок йодида меди (II), переходящий в осадок йодида меди (I) с появлением йода.

Доказать окислительные свойства серебра нитрата можно с помощью раствора формальдегида (с аммиачным раствором серебра нитрата; при нагревании; реакция серебряного зеркала).

Восстановительными свойствами обладает пероксид водорода, натрия нитрит, хлороводородная кислота, натрия и калия бромиды и йодиды, натрия тиосульфат. Восстановители обесцвечивают раствор калия перманганата в сернокислой среде.

Для натрия тиосульфата характерно обесцвечивание раствора йода. Натрия и калия йодиды и бромиды различают по реакции с окислителями различной силы (йодиды — более сильные восстановители, чем бромиды).

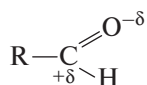
По проведенным испытаниям делается предварительное заключение об испытуемом лекарственном веществе. Так, хорошая растворимость в воде, желтое окрашивание пламени, слабощелочная реакция среды водного раствора, выделение пузырьков газа при добавлении хлороводородной кислоты позволяют сделать предположение о наличии натрия гидрокарбоната. Затем необходимо подтвердить предположение с помощью реакций соответствующей статьи ГФ на данное лекарственное вещество.

Органические лекарственные средства

6.1. Алифатические и ациклические соединения

6.1.1. Альдегиды

Альдегиды — вещества, содержащие карбонильную, или альдегидную, группу. Общая формула:



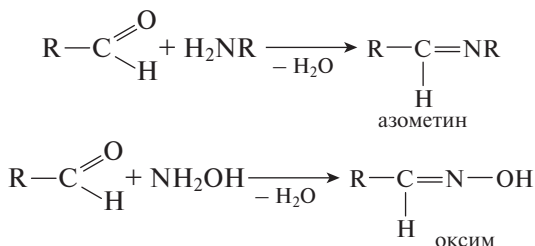
Структура карбонильной группы (дипольный момент карбонила, частичный положительный заряд на атоме углерода из-за поляризуемости двойной связи и др.) обуславливает их высокую реакционную способность. Наиболее характерные реакции — окисления и нуклеофильного присоединения.

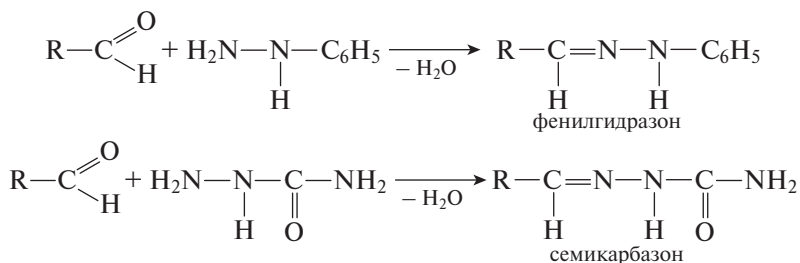
Органические лекарственные вещества, содержащие карбонильную группу, или их функциональные производные разнообразны по химической структуре и применению.

Альдегиды окисляются до карбоновых кислот. Реакции *окисления* гидроксидами тяжелых металлов, их растворимыми комплексами в щелочной среде используются для идентификации, а с гипойодитами — для количественного определения альдегидов.

6.1.1.1. Реакции нуклеофильного присоединения

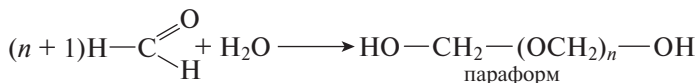
Присоединение аминов, гидроксилamina, гидразинов, семикарбазида приводит к образованию азометинов (оснований Шиффа), оксимов, гидразонов, семикарбазонов, соответственно:





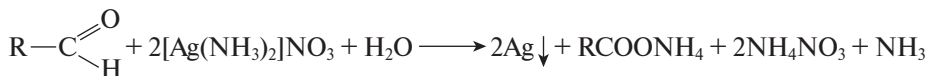
Азометины, оксимы, гидразоны, семикарбазоны, как правило, нерастворимы, имеют характерную температуру плавления. Поэтому данные реакции применяют для качественного и количественного (гравиметрического) определения альдегидов.

Альдегиды способны присоединять также натрия гидросульфит, воду, спирты (с образованием полуацеталей и ацеталей). Так, формальдегид в водных растворах может полимеризоваться до параформа:



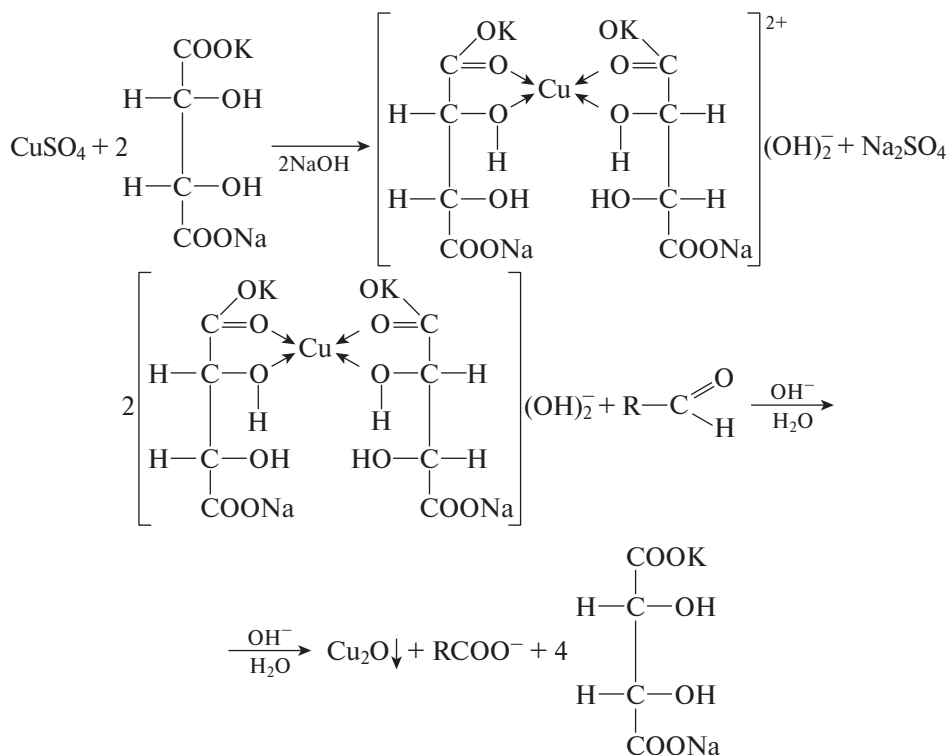
6.1.1.2. Реакции окисления

Альдегиды превращаются в кислоты под влиянием сильных и слабых окислителей. Они восстанавливают из растворов солей (например, солей серебра, золота, ртути и др.) в присутствии щелочей многие металлы. Реакции восстановления металлов из их оксидов отличают альдегиды от спиртов и непредельных соединений, которые окисляются более сильными окислителями, например перманганатом или дихроматом калия, поэтому для подтверждения подлинности лекарственных веществ группы альдегидов применяется реакция их окисления комплексными соединениями серебра, меди, ртути. Эти соединения в щелочной среде при действии на них альдегидов образуют характерные осадки. Например, при действии на альдегиды аммиачного раствора серебра нитрата (*реактив Толленса*) на стенках пробирки выделяется тонкий слой «серебряного зеркала» или выпадает серый осадок:



Из раствора Фелинга альдегиды восстанавливают соединения двухвалентной меди до оксида меди (I) кирпично-красного цвета.

Реактив Фелинга состоит из двух растворов. Раствор 1 представляет собой водный раствор меди сульфата, подкисленный малым количеством серной кислоты. Раствор 2 — это щелочной раствор калия-натрия тартрата. Реактивом служит смесь равных объемов обоих растворов. При взаимодействии альдегидов с реактивом Фелинга образуется кирпично-красный осадок меди (I) оксида:



Реакции окисления альдегидов

Методика

1) К 2 мл раствора серебра нитрата прибавляют 10% раствор аммиака (примерно 0,5 мл) до растворения образующегося при постепенном прилипании раствора аммиака осадка, затем приливают раствор, содержащий 0,005—0,01 г вещества. При осторожном нагревании (лучше на водяной бане при температуре 50—60 °С) выделяется металлическое серебро.

2) К 2 мл раствора, содержащего 0,005—0,01 г вещества, приливают реактив Фелинга, нагревают до кипения; образуется красно-оранжевый осадок.

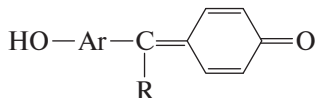
Применяемые для подтверждения *подлинности* альдегидов (по общей реакции окисления) соединения серебра, меди, ртути и, особенно, их растворимые комплексы являются также реагентами и для других групп лекарственных веществ, содержащих восстанавливающие функциональные группы, например для аскорбиновой кислоты, производных многоатомных фенолов, гидразинов, частично гидрированных циклических систем и др. Отличать альдегиды от других групп лекарственных веществ можно по общей для них реакции восстановления тяжелых металлов из их солей в различных условиях (температура, pH). При этом следует учитывать образование в процессе реакции (вместе с выделением металлов) соединений, характерных для испытуемого вещества.

Для альдегидов характерно окисление слабыми окислителями в щелочной среде (реакция ускоряется при нагревании). Условия проведения этой окисли-

тельно-восстановительной реакции позволяют отличить альдегиды от аскорбиновой кислоты, которая выделяет серебро или другие металлы из их солей в водных растворах при разных значениях pH и без нагревания.

6.1.1.3. Реакции нуклеофильного присоединения и конденсации

Альдегиды реагируют с рядом веществ с образованием окрашенных соединений. Наиболее распространенными для дифференциации лекарственных веществ группы альдегидов являются реакции с фенолами, в результате которых образуются арилметановые красители с общей формулой:



Окраска этих красителей и чувствительность реакции зависят от структуры альдегида и реагента.

Очень чувствительной и избирательной является реакция формальдегида с хромотроповой кислотой (1,8-диоксинафталин-3,6-дисульфокислотой).

Реакция с хромотроповой кислотой

Методика. Каплю исследуемого раствора формальдегида смешивают в пробирке с 1 мл серной кислоты концентрированной и прибавляют несколько кристалликов хромотроповой кислоты. Осторожно нагревают на водяной бане при температуре 60 °С. Появляется фиолетовое окрашивание.

Чувствительность реакции составляет 0,14 мкг. Данной реакцией можно обнаруживать все производные формальдегида, т. е. вещества, которые в кислой среде могут выделять формальдегид, например гексаметиленetetрамин, гексамидин, дихлотиазид. Образование альдегидами окрашенных соединений с веществами различной химической структуры имеет значение для идентификации лекарственных веществ. По реакции с наиболее активными альдегидами, например формальдегидом, определяются морфин, кодеин, салициловая кислота, ацетилсалициловая кислота, сульфаниламиды, барбитураты. С *n*-диметиламинобензальдегидом, ванилином образуют характерно окрашенные соединения атропин, ментол, платифиллин.

Наиболее распространенными реактивами, содержащими в качестве реагентов альдегиды, являются формальдегид в серной кислоте концентрированной (*реактив Марки*) и раствор *n*-диметиламинобензальдегида в серной кислоте концентрированной (*реактив ван-Урка*).

n-Диметиламинобензальдегид может давать цветные реакции с циклическими оксо- и оксипроизводными.

Окислителями при образовании красителей с этими реактивами служат кислород воздуха и серная кислота концентрированная, которая одновременно становится и водоотнимающим (конденсирующим) средством в этих реакциях.

Примером цветной реакции *n*-диметиламинобензальдегида с циклическими алифатическими соединениями служит определение атропина сульфата (раствор 1 : 100).

Определение атропина сульфата

Методика. Около 1 мл раствора вещества выпаривают в фарфоровой чашке на водяной бане почти досуха, остаток нагревают с двумя каплями раствора *n*-диметиламинобензальдегида и двумя каплями серной кислоты концентрированной; появляется красное окрашивание, переходящее в фиолетовое.

В зависимости от общей структуры характерные свойства и реакционная способность альдегидной группы в соединениях проявляются не одинаково. Поэтому выбор реакций и реагентов для проведения анализа по альдегидной группе с учетом других особенностей структуры молекулы не может быть унифицирован для всех этих веществ.

Если вещество, содержащее альдегидную группу, обладает восстановительными свойствами не только благодаря альдегидной группе, то общая реакция окисления не является ее подтверждением. Нередко в молекулах лекарственных веществ имеются и альдегидная группа, и фенольный гидроксил, например в пиридоксальфосфате, где альдегидную группу определяют уже не реакцией окисления, а реакцией взаимодействия с фенилгидразином.

Требования к качеству лекарственных веществ этой группы и способы их определения зависят, следовательно, от структурных особенностей всей молекулы, присутствия других функциональных групп, проявляющих сходные или различные по сравнению с альдегидной группой свойства.

Наиболее характерные свойства альдегидов проявляются в реакциях окисления и нуклеофильного присоединения и учитываются при стандартизации, анализе, хранении, приготовлении лекарственных форм.

6.1.2. Углеводы

К углеводам относятся многочисленные вещества, отвечающие общей формуле $C_n(H_2O)_m$, играющие важную роль в обмене веществ человека и других существ. Лекарственные вещества данной группы представлены глюкозой, галактозой, лактозой, сахарозой, крахмалом. Наиболее значимым лекарственным веществом группы углеводов является глюкоза.

6.1.2.1. Глюкоза

Требования НД к качеству ***D*-глюкозы** как лекарственного вещества соответствуют требованиям к химически чистым веществам.

Проведение комплекса физических, физико-химических и химических испытаний позволяет отличить глюкозу от других моносахаридов и веществ, обладающих некоторыми сходными с ней свойствами.

Характерными физическими свойствами глюкозы являются следующие: определенная форма бесцветных крупных или мелких кристаллов; оптическая активность с сильно выраженным вращением плоскости поляризации (удельное вращение 10% раствора глюкозы $+52,3^\circ$); температура плавления безводного вещества.

Глюкоза легко растворима в воде (1 : 1,5) и трудно растворима в 95% спирте, практически нерастворима в эфире.

Кристаллизационная вода глюкозы составляет 10% ее молярной массы. Для глюкозы, которую получают в виде моногидрата, количество кристаллизационной воды служит показателем подлинности и чистоты.

Кристаллогидрат глюкозы выделяют из холодной воды, безводную глюкозу — из спиртовых растворов.

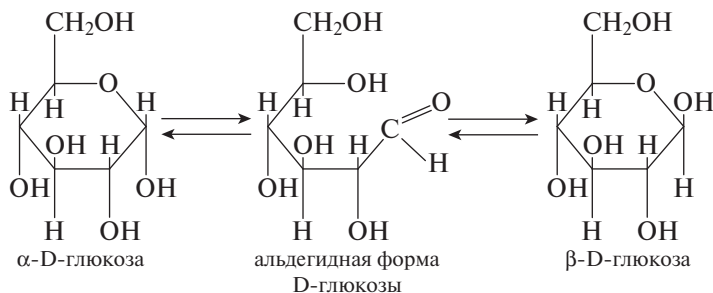
Особенности определения удельного вращения

В свежеприготовленных растворах глюкозы происходит *мутаротация*, т. е. изменение во времени угла вращения; через определенное время эта величина становится постоянной. Мутаротацию можно ускорить путем прибавления к раствору глюкозы раствора аммиака, но в количестве, не превышающем 0,1%.

Если проводить определение угла вращения глюкозы сразу после ее растворения и без прибавления к этому раствору аммиака, то величина угла вращения будет $+109,16^\circ$ и конечного значения $+52,3^\circ$ достигнет только через несколько часов.

Явление мутаротации объясняется тем, что при растворении глюкозы, которая в кристаллическом состоянии находится в какой-либо одной циклической форме, образуется ее альдегидная форма, через которую получаются аномерные циклические формы глюкозы: α - и β -формы, отличающиеся расположением заместителей у первого углеродного атома, в связи с чем имеют различные величины вращения: для α -D-глюкозы $+109,16^\circ$; для β -D-глюкозы $+20,5^\circ$.

Конечное значение вращения соответствует состоянию равновесия α - и β -форм, которые через альдегидную форму в растворе превращаются друг в друга:



Химические свойства

Глюкоза — *полуацеталь* многоатомного спирта, поэтому ей свойственны реакции, характерные для альдегидов и многоатомных спиртов. Некоторые реакции, которые легко протекают с альдегидами, должны проводиться с глюкозой в несколько иных условиях, так как в реакцию могут вступать различные формы глюкозы — открытая (альдегидная) и циклические, имеющие и спиртовые, и полуацетальные гидроксилы.

Реакции окисления глюкозы, как общие реакции для моносахаридов и альдегидов, применяются и для подтверждения подлинности, и для количественной оценки.

Реакции восстановления в щелочной среде ионов меди (II) до ионов меди (I) (с реактивом Фелинга) и ионов серебра до металлического серебра проводятся в таких же условиях, как и с альдегидами, — при нагревании (для большей скорости прохождения реакции). С реактивом Фелинга и серебра нитратом при $\text{pH} = 7,0\text{--}8,0$ глюкоза образует глюконовую кислоту. При большом избытке щелочи ($\text{pH} = 9,0\text{--}10,0$) происходят глубокие изменения молекулы глюкозы.

Общие групповые реакции. Преобразование глюкозы в оксиметилфурфурол — чувствительная реакция, которая основана на получении фурфурола из глюкозы при действии концентрированных серной или хлороводородной кислот с одновременным взаимодействием фурфурола с фенолом или ароматическим амином (резорцином, тимолом, α -нафтолом, β -нафтолом, морфином, нафтиламином и др.). Глюкозу с помощью этой реакции можно обнаружить в количестве 0,01% по образованию окрашенных продуктов конденсации фурфурола (имеющих синий или красный цвет в зависимости от структуры фенола или амина).

Преобразование глюкозы в оксиметилфурфурол

Методика

1) К нескольким кристалликам глюкозы прибавляют кристаллик любого фенола и смачивают серной кислотой концентрированной; появляется окрашивание — от фиолетового до красного.

Цветную реакцию образования фурфурола можно провести и с водными растворами глюкозы при нагревании.

2) К 2 мл 0,01% раствора глюкозы прибавляют несколько капель спиртового раствора α -нафтола или фенола, затем по каплям накладывают серную кислоту концентрированную; на границе двух слоев образуется окрашенное кольцо.

При нагревании небольшого количества глюкозы с хлороводородной кислотой концентрированной и 1% спиртовым раствором резорцина раствор окрашивается в красный цвет. Эту реакцию не дают галактоза, мальтоза, лактоза, но сахароза реагирует с образованием окрашенных продуктов.

Образование комплексных солей с ионами меди в щелочной среде характерно для глюкозы как многоатомного спирта. С сульфатом меди (II) глюкоза при подщелачивании образует фиолетово-синий комплекс, при стоянии раствора происходит окислительно-восстановительная реакция с выделением Cu_2O . Таким образом, одновременно доказываются и альдегидная, и спиртовые функциональные группы глюкозы.

Глюкоза легко изменяется в щелочной среде, поэтому в качестве стабилизаторов к лекарственным формам, применяемым для инъекций, прибавляют немного хлороводородной кислоты. Но большие концентрации кислоты разлагают глюкозу, особенно при нагревании, до оксиметилфурфурола.

6.1.3. Карбоновые кислоты и их производные

К карбоновым кислотам можно отнести многие лекарственные вещества, содержащие в молекуле карбоксильную группу. Представителями карбоновых кислот, свойства которых определяются наличием одной или нескольких кар-

боксильных групп, являются такие лекарственные вещества, как калия ацетат, натрия цитрат, кальция глюконат, кальция лактат.

Характерным свойством карбоновых кислот является солеобразование. Это свойство используют при получении лекарственных веществ. Так, например, приведенные выше и некоторые другие лекарственные вещества представляют собой соли карбоновых кислот с металлами.

Подлинность натрия цитрата определяют по характерной для производных лимонной кислоты реакции образования нерастворимой при кипячении кальциевой соли (см. разд. 2.3).

Образование комплексных соединений с солями тяжелых металлов

При взаимодействии лекарственных веществ карбоновых кислот с солями некоторых тяжелых металлов образуются окрашенные осадки или растворы комплексных соединений.

Методика

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

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

Образование сложных эфиров

Большинство сложных эфиров, образованных алифатическими карбоновыми кислотами и спиртами, имеют характерные ароматные запахи.

Методика. 2 мл раствора калия ацетата (1 : 10) нагревают с 2 мл серной кислоты концентрированной и 0,5 мл 95% спирта; ощущается яблочный запах (этилацетат).

Важным показателем качества лекарственных веществ группы карбоновых кислот, которые получают путем их взаимодействия с соответствующими гидроксидами или карбонатами, является предел кислотности или щелочности. Для проверки избыточной щелочности или кислотности используют титрование, определение рН раствора, специально подобранные индикаторы.

6.1.4. Лактоны полиоксикарбоновых кислот (аскорбиновая кислота)

По химическому строению аскорбиновая кислота — *лактон*. Она имеет два асимметрических атома углерода в положениях 4 и 5 и образует четыре изомера и два рацемата. Лекарственное вещество характеризуется определенной величиной удельного вращения, хорошей растворимостью в воде, 90% спирте, практически не растворяется в органических растворителях.

Химические свойства аскорбиновой кислоты связаны с наличием лактонного кольца и ендиольной группировки.

Ненасыщенное γ -лактонное кольцо L-аскорбиновой кислоты при действии сильных щелочей подвергается гидролитическому расщеплению с образованием соли кетокислоты (2-кето-L-гулоновой), а затем L-ксилозы и фурфурола.

Наличие двух гидроксильных групп у атомов углерода, соединенных двойной связью, обуславливает, как и у всех енольных форм, кислотные свойства лекарственного вещества. Сопряжение карбонильной группы с двойной связью объясняет проявление кислотных свойств енольного гидроксила в 3-м положении.

Аскорбиновая кислота растворяется в щелочах, карбонатах, гидрокарбонатах щелочных металлов. При этом она проявляет себя как одноосновная кислота, образуя нейтральные растворимые монозамещенные соли.

Важнейшим химическим свойством аскорбиновой кислоты является ее восстанавливающая способность, обусловленная подвижными атомами водорода ендиольной группировки. Благодаря этому свойству она служит переносчиком водорода в ферментных системах организма.

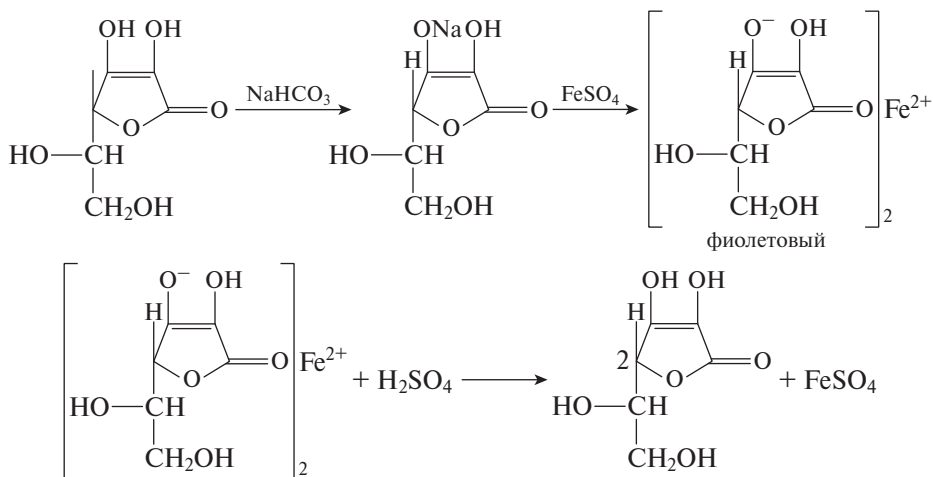
При действии окислителей аскорбиновая кислота легко окисляется в дегидроаскорбиновую кислоту.

Кислотные и восстановительные свойства аскорбиновой кислоты лежат в основе ее качественного и количественного анализа.

Реакции кислотного типа

2% водный раствор вещества окрашивает полоску синей лакмусовой бумаги в красный цвет. Благодаря кислотным свойствам лекарственное вещество образует с железа (II) сульфатом соль фиолетового цвета — железа аскорбинат. Вещество предварительно переводят в ионизированное состояние (натриевую соль).

Методика. К раствору 0,05 г аскорбиновой кислоты в 2 мл воды прибавляют 0,1 г натрия гидрокарбоната и около 0,02 г железа (II) сульфата, встряхивают и оставляют стоять. Появляется темно-фиолетовое окрашивание, исчезающее при добавлении 5 мл серной кислоты разведенной:



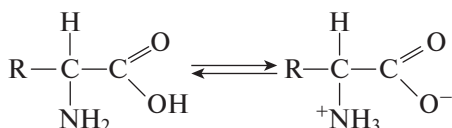
Реакции окисления

В качестве окислителей могут быть применены серебра нитрат, 2,6-дихлорфенолиндофенол, раствор йода и др. Окисление раствором йода или йодатом калия лежит в основе количественного определения аскорбиновой кислоты.

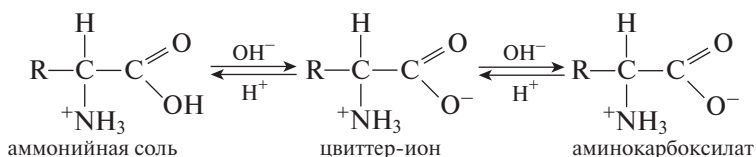
Методика. При добавлении к 5 мл водного раствора вещества (1 : 1000) по каплям 0,1 М раствора йода происходит обесцвечивание последнего.

6.1.5. Аминокислоты

К группе алифатических аминокислот и их производных относятся аминалон, глицин, кислота глутаминовая, метионин, пеницилламин, пирацетам, тетацин кальция. Большинство из них представляют собой α -аминокислоты, пирацетам — гетероциклическое соединение (производное пиррола). Аминокислоты — амфолиты, они способны существовать в виде внутренних солей (цвиттер-ионов):



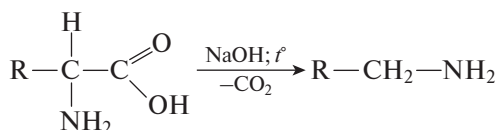
В зависимости от pH α -аминокислоты в растворах диссоциируют с образованием соли аммония (катионная форма), цвиттер-ионов и аминокарбоксилатов (анионная форма):



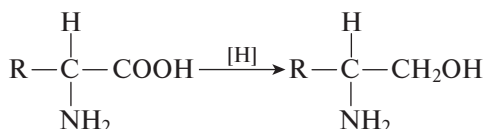
Для каждой α -аминокислоты характерна определенная *изоэлектрическая точка*, т. е. такое значение pH, при котором эти ионы находятся в равновесии. В изоэлектрической точке растворимость аминокислоты минимальна, и ее можно отделить от других аминокислот в растворе. В виде аммонийной соли (pH = 1,0—3,0) или аминокарбоксилата (pH 9,0—10,0) аминокислоты разделяют с помощью электрофореза.

Для аминокислот известны следующие реакции.

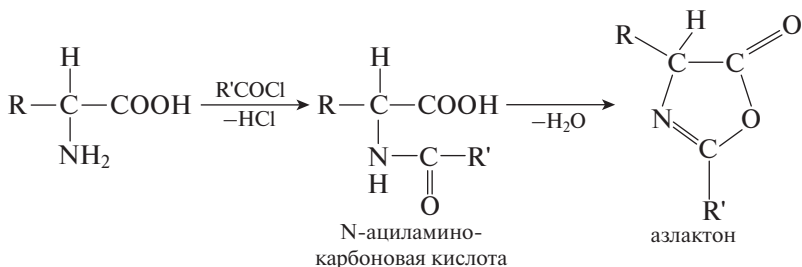
1) Этерификация по карбоксильной группе со спиртами с образованием сложных эфиров; декарбоксилирование с образованием первичного амина



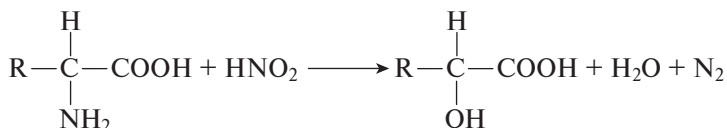
2) Восстановление до аминокспирта



3) Ацилирование: при действии на α -аминокислоту ацилгалогенидом или ангидридом карбоновой кислоты сначала получается N-ациламинокарбоновая кислота, а затем азлактон:

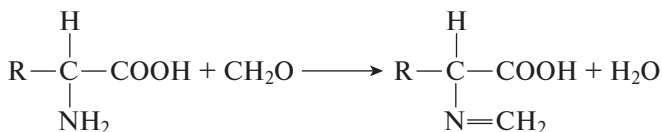


5) Окисление азотистой кислотой с образованием оксикислоты и азота:



По этой реакции проводят количественное определение аминокислот по объему выделившегося азота (*метод Ван Слайка*).

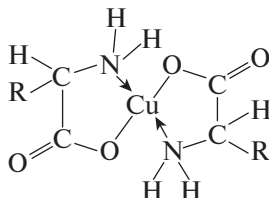
6) Взаимодействие с формальдегидом с образованием азометина:



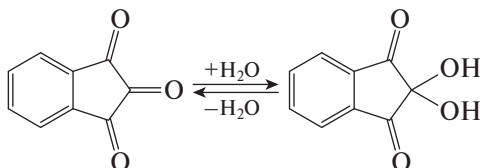
Данная реакция лежит в основе формального метода количественного определения аминокислот (*метод Серенсена*).

7) Образование внутрикомплексных соединений с ионами тяжелых металлов.

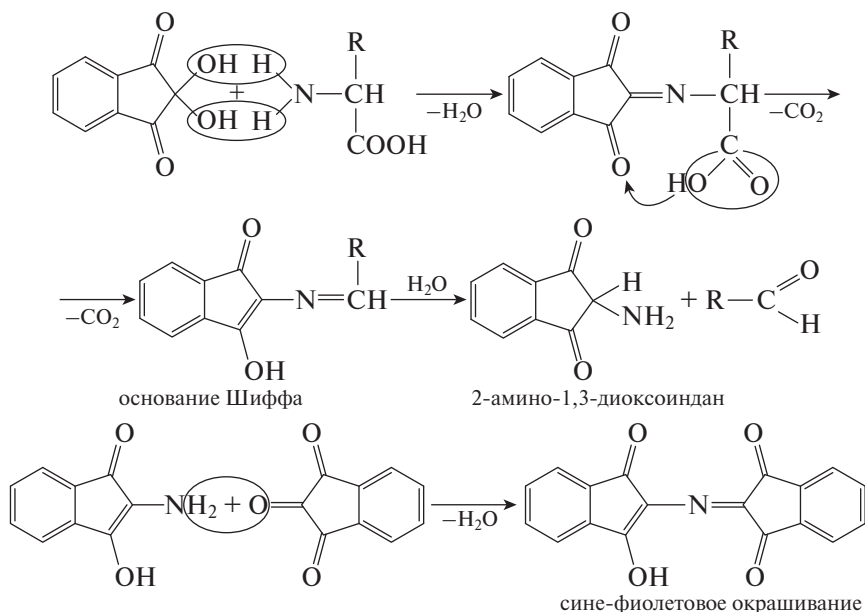
Реакцию с солями меди (с получением хелата глубокого синего цвета) применяют для определения подлинности и обнаружения аминокислот на хроматограммах:



Групповой реакцией на α -аминокислоты, применяемой для определения подлинности лекарственных веществ этого ряда, служит *нингидриновая проба*. Нингидрин — стабильный гидрат 1,2,3-триоксигидриндана:



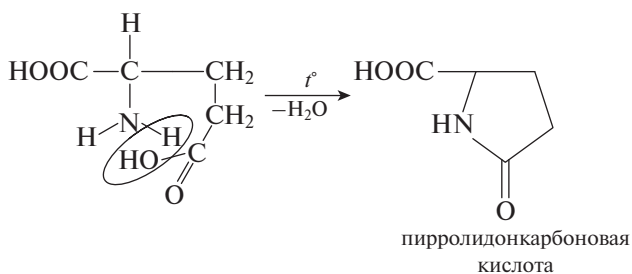
Обе равновесные формы вступают в реакцию с аминокислотой:



Нингидриновая проба

Методика. 0,02 г вещества растворяют при нагревании в 1 мл воды, прибавляют 1 мл свежеприготовленного раствора нингидрина и нагревают; появляется синие-фиолетовое окрашивание.

Специфической реакцией на глутаминовую кислоту при нагревании является образование пирролидонкарбоновой кислоты:

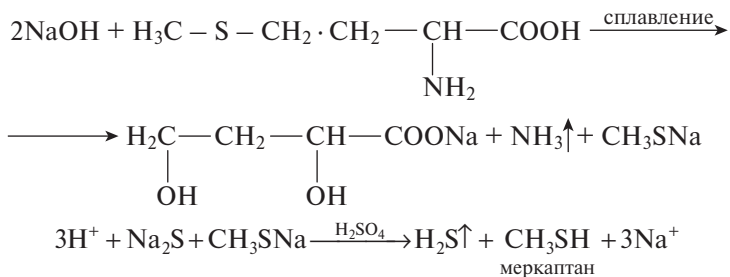


Полученная кислота пирролидонкарбоновая конденсируется с резорцином, образуя продукт, имеющий в растворе аммиака красно-фиолетовое окрашивание с зеленой флуоресценцией.

Образование пирролидонкарбоновой кислоты

Методика. 0,002 г кислоты глутаминовой смешивают с 0,002 г резорцина и 5 каплями серной кислоты концентрированной, нагревают до появления зелено-коричневого окрашивания. Охлаждают, прибавляют 5 мл воды и 5 мл раствора аммиака; появляется красно-фиолетовое окрашивание с зеленой флуоресценцией.

Для метионина характерны реакции, обнаруживающие тиольную группировку. При сплавлении вещества со щелочью с последующим подкислением образуются меркаптан и сероводород:



Обнаружение тиольной группировки

Методика. 0,05 г метионина нагревают в пробирке с 5—6 каплями 30% раствора натрия гидроксида до получения сплава. Пробирку закрывают фильтровальной бумагой, смоченной 1—2 каплями натрия нитропруссид; на фильтровальной бумаге появляется красно-фиолетовое окрашивание (аммиак). К охлажденному сплаву добавляют 5 мл воды и подкисляют серной кислотой разведенной; ощущается запах сероводорода и меркаптана.

6.1.6. β-Лактамыды

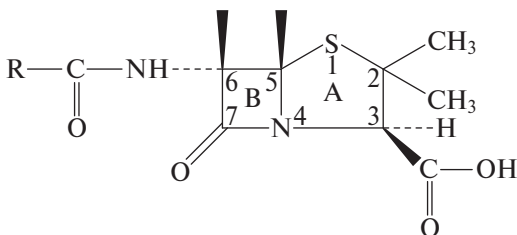
Эта группа лекарственных веществ включает пенициллины и цефалоспорины. Их объединяет общий структурный элемент — β-лактамное кольцо. По химической структуре эти вещества представляют собой N-ацильные производные соответствующих аминокислот — 6-аминопенициллановой, или 6-АПК (пенициллины), и 7-аминоцефалоспоровановой (цефалоспорины).

6.1.6.1. Пенициллины

Химическое строение

Структурной основой пенициллинов является 6-АПК, образованная конденсированными циклическими системами: четырехчленной — β-лактамного (B) кольца и пятичленной — кольца тиазолидина (A).

Общая формула пенициллинов:



Пенициллины отличаются друг от друга строением ацильного остатка в аминокислоте 6-АПК.

В качестве лекарственных средств применяются природные пенициллины (соли бензилпенициллина и феноксиметилпенициллин) и полусинтетические пенициллины (оксациллин, ампициллин, амоксициллин, карбенициллин и др.).

Физические и физико-химические свойства

Лекарственные вещества группы пенициллинов — белые или почти белые кристаллические порошки. Феноксиметилпенициллин, ампициллин, амоксициллин, имеющие в 3-м положении свободную карбоксильную группу, нерастворимы в воде. Натриевая и калиевая соли бензилпенициллина, натриевые соли оксациллина, ампициллина, динатриевая соль карбенициллина легко растворимы в воде; а соли органических оснований (новокаиновая и N,N'-дибензилэтилендиаминовая соли бензилпенициллина) малорастворимы в воде.

β -лактамиды поглощают в ИК-области спектра.

Пенициллины поглощают в УФ-области спектра за счет ароматического ацильного радикала в аминогруппе 6-АПК.

Химические свойства и реакции подлинности

Гидроксамовая реакция основана на наличии общего структурного элемента — β -лактамного кольца, за счет которого при взаимодействии пенициллинов со щелочным раствором гидросиламина гидрохлорида происходит гидроксиламинолиз с образованием гидроксамовой кислоты. После подкисления с солями тяжелых металлов образуются окрашенные соединения: с солями железа (III) — фиолетового цвета раствор железа (III) гидроксамата и с солями меди (II) — зеленого цвета осадок меди (II) гидроксамата.

Эта общегрупповая реакция используется в испытаниях на подлинность и для количественного спектрофотометрического определения в видимой области спектра или фотоэлектроколориметрического определения пенициллинов.

Гидроксамовая реакция

Методика

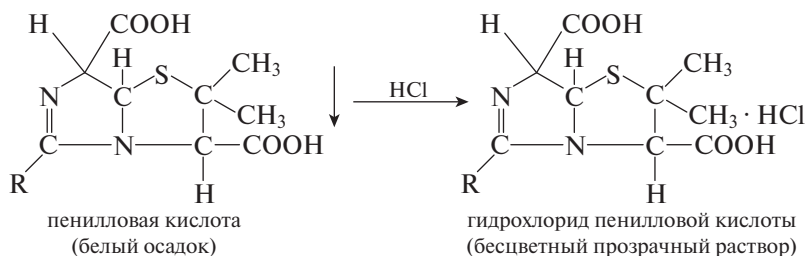
1) Несколько кристаллов лекарственного вещества помещают на предметное стекло или в фарфоровую чашку, прибавляют 1 каплю раствора, состоящего из 1 мл 1 М раствора гидросиламина гидрохлорида и 0,3 мл 1 М раствора натрия гидроксида. Через 2—3 мин к смеси прибавляют 1 каплю 1 М раствора уксусной кислоты, тщательно перемешивают, затем прибавляют одну каплю раствора меди (II) нитрата; выпадает осадок меди (II) гидроксамата зеленого цвета.

2) 5 мг лекарственного вещества растворяют в 3 мл воды, прибавляют 0,1 г гидросиламина гидрохлорида и 1 мл 1 М раствора натрия гидроксида, оставляют стоять на 5 мин. Прибавляют 1,1 мл 1 М раствора хлороводородной кислоты и 3 капли раствора железа (III) хлорида. Образуется раствор железа (III) гидроксамата фиолетового цвета.

Образование пенилловой и пеницилленовой кислот, их использование в анализе

Пенилловая и пеницилленовая кислоты — продукты изомеризации пенициллина в кислой среде. Пенилловая кислота образуется при $\text{pH} \sim 2,0$, а пеницилленовая — при $\text{pH} \sim 5,0$.

При действии на растворимые соли пенициллина (натриевые, калиевые) 25% хлороводородной кислотой сначала образуется кислотная форма пенициллина, которая подвергается гидролитическому расщеплению в условиях избытка кислоты и изомеризации до пенилловой кислоты. Это соединение амфолит и образует благодаря основным свойствам с хлороводородной кислотой растворимую соль — гидрохлорид:



Методика. К 5 мл 2% раствора натриевой (калиевой) соли бензилпенициллина прибавляют по каплям 25% раствор хлороводородной кислоты; выпадает белый осадок пенилловой кислоты, растворимый в избытке реактива.

Для количественного спектрофотометрического определения ряда пенициллинов (ампициллина натриевая соль, амоксициллин и др.) используется реакция образования с солями ртути (II) и меди (II) соответствующих солей пеницилленовой кислоты. Методику см. в разделе «Методы количественного определения».

Реакции для подтверждения катионов в солях пенициллинов

Реакция на калий

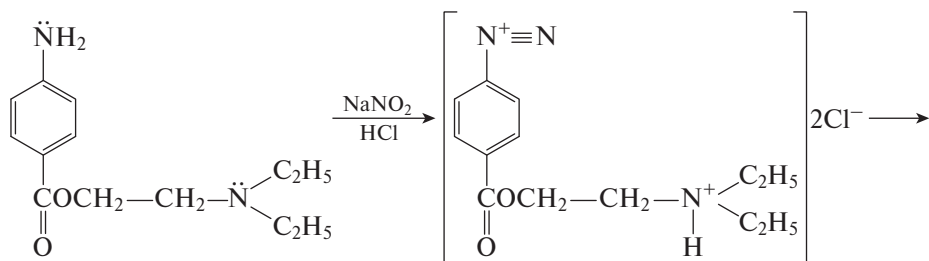
Около 0,1 г лекарственного вещества сжигают в тигле. Остаток дает характерную реакцию на калий — с виннокаменной кислотой.

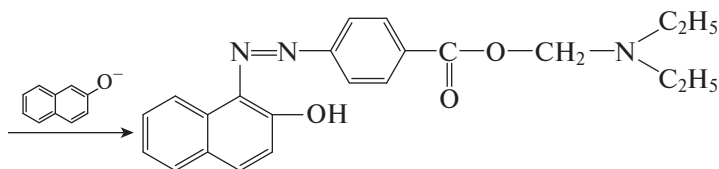
Реакция на натрий

Лекарственное вещество дает характерную реакцию на натрий — по окраске пламени в желтый цвет.

Реакция на новокаин — основание в новокаиновой соли бензилпенициллина

а) Реакция образования азокрасителя на первичную ароматическую аминогруппу:





Методика. К 5 мл насыщенного раствора бензилпенициллина новокаиновой соли прибавляют 3 капли хлороводородной кислоты разведенной и 1 каплю 10% раствора натрия нитрита. Полученный раствор добавляют к 5 мл щелочного раствора β -нафтола. Выпадает красный осадок.

б) Реакции на азотистое основание.

Так как новокаин содержит в своей молекуле два основных центра (более сильный — алифатическая диэтиламиногруппа и более слабый — первичная ароматическая аминогруппа), то он дает осадки с общеалкалоидными осадительными реактивами.

Реакции на азотистое основание

Насыщенный раствор бензилпенициллина новокаиновой соли (2—3 мл) с раствором йода (3—4 мл) образует коричневый осадок, а с реактивом Майера (3—4 мл) — белый осадок.

Реакция некоторых пенициллинов с хромотроповой кислотой

Для отличия пенициллинов друг от друга проводят реакцию с хромотроповой кислотой.

Методика. Пробирку с 2 мг субстанции, 2 мг натриевой соли хромотроповой кислоты и 2 мл серной кислоты концентрированной помещают в баню с температурой 150 °С (масляную или глицериновую) и отмечают секундометром время погружения. Пробирку встряхивают каждые 30 с и отмечают окраску. Происходят следующие изменения окраски (табл. 6.1).

Таблица 6.1

Окраска некоторых пенициллинов с хромотроповой кислотой

Время (мин)	Бензилпенициллин	Феноксиметил-пенициллин	Оксациллин	Ампициллин
0	Бесцветная	Бесцветная	Бесцветная	Бесцветная
1/2	Бесцветная	Бесцветная	Зеленовато-желтая	Бесцветная
1	Бесцветная	Бесцветная	Оливково-зеленая	Бесцветная
1 1/2	Светло-желтая	Светло-розовая	Зеленая	Пурпурная
2	Светло-желтая	Пурпурная	Зеленовато-пурпурная	Темно-пурпурная
2 1/2	Желто-зеленая	Фиолетовая	Пурпурная	Фиолетовая
3	Желто-коричневая	Сине-фиолетовая	Пурпурная	Фиолетовая
3 1/2	Обугливание	Темно-синяя	Пурпурная	Обугливание
4		Темно-синяя	Пурпурная	
4 1/2		Темно-синяя	Пурпурная	
5		Темно-синяя	Обугливание	

Наиболее специфичной и изученной является реакция феноксиметилпенициллина с хромотроповой кислотой.

Феноксиметилпенициллин с серной кислотой концентрированной образует феноксиуксусную кислоту, которая расщепляется с образованием фенола и гликолевой кислоты, окисляемой до формальдегида. Далее формальдегид с хромотроповой кислотой образует ауриновый краситель фиолетового цвета.

Реакция с реактивом Марки

Пенициллины с реактивом Марки (раствор формалина в серной кислоте концентрированной) образуют окрашенные продукты.

Наиболее характерна эта реакция для феноксиметилпенициллина. Реакция протекает за счет фенола, образующегося при расщеплении феноксиуксусной кислоты, которая, в свою очередь, образуется из феноксиметилпенициллина при действии серной кислоты концентрированной.

Образовавшийся фенол с реактивом Марки образует ауриновый краситель красного цвета.

Методика

1) Помещают в пробирку 2 мг субстанции, добавляют 1 каплю воды, затем 2 мл серной кислоты концентрированной и перемешивают. Раствор бесцветный. Погружают пробирку на 1 мин в водяную баню, раствор остается бесцветным. Помещают 2 мг субстанции во вторую пробирку, прибавляют 1 каплю воды и 2 мл свежеприготовленного раствора формальдегида в серной кислоте концентрированной (2 капли раствора формальдегида в 2 мл серной кислоты концентрированной) и перемешивают. Наблюдают окраску. Погружают эту пробирку на 1 мин в водяную баню; наблюдают окраску.

2) К 5—10 мг субстанции (бензилпенициллина натриевой соли, ампициллина натриевой соли, феноксиметилпенициллина) прибавляют 2 капли свежеприготовленного реактива Марки (2 капли раствора формальдегида в 2 мл серной кислоты концентрированной). Отмечают окраску. Нагревают на кипящей водяной бане в течение 2—3 мин, наблюдают углубление окраски. Результаты см. в табл. 6.2.

Таблица 6.2

Окраска некоторых пенициллинов с реактивом Марки

Лекарственное вещество	Реакция с концентрированной серной кислотой		Реакция с серной кислотой концентрированной и раствором формальдегида	
	без нагревания	при нагревании	без нагревания	при нагревании
Бензилпенициллина натриевая (калиевая) соль	Бесцветный	Бесцветный	Коричнево-желтый	Красно-коричневый
Феноксиметилпенициллин	Бесцветный	Бесцветный	Красный	Красно-коричневый
Ампициллина тригидрат	Бесцветный	Бесцветный	Бесцветный или слегка розоватый	Оранжево-желтый
Ампициллина натриевая соль	Бесцветный	Бесцветный	Бесцветный	Темно-желтый

Реакция на остаток аминокислоты в ампициллине и амоксициллине

За счет остатка алифатической аминокислоты (фениламиноуксусной) ампициллин реагирует с нингидрином и вступает в реакцию комплексообразования с меди (II) сульфатом. В последнем случае в качестве реактива применяется реактив Фелинга.

Методика

1) 0,02 г субстанции растворяют в 2 мл воды, содержащей 2—3 капли 0,1 М раствора натрия гидроксида (для натриевой соли ампициллина добавление щелочи не требуется), прибавляют 2 мл свежеприготовленного 0,25% раствора нингидрина и кипятят в течение 2—3 мин; появляется вишневое окрашивание (см. разд. 6.1.5).

2) 0,01 г субстанции растворяют в 1 мл воды, содержащей 1—2 капли 0,1 М раствора натрия гидроксида (для натриевой соли ампициллина добавление щелочи не требуется), прибавляют 2—3 капли реактива Фелинга; сразу же появляется фиолетовое окрашивание.

Реакция образования азокрасителя на амоксициллин

Амоксициллин, в отличие от ампициллина, содержит в молекуле фенольный гидроксил и поэтому с солью диазония образует азокраситель.

Методика. Растворяют 0,1 мл анилина или другого первичного ароматического амина (стрептоцида, норсульфазола) в смеси 1 мл хлороводородной кислоты и 3 мл воды. Охлаждают на льду и прибавляют 1 мл свежеприготовленного 20% раствора натрия нитрита. Полученную соль диазония прибавляют к охлажденному раствору 100 мг лекарственного вещества в 2 мл 5 М раствора натрия гидроксида. Образуется красный раствор и темно-коричневый осадок.

Испытания на чистоту**Определение йодсорбирующих примесей**

Определение йодсорбирующих примесей основано на том, что пенициллины йодом не окисляются. Окисление йодом пенициллинов проводится только после щелочного гидролиза и добавления ацетатного буфера при $\text{pH} = 4,5$. Если же окисление йодом проводить в тех же условиях, но без предварительного щелочного гидролиза, то окисляться будут только возможные продукты расщепления (йодсорбирующие примеси).

Методика. Около 0,25 г испытуемого лекарственного вещества (точная навеска) растворяют в 50 мл 1/15 М фосфатного буфера ($\text{pH} = 7,0$) в мерной колбе вместимостью 100 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают (раствор А).

Раствор А объемом 10 мл вносят в коническую колбу с притертой пробкой вместимостью 250 мл, прибавляют 20 мл 0,8 М раствора ацетатного буфера ($\text{pH} = 4,7 \pm 0,05$), 25 мл 0,01 М раствора йода с калия йодидом, перемешивают и оставляют на 20 мин в темном месте.

Избыток йода титруют 0,01 М раствором натрия тиосульфата до слабо-желтого окрашивания, затем прибавляют 0,2 мл раствора крахмала и титруют до обесцвечивания.

Параллельно проводят контрольный опыт. Содержание йодсорбирующих примесей в процентах (X) в пересчете на сухое вещество вычисляют по формуле:

$$X = \frac{V \cdot K \cdot \Theta \cdot 100}{a \cdot 10} \cdot 100$$

где V — разность в объемах 0,01 М раствора натрия тиосульфата между контрольным и основным титрованием, мл;
 K — поправочный коэффициент к титру 0,01 М раствора натрия тиосульфата;
 a — масса навески лекарственного вещества в пересчете на сухое вещество, г;
 Θ — количество $C_{16}H_{19}N_3S$ (ампициллина), эквивалентное 1 мл 0,01 М раствора йода, г ($\Theta = 0,0004359$).

Содержание йодсорбирующих примесей в субстанции в пересчете на сухое вещество должно быть не более 3,5%.

Методы количественного определения

Йодометрический метод определения суммы пенициллинов в солях бензилпенициллина и в феноксиметилпенициллине

Пенициллины — гетерогенные субстанции, поэтому по НД требуется определение суммы пенициллинов и определяемого пенициллина. Сумму пенициллинов в солях бензилпенициллина и феноксиметилпенициллине определяют йодометрическим методом, который состоит из нескольких стадий:

- 1) получение пенициллоиновой кислоты (щелочной гидролиз или действие пенициллиназы);
- 2) превращение пенициллоиновой кислоты в пенальдиновую и пеницилламин ($pH = 4,5$ в присутствии йода);
- 3) окисление йодом пеницилламина и пенальдиновой кислоты до пеницилламиновой и дегидропенальдиновой кислоты соответственно;
- 4) титрование избытка йода раствором натрия тиосульфата.

Аналогичным образом проводят количественное определение полусинтетических цефалоспоринов — цефалексина и цефалотина.

При йодометрическом определении β -лактамидов (пенициллинов и цефалоспоринов) используют стандартные образцы, так как реакция взаимодействия йода с продуктами щелочного гидролиза пенициллинов не протекает строго стехиометрически. Этим же целям служит поддержание определенного значения pH раствора и времени анализа.

Методика. Точную навеску лекарственного вещества (0,06—0,1 г) растворяют в воде в мерной колбе вместимостью 100 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. 5 мл раствора переносят в коническую колбу с притертой пробкой вместимостью 250 мл, прибавляют 2 мл 1 М раствора натрия гидроксида и оставляют на 20 мин. После этого к смеси прибавляют 2 мл 1 М раствора хлороводородной кислоты, 5 мл 0,3 М раствора ацетатного буфера ($pH = 4,50 \pm 0,05$), 20 мл 0,01 М раствора йода и оставляют на 20 мин в темном месте. Избыток йода титруют 0,01 М раствором натрия тиосульфата 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 ($\text{pH} = 4,50 \pm 0,05$), 20 мл 0,01 М раствора йода, оставляют на 20 мин в темном месте, после чего избыток йода оттитровывают 0,01 М раствором натрия тиосульфата, как описано выше.

Разность в объемах между титрованиями соответствует содержанию суммы пенициллинов в лекарственном веществе.

Проводят йодометрическое определение (как описано выше) стандартного образца натриевой соли бензилпенициллина или феноксиметилпенициллина в том случае, когда анализируют феноксиметилпенициллин (2—3 параллельные навески), и рассчитывают эквивалент (Э) анализируемого пенициллина, соответствующий 1 мл 0,01 М раствора йода, или используют эквивалент согласно табл. 6.3, учитывая температуру, при которой проводились йодометрические определения суммы пенициллинов в лекарственном средстве.

Таблица 6.3

Эквиваленты 1 мл 0,01 М раствора йода стандартного образца натриевой соли бензилпенициллина или феноксиметилпенициллина (с пересчетом на химически чистое вещество)

Температура, °С	Эквивалент стандартного образца бензилпенициллина, г	Величина эквивалента в граммах стандартного образца феноксиметилпенициллина, г
10	0,0004753	0,0005118
11	0,0004673	0,0005015
12	0,0004587	0,0004912
13	0,0004521	0,0004831
14	0,0004445	0,0004726
15	0,0004374	0,0004630
16	0,0004310	0,0004533
17	0,0004241	0,0004445
18	0,0004177	0,0004367
19	0,0004119	0,0004281
20	0,0004055	0,0004209
21	0,0004000	0,0004146
22	0,0003965	0,0004100
23	0,0003934	0,0004052
24	0,0003906	0,0004010
25	0,0003876	0,0003962

Содержание суммы пенициллинов в лекарственном средстве в процентах (X) вычисляют по следующей формуле:

$$X = \frac{V \cdot K \cdot \text{Э} \cdot 100 \cdot C \cdot 100}{A \cdot 5},$$

где V — разность объемов 0,01 М раствора йода между контрольным и опытным титрованием, мл;
 K — поправочный коэффициент 0,01 М раствора натрия тиосульфата;

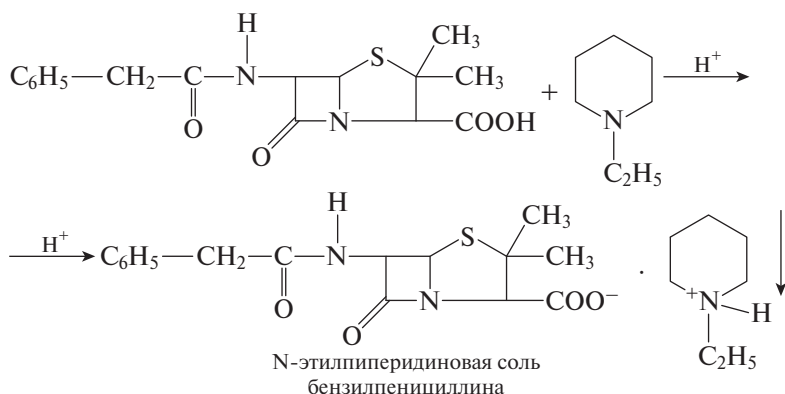
- Э — эквивалент 1 мл 0,01 М раствора йода стандартного образца натриевой соли бензилпенициллина или феноксиметилпенициллина (с пересчетом на химически чистое вещество), г. Эквиваленты представлены в табл. 6.3.
- С — коэффициент пересчета стандартного образца натриевой соли бензилпенициллина на исследуемый пенициллин, указанный в соответствующей частной статье;
- а — масса навески лекарственного средства, г.

Приготовление 0,3 М раствора ацетатного буфера с pH 4,50 ± 0,05

17,5 г натрия ацетата и 10,3 г уксусной кислоты ледяной растворяют в воде в мерной колбе вместимостью 1 л, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Потенциометрически определяют pH одновременно со стандартным буфером с pH в пределах 4,0—5,0.

Определение бензилпенициллина в его солях

Определение бензилпенициллина в его солях проводится гравиметрическим методом, основанным на образовании N-этилпиперидиновой соли бензилпенициллина, которая нерастворима в смеси амилацетата и ацетона. Соли других пенициллинов растворимы в этой смеси и осадка не образуют:



Методика. Около 0,06—0,12 г лекарственного вещества (точная навеска) вносят в центрифужную пробирку и растворяют в 2 мл воды.

К полученному раствору прибавляют 2 мл амилацетата (реактив 1) и 0,5 мл раствора фосфорной кислоты. Пробирку закрывают и энергично встряхивают в течение 15 с, после чего центрифугируют. Слой амилацетата отбирают пастеровской пипеткой как можно полнее и фильтруют в пробирку, погруженную в емкость со льдом, через стеклянный фильтр № 4, в который предварительно добавляют 0,1 г измельченного в порошок безводного натрия сульфата.

В предварительно взвешенную плоскодонную колбу вместимостью 5 мл вносят 1 мл ацетона (реактив 2), 0,5 мл смеси N-этилпиперидина с амилацетатом (реактив 3) и 1 мл амилацетатного фильтрата. Содержимое колбы тщательно перемешивают, колбу помещают в широкий бюкс, закрывают крышкой и оставляют стоять в холодильнике 2 ч.

Выпавший осадок N-этилпиперидиновой соли бензилпенициллина переносят во взвешенный фильтр.

Колбочку с частично оставшимся осадком и осадок на фильтре промывают 1 мл ацетона, затем высушивают в вакуум-эксикаторе при комнатной температуре в течение 1—2 ч до постоянной массы.

Масса осадка на фильтре и в колбочке представляет собой общую массу осадка выпавшей N-этилпиперидиновой соли бензилпенициллина.

1 г полученного осадка соответствует 0,8322 г калиевой соли бензилпенициллина, 0,7962 г натриевой соли бензилпенициллина и 1,315 г новокаиновой соли бензилпенициллина моногидрата.

Приготовление реактивов

1. Амилацетат, насыщенный N-этилпиперидиновой солью бензилпенициллина.

Амилацетат сушат над прокаленным кальция хлоридом в течение 3 дней и фильтруют. К отфильтрованному амилацетату прибавляют новую порцию прокаленного кальция хлорида, кипятят в течение 2 ч и перегоняют, отбирая фракцию, кипящую в пределах 135—140 °С. Затем амилацетат насыщают N-этилпиперидиновой солью бензилпенициллина из расчета 0,003 г соли на 1 мл.

2. Ацетон, насыщенный N-этилпиперидиновой солью бензилпенициллина.

Ацетон сушат над прокаленным поташом (5% по отношению к объему ацетона) в течение 3—4 дней и отфильтровывают. К отфильтрованному ацетону прибавляют 1—2 кристалла калия перманганата до исчезающего слабо-розового окрашивания и перегоняют, отбирая фракцию, кипящую в пределах 56—57 °С. Затем ацетон насыщают N-этилпиперидиновой солью бензилпенициллина из расчета 0,003 г на 1 мл.

3. Смесь N-этилпиперидина и амилацетата, насыщенная N-этилпиперидиновой солью бензилпенициллина.

Смесь 1 мл N-этилпиперидина и 4 мл обезвоженного амилацетата насыщают N-этилпиперидиновой солью бензилпенициллина из расчета 0,003 г на 1 мл.

Все реактивы, в том числе и вода, в которой растворяют навеску солей бензилпенициллина, при употреблении должны иметь температуру от 0 до 5 °С.

При отмеривании реактивов 1, 2 и 3 необходимо пропускать их через вату, которой обертывают нижний кончик пипетки. Всеми реактивами можно пользоваться в течение 3 дней при условии хранения их при 0 °С.

Количественное определение бензилпенициллина калиевой соли

Сумма пенициллинов. Около 0,06 г лекарственного вещества (точная навеска) растворяют в воде в мерной колбе вместимостью 100 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Далее проводят определение, как указано в общей методике.

1 мг стандартного вещества натриевой соли бензилпенициллина соответствует 1,045 мг суммы пенициллинов, в пересчете на бензилпенициллина калиевую соль.

Бензилпенициллин. Определение содержания бензилпенициллина проводят, как указано в общей методике «Определение бензилпенициллина в его солях».

1 г осадка соответствует 0,8322 г $C_{16}H_{17}KN_2O_4S$.

Количественное определение бензилпенициллина натриевой соли

Сумма пенициллинов. Около 0,06 г лекарственного вещества (точная навеска) растворяют в воде в мерной колбе вместимостью 100 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Далее проводят определение, как указано в общей методике.

1 мг стандартного вещества натриевой соли бензилпенициллина соответствует 1,0 мг суммы пенициллинов в пересчете на бензилпенициллина натриевую соль.

Бензилпенициллин. Определение содержания бензилпенициллина проводят, как указано в общей методике «Определение бензилпенициллина в его солях».

1 г осадка соответствует 0,7962 г $C_{16}H_{17}N_2NaO_4S$.

Количественное определение бензилпенициллина новокаиновой соли

Сумма пенициллинов. Около 0,08 г лекарственного вещества (точная навеска) растворяют в 20 мл 1/15 М фосфатного буфера $pH = 7,0$ в мерной колбе вместимостью 100 мл, доводят водой до метки и перемешивают. Далее проводят определение, как указано в общей методике.

1 мг стандартного вещества натриевой соли бензилпенициллина соответствует 1,652 мг суммы пенициллинов в пересчете на бензилпенициллина новокаиновую соль, моногидрат.

Бензилпенициллина новокаиновая соль, моногидрат. Определение содержания $C_{16}H_{18}N_2O_4S \cdot C_{13}H_{20}N_2O_2 \cdot H_2O$ проводят, как указано в статье «Определение бензилпенициллина в его солях».

1 г осадка соответствует 1,315 г $C_{16}H_{18}N_2O_4S \cdot C_{13}H_{20}N_2O_2 \cdot H_2O$.

Новокаин. Около 0,1 г лекарственного вещества (точная навеска) вносят в делительную воронку вместимостью 100 мл, прибавляют 25—30 мл воды, 5 мл 10% раствора натрия карбоната, 50 мл хлороформа и извлекают новокаин, тщательно встряхивая воронку в течение 2 мин. Хлороформный слой вносят в другую делительную воронку и промывают его 15 мл воды. Промытое хлороформное извлечение переносят в третью делительную воронку, прибавляют 25 мл 0,005 М раствора серной кислоты и тщательно встряхивают воронку в течение 2 мин. Хлороформное извлечение, оставшееся после подкисления серной кислотой, переносят в новую делительную воронку и промывают 15 мл воды. Кислый водный раствор, содержащий новокаин, переносят в коническую колбу вместимостью 250 мл, тщательно смывая делительную воронку водой, прибавляют последнюю промывную воду от хлороформного извлечения и избыток серной кислоты титруют 0,01 М раствором натрия гидроксида (индикатор — метиловый красный).

1 мл 0,005 М раствора кислоты серной соответствует 0,002363 г $C_{13}H_{20}N_2O_2$.

Определение суммы пенициллинов в феноксиметилпенициллине

Методика. Около 0,06 г лекарственного вещества (точная навеска) растворяют в 20 мл 1/15 М фосфатного буфера, pH = 7,0 в мерной колбе вместимостью 100 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Далее проводят определение, как указано в общей методике.

1 мг стандартного вещества феноксиметилпенициллина соответствует 1,0 мг суммы пенициллинов в пересчете на феноксиметилпенициллиновую кислоту.

Определение феноксиметилпенициллина

Феноксиметилпенициллин определяют методом УФ-спектрофотометрии в 5% растворе натрия гидрокарбоната при длине волны 268 нм.

Методика. Около 0,1 г лекарственного вещества (точная навеска) растворяют в 4 мл 5% раствора натрия гидрокарбоната, объем доводят водой до 500 мл и определяют оптическую плотность полученного раствора при длине волны 268 нм в кювете с толщиной слоя 1 см.

Контрольным раствором служат 4 мл 5% раствора натрия гидрокарбоната, разведенные водой до 500 мл. $A_{1\text{см}}^{1\%}$ для $\text{C}_{16}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_5\text{S}$ при длине волны 268 нм — 34,8.

Спектрофотометрический метод определения ампициллина натриевой соли

Метод основан на образовании комплексной соли пеницилленовой кислоты с меди (II) сульфатом в буферном растворе (pH = 5,2) и его спектрофотометрическом определении при длине волны 320 нм.

Методика. 0,05—0,06 г лекарственного вещества (точная навеска) вносят в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в воде, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают, 5 мл этого раствора вносят в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора до метки буферным раствором меди (II) сульфата (pH 5,2). 25 мл полученного раствора переносят в мерную колбу вместимостью 25 мл, плотно закрывают ее и помещают в водяной термостат при температуре 80 °С на 30 мин. Затем колбу вынимают, быстро охлаждают до комнатной температуры, если необходимо, доводят объем раствора водой до метки.

Оптическую плотность полученного раствора измеряют на спектрофотометре при длине волны 320 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм, используя в качестве раствора сравнения непрогретый буферный раствор лекарственного вещества. Параллельно измеряют оптическую плотность раствора стандартного образца ампициллина тригидрата, обработанного таким же образом, как испытуемое лекарственное средство.

Содержание ампициллина в лекарственном веществе в процентах (X) рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{A_1 \cdot a_0 \cdot b}{A_0 \cdot a_1}$$

где A_1 и A_0 — оптическая плотность испытуемого раствора и раствора стандартного образца соответственно;

a_1 — масса навески лекарственного вещества в пересчете на сухое вещество, г;

Затем раствор охлаждают, предохраняя его от поглощения углекислого газа из воздуха (натронной известью) и избыток натрия гидроксида оттитровывают 0,1 М раствором кислоты хлороводородной (индикатор — фенолфталеин).

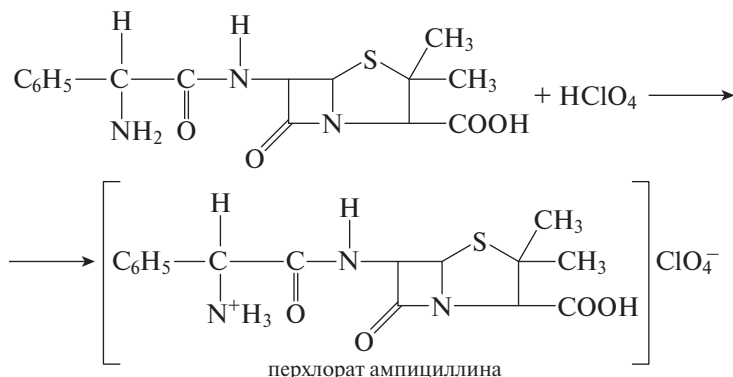
Одновременно проводят контрольный опыт. Разность между титрованиями представляет собой количество 0,1 М раствора натрия гидроксида, пошедшее на реакцию с оксациллином.

1 мл 0,1 М раствора натрия гидроксида соответствует 0,04414 г $C_{19}H_{18}N_3NaO_5S \cdot H_2O$.

Определение ампициллина

Ампициллин определяют методом кислотно-основного титрования в неводной среде по основному центру — алифатической аминогруппе.

Лекарственное вещество растворяют в ледяной кислоте уксусной и титруют кислотой хлорной:



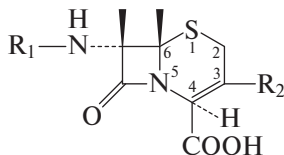
По Европейской фармакопее пенициллины определяют методом жидкостной хроматографии.

6.1.6.2. Цефалоспорины

Химическое строение

Цефалоспорины и полусинтетические цефалоспорины — производные 7-аминоцефалоспоровановой (7-АЦК) и 7-аминодезэцетоксицефалоспоровановой кислот (7-АДЦК), включающие конденсированные кольца: β -лактамное и метадигидротиазинное.

Общая формула цефалоспоринов:



Физические и физико-химические свойства цефалоспоринов

Цефалоспорины — белые или белые со слегка желтоватым оттенком (за счет возможного окисления метадигидротиазинового кольца) порошки. Кислот-

Физические и физико-химические свойства

Аминогликозиды — белые или белые с кремоватым (гентамицина сульфат) либо желтоватым (амикацина сульфат) оттенком порошки, легко растворимы в воде, практически нерастворимы в спирте, эфире, хлороформе.

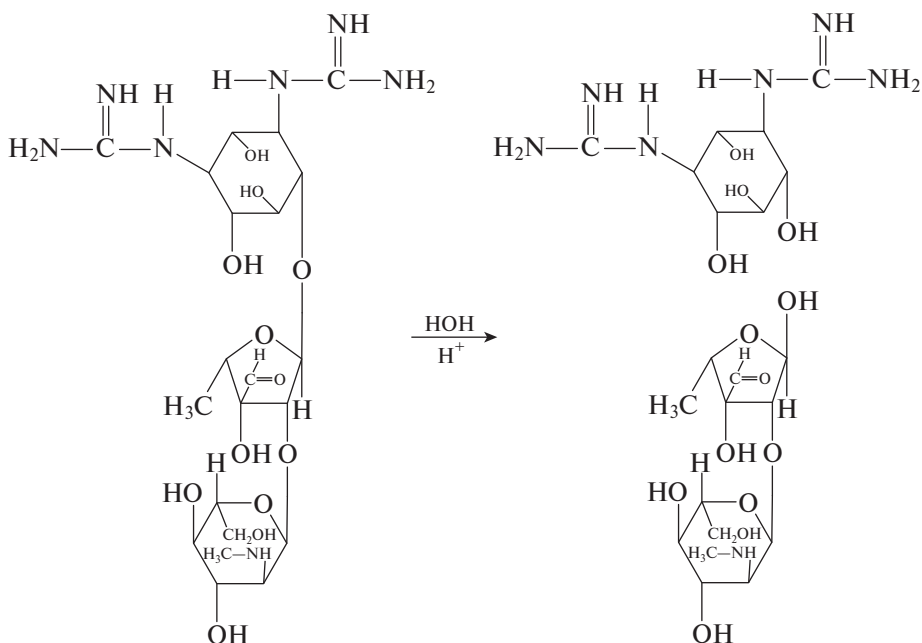
Лекарственные вещества данной группы оптически активны, так как содержат в своем составе остатки D- или L-сахаров.

Аминогликозиды не имеют характерных максимумов поглощения в УФ-области спектра от 200 до 400 нм.

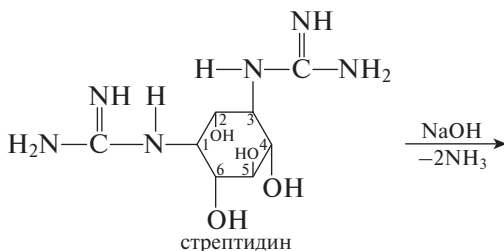
Химические свойства

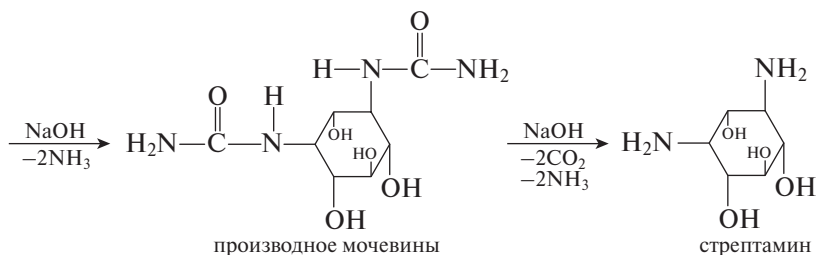
Реакции подлинности

Как гликозиды, эти лекарственные вещества способны к гидролитическому расщеплению в кислой среде с образованием агликона и сахаров. Например:



Стрепидин представляет собой двухосновное соединение, которое при действии щелочи преобразуется сначала в производное мочевины, а затем — в стрептамин:



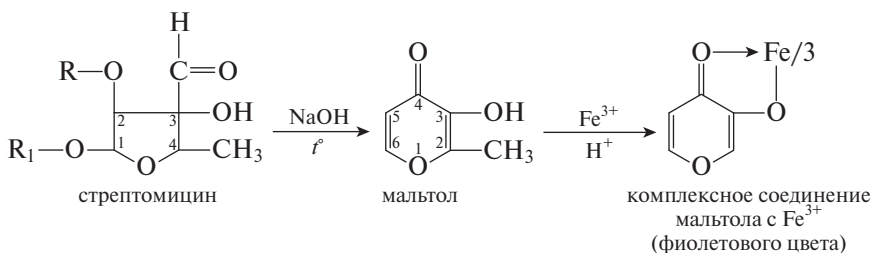


Стрептомицина сульфат

В отличие от других аминогликозидов, стрептомицин гидролизруется как в кислой, так и в щелочной среде. При щелочном гидролизе из остатка L-стрептозы образуется мальтол, который открывается реакцией с солями железа (III). Одновременно из остатков гуанидина выделяется аммиак, который обнаруживают по запаху и по посинению влажной красной лакмусовой бумаги.

Мальтольная реакция на остаток стрептозы

Основана на образовании мальтола из L-стрептозы под действием гидроксида натрия. За счет енольного гидроксила (С-3) и карбонильной группы (С-4) мальтол образует окрашенные комплексы с солями железа (III):



Методика. К 10 мг стрептомицина сульфата прибавляют 2 мл раствора натрия гидроксида и нагревают на кипящей водяной бане в течение 3—4 мин. Раствор окрашивается в желтый цвет, и ощущается запах аммиака. После охлаждения к раствору добавляют 4 мл хлороводородной кислоты разведенной и 2—3 капли 3% раствора железа (III) хлорида. Появляется фиолетовая окраска.

Примечание. Дигидрострептомицин, который в остатке L-стрептозы содержит гидроксиметильную группу, не образует мальтола.

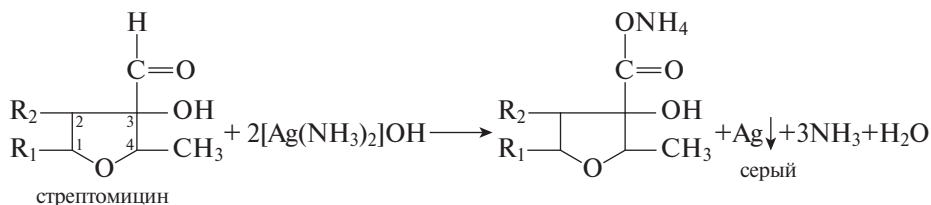
Реакции на альдегидную группу в остатке L-стрептозы

Используются реакции:

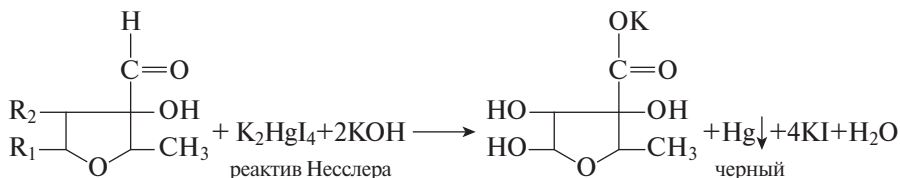
- окисления — за счет восстанавливающих свойств альдегидной группы (с реактивом Фелинга, аммиачным раствором серебра нитрата, с реактивом Несслера);
- конденсации с фенолами и др.

Методика

1) К 2 мл 1% раствора стрептомицина сульфата прибавляют 1 мл аммиачного раствора серебра нитрата и нагревают на кипящей водяной бане в течение 3 мин; на стенках пробирки появляется металлическое зеркало.



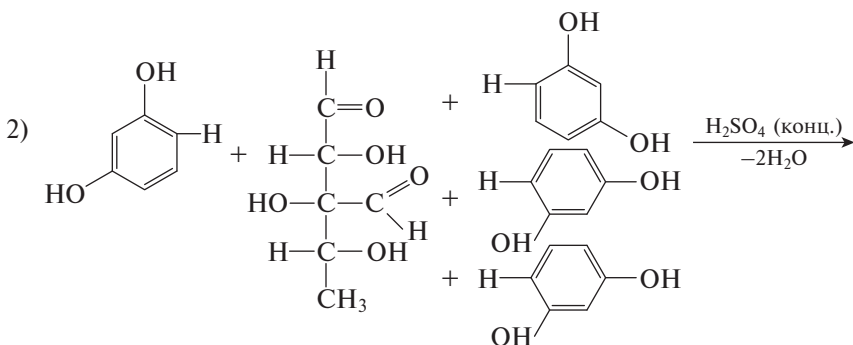
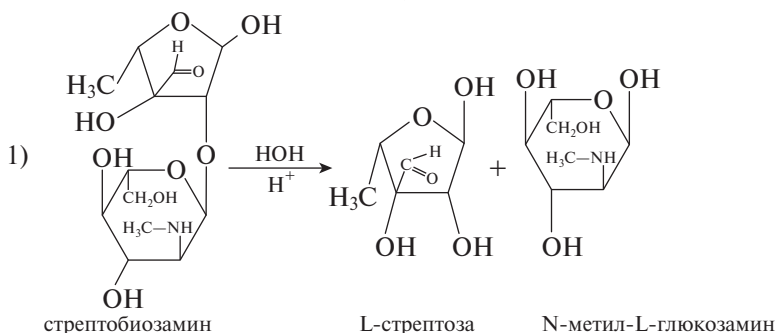
2) К 2 мл 1% раствора стрептомицина сульфата добавляют 0,5 мл реактива Несслера; появляется черный осадок металлической ртути.

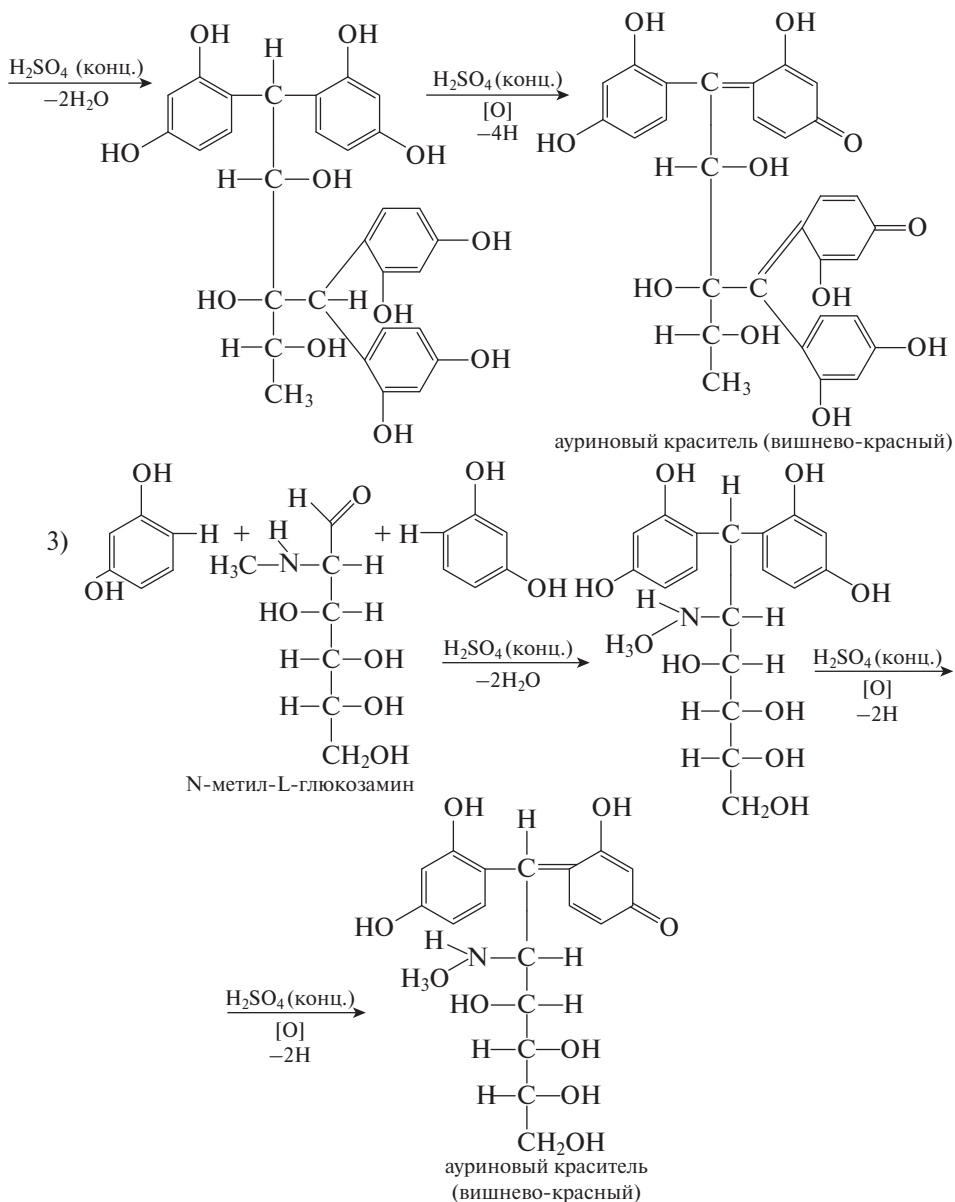


Реакция конденсации с фенолами

При действии серной кислоты концентрированной происходит расщепление стрептомицина с образованием стрептидина и стрептобиозамина, а затем L-стрептозы и N-метил-L-глюкозамина.

Оба сахара дают реакцию образования ауринового красителя с резорцином в присутствии серной кислоты концентрированной, причем L-стрептоза дает реакцию за счет двух альдегидных групп (свободной и образовавшейся при кислотном гидролизе; реакции 2 и 3).





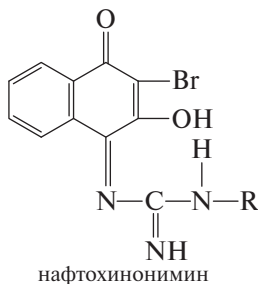
Реакция конденсации и окисления с резорцином

Методика. К 2 мл 1% раствора стрептомицина сульфата добавляют 2 мл серной кислоты концентрированной, 10 мг резорцина и нагревают на кипящей водяной бане. Появляется вишнево-красное окрашивание.

Реакции на остатки гуанидина

Для доказательства гуанидина в молекуле стрептомицина сульфата используется реакция Сакагучи и взаимодействие с окисленным натрием нитропруссидом (реактив Вебера).

В реакции Сакагучи происходит окисление α -нафтола в щелочной среде гипобромитом, бромирование, далее — образование окрашенного в малиновый цвет нафтохинонимина. Вместо раствора натрия гипобромита используют бромную воду в щелочной среде.



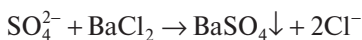
Методика

1) К 5 мл 0,5% раствора стрептомицина сульфата прибавляют 2 мл свеже-приготовленного 0,05% раствора α -нафтола в 10% растворе натрия гидроксида и 5 капель бромной воды; появляется малиновое окрашивание.

2) 10 мг стрептомицина сульфата растворяют в 1 мл воды и прибавляют 1 мл раствора окисленного натрия нитропруссиды (смешивают равные объемы 10% раствора натрия нитропруссиды, 10% раствора калия гексацианоферрата (III) и 10% раствора натрия гидроксида, через 10 мин 1 мл полученного раствора доводят водой до объема 10 мл), появляется красное окрашивание.

Реакции на сульфаты с бария хлоридом

Методика. К 2 мл 2% раствора стрептомицина сульфата прибавляют 0,5 мл раствора бария хлорида. Образуется белый осадок, нерастворимый в минеральных кислотах.



Количественное определение стрептомицина сульфата

фотоэлектроколориметрическим методом на основе мальтозной реакции

Методика. Около 0,1 г стрептомицина сульфата (точная навеска) растворяют в воде в мерной колбе вместимостью 100 мл, доводят водой до метки и перемешивают. К 5 мл полученного раствора прибавляют 5 мл 0,2 М раствора натрия гидроксида и нагревают на кипящей водяной бане 10 мин. Охлаждают на льду 5 мин. Затем прибавляют 3 мл раствора железоаммониевых квасцов в растворе кислоты серной и достаточное количество воды до получения 25 мл, перемешивают. Точно через 20 мин после добавления раствора железоаммониевых квасцов измеряют оптическую плотность раствора в кювете с толщиной слоя 1 см при максимуме 525 нм, используя в качестве раствора сравнения приготовленный аналогичным образом раствор, но без добавления испытуемого вещества.

Рассчитывают содержание $(\text{C}_{21}\text{H}_{39}\text{N}_7\text{O}_{12})_2 \cdot 3\text{H}_2\text{SO}_4$ (стрептомицина сульфата) по величине удельного показателя поглощения ($A_{1\text{см}}^{1\%} = 11,8$) и по калибровочному графику.

Приготовление раствора железоммониевых квасцов в серной кислоте

8,3 г железоммониевых квасцов растворяют в 0,25 М растворе серной кислоты до получения 1000 мл раствора.

Построение калибровочного графика

Точную навеску 0,2000 г стандартного образца стрептомицина сульфата растворяют в воде в мерной колбе вместимостью 100 мл, доводят водой до метки и перемешивают. В ряд конических колб вносят соответственно: 0,5; 1,0; 1,5; 2,0; 2,5; 3,0; 3,5 и 4,0 мл полученного раствора и прибавляют воды пипеткой до объема 5 мл (соответственно 4,5; 4,0; 3,5; 3,0; 2,5; 2,0; 1,5 и 1,0 мл). Затем в каждую колбу добавляют по 5 мл 0,2 М раствора натрия гидроксида, перемешивают и помещают на водяную баню точно на 10 мин. Далее поступают, как указано выше в методике определения стрептомицина сульфата.

6.1.8. Терпены

Терпены имеют общую формулу $(C_5H_8)_n$, их подразделяют на следующие группы: монотерпены $C_{10}H_{16}$ (два изопреновых фрагмента); сесквитерпены $C_{15}H_{24}$ (три изопреновых фрагмента); дитерпены $C_{20}H_{32}$; тритерпены $C_{30}H_{48}$ и т. д.

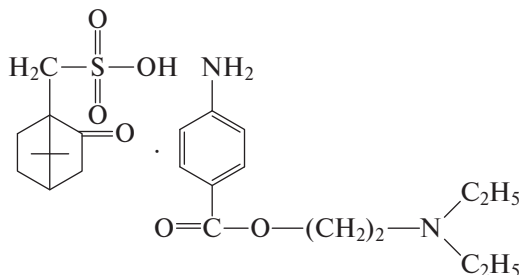
Многие терпены существуют в виде стереоизомеров. Для ментола известны четыре диастереомера, различающихся по физическим свойствам и запаху. Лекарственным средством является только (—)-ментол (для наружных лекарственных форм разрешен к применению и рацемический ментол). В то же время в России разрешена к применению как правовращающая, так и левовращающая камфора. НД регламентируют определение удельного вращения ментола и камфора.

Взаимодействие с альдегидами в присутствии концентрированной кислоты серной с образованием различно окрашенных продуктов

0,01 г камфоры или ментола растворяют в 1 мл серной кислоты концентрированной и прибавляют 1 мл 1% раствора ванилина или *n*-диметиламинобензальдегида в серной кислоте концентрированной. Наблюдают появившееся окрашивание; добавляют 1 мл воды и отмечают окончательное окрашивание.

Как кетон, камфора образует оксимы, карбазоны, гидразоны.

Сульфокамфокаин представляет собой водорастворимое соединение, что позволяет использовать его в виде раствора для инъекций:



Реакции подлинности сульфокамфокаина

Методика. Навеску сульфокамфокаина массой 0,25 г помещают в тигель. Прибавляют 0,05 г натрия нитрата и 2 г натрия карбоната. Смесь сжигают и затем прокаливают при красном калении. После охлаждения к остатку осторожно прибавляют хлороводородную кислоту концентрированную до конца вспенивания и испаряют досуха. Сухой остаток растворяют в 50 мл воды и фильтруют. К фильтрату прибавляют воды до объема 100 мл, подкисляют 6 мл хлороводородной кислоты и нагревают до кипения. К кипящему раствору при перемешивании прибавляют 5 мл 5% раствора бария хлорида; выпадает белый осадок (сульфогруппа).

0,05 г вещества растворяют в пробирке в 1 мл воды, прибавляют 3 мл раствора 2,4-динитрофенилгидразина в хлороводородной кислоте и нагревают до кипения; через 5 мин образуется желто-оранжевый осадок (кетогруппа).

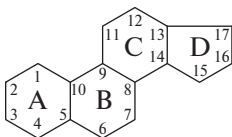
0,05 г вещества растворяют в 1 мл хлороводородной кислоты разведенной, прибавляют 2 мл 1% раствора натрия нитрита; полученный раствор прибавляют к 1 мл щелочного раствора β -нафтола, содержащего 0,5 г натрия ацетата; образуется осадок оранжево-красного цвета (первичная ароматическая аминогруппа).

Дегидратация терпингидрата в присутствии серной кислоты

К 5 мл горячего раствора терпингидрата (1 : 50) прибавляют несколько капель серной кислоты концентрированной; жидкость мутнеет и приобретает ароматный запах терпинеолов.

6.1.9. Производные циклопентанпергидрофенантрена

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



6.1.9.1. Общие реакции карденолидов и стероидных гормонов

Реакция с серной кислотой концентрированной

Серная кислота концентрированная является общим внутригрупповым реактивом, подтверждающим наличие стероидного цикла. По окраске продуктов реакции, наличию или отсутствию флуоресценции УФ-области спектра, изменению окраски после разведения 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).

Методика

1) 2 мг субстанции (строфантин К, кортизона ацетат, гидрокортизон, преднизон, преднизолон, метилтестостерон, тестостерона пропионат, метиландростендиол, метандростенолон, этинилэстрадиол, местранол) растворяют в 2 мл

серной кислоты концентрированной. Наблюдают окраску, а через 20 мин флуоресценцию в УФ-свете. Прибавляют 5 мл воды, встряхивают. Определяют окраску и флуоресценцию (табл. 6.4).

Таблица 6.4

Окраска продуктов реакции стероидов с серной кислотой концентрированной

Лекарственное вещество	После добавления серной кислоты концентрированной		После добавления воды	
	окраска	флуоресценция в УФ-свете	окраска	флуоресценция в УФ-свете
Строфантин К	Зеленая, переходящая в коричневую	Зеленая	Светло-желтая	Нет
Кортизона ацетат	Желтая	Желтая	То же	Нет
Гидрокортизон	Интенсивно-желтая с зеленой флуоресценцией	Зеленая	То же	Зеленая
Преднизолон	Красная	Нет	Серый хлопьевидный осадок	Зеленая
Преднизон	Зеленовато-желтая	Зеленовато-желтая	Светло-коричневая	Слабо-желтая
Метилтестостерон	Желтая	Зеленая	Желтовато-оранжевая	Нет
Тестостерона пропионат	Слабо-желтая	Слабо-зеленая	Зеленовато-желтая	Зеленая
Метиландростендиол	Желтовато-оранжевая	Зеленая	Желтовато-оранжевая	Слабо-зеленая
Метандростенолон	Красная	Нет	Опалесценция красная	Нет
Этинилэстрадиол	Оранжево-красная с зеленой флуоресценцией в отраженном свете	Красная	Осадок красный	Нет
Местранол	Вишневая с зеленой флуоресценцией — в отраженном свете	Красная	Хлопьевидный малиновый осадок	Нет

Таблица 6.5

Окраска продуктов реакции стероидов с серной кислотой концентрированной в хлороформе

Лекарственное вещество	После добавления воды		После добавления хлороформа	
	окраска	флуоресценция	окраска нижнего слоя	окраска верхнего слоя
Дезоксикортикостерона ацетат	Фиолетово-красная с флуоресценцией	Голубая	Желтая	Зеленая
Прогестерон	Желтая	Зеленая	Бесцветная	Бесцветная
Прегнин	Малиновая	Зеленая	Светло-оранжевая	Бесцветная

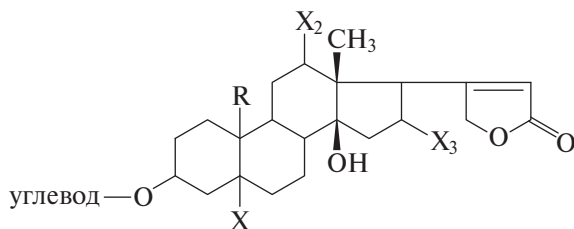
2) 2 мг субстанции (дезоксикортикостерона ацетат, прогестерон, прегнин) растворяют в 2 мл серной кислоты концентрированной. Прибавляют 3 мл воды, встряхивают. Наблюдают окраску и флуоресценцию. После охлаждения раствора прибавляют 3 мл хлороформа, встряхивают. Наблюдают окраску нижнего и верхнего слоев (табл. 6.5).

Реакция Либермана—Бурхарда

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

6.1.9.2. Определение подлинности карденолидов

Карденолиды (гликозиды сердечного действия) по своему химическому строению являются полными ацетальми, образованными при взаимодействии спиртового гидроксила С-3 агликона с полуацетальным гидроксилом углевода (табл. 6.6).



Строение гликозидов

Таблица 6.6

Гликозиды	R	X ₁	X ₂	X ₃
<i>Подгруппа наперстянки</i>				
Дигиланид А (лантозид)	—CH ₃	—H	—H	—H
Дигиланид В	—CH ₃	—H	—H	—ОН
Дигиланид С	—CH ₃	—H	—ОН	—H
<i>Подгруппа строфанта</i>	—C=O	—ОН	—H	—H

В анализе используются физические свойства гликозидов: поглощение в УФ-области спектра, вращение плоскости поляризации. Показатель удельного вращения регламентируется для:

- 1% раствора дигитоксина в хлороформе 16—18°;
- 10% раствора дигоксина 13,6—14,2°;
- 2% раствора целанида 32—35°.

6.1.9.2.1. Реакции на агликон

Для установления подлинности лекарственных веществ этой группы используются реакции, обусловленные наличием агликона и углеводного остатка. Реакции на агликон делятся на две группы:

а) реакции на стероидную часть (с серной кислотой концентрированной, реакция Либермана—Бурхарда) (см. разд. 6.1.9.1);

б) реакции на α - β -ненасыщенное пятичленное лактонное кольцо: реакция Легалья (натрия нитропруссид в щелочной среде); реакции с нитропроизводными ароматического ряда; реакция Бальета (щелочной раствор пикриновой кислоты); реакция Раймонда (щелочной раствор *мета*-динитробензола); реакция Кедде (щелочной раствор 3,5-динитробензойной кислоты) (табл. 6.7).

Таблица 6.7

Реакции на α - β -ненасыщенное пятичленное лактонное кольцо

Реактив (название реакции)	Концентрация гликозида, под- чиняющегося закону Буге- ра—Ламберта— Бера, мкг/мл	Окраска продуктов реакции	Время по- явления интенсив- ной окрас- ки, мин	Темпе- ратура реак- ции, °С	λ_{max} погло- щения про- дуктов ре- акции, нм
Щелочной раствор пи- криновой кислоты (ре- акция Бальета)	1—5	Оранже- во-крас- ная	20	20	490
Щелочной раствор <i>м</i> -динитробензола в 50% спирте (реакция Рай- монда)	1—10	Фиолето- вая	10	0	620
Щелочной раствор нитропруссид натрия в пиридине (реакция Легалья)	1—10	Темно- красная	10	20	610

Реакция Бальета

Методика. К раствору или суспензии 2 мл вещества (дигитоксин, дигоксин) в 1 мл 95% спирта прибавляют 1 мл 2% спиртового раствора пикриновой кислоты и 2 капли раствора натрия гидроксида. Образуется оранжевый осадок.

Реакция Раймонда

Методика. К раствору 2 мг вещества (дигитоксин, дигоксин) в 1 мл 95% спирта прибавляют 1 мл 2% раствора *м*-динитробензола в 95% спирте и 2 капли раствора натрия гидроксида. Появляется фиолетовое окрашивание, которое со временем исчезает.

Реакция Легалья

Методика. К 1—2 мг вещества в 1 мл 95% спирта прибавляют 1 мл натрия нитропруссид и 1—2 капли раствора натрия гидроксида. Появляется красное окрашивание, которое затем исчезает.

6.1.9.2.2. Реакция на углеводы

Идентификацию углеводного компонента проводят с помощью окислительно-восстановительных реакций (серебряного зеркала, с реактивом Фелинга) после кислотного гидролиза и высвобождения полуацетального гидроксила сахара.

Реакция с реактивом Фелинга

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

Реакции на 2,6-дезоксисахара

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 (табл. 6.8).

Таблица 6.8

Реакции, обусловленные наличием сахарного остатка в гликозиде

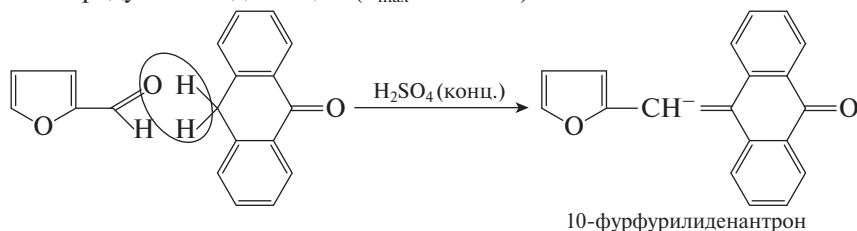
Реактив (название реакции)	Концентрация гликозида, подчиняющегося закону Бугера—Ламберта—Бера, мкг/мл	Окраска продуктов реакции	Время появления интенсивной окраски, мин	Температура реакции, °С	λ_{\max} поглощения продуктов реакции, нм
Раствор железа (III) хлорида в уксусной кислоте с добавлением серной кислоты концентрированной (реакция Келлера—Килиани)	1—6	Желто-зеленая	40	20	470—590
Ксантгидрол в уксусной кислоте ледяной с добавлением хлороводородной кислоты (реакция Пезеца)	0,2—0,8	Красная	120	20	512

Реакция Келлера—Килиани

Методика. 0,002 г вещества (строфантин К, дигитоксин, дигоксин, ацетилдигитоксин) растворяют в 2 мл раствора уксусной кислоты ледяной при нагревании. После охлаждения добавляют 1 каплю раствора железа (III) хлорида и по стенке осторожно вливают в пробирку с 2 мл серной кислоты концентрированной. На границе двух слоев появляется бурое окрашивание. Верхний слой постепенно окрашивается в желто-зеленый или синий цвет.

Реакция Пезеца

При действии концентрированных кислот на углеводы образуются фурфурол или его производные, которые с ксантгидроловым реактивом образуют окрашенные продукты конденсации ($\lambda_{\max} = 512$ нм):



Наблюдения при проведении реакции оформите в виде табл. 6.9.

Таблица 6.9

Реакции на карденолиды

Латинское, русское название; структурная формула	Реакции на агликон				Реакции на сахарный компонент	
	на ненасыщенное пятичленное лактонное кольцо		на стероидный цикл			
	наименова- ние реактива	результат реакции	наименова- ние реактива	результат реакции	наименова- ние реактива	результат реакции

6.1.9.3. Определение подлинности стероидных гормонов

6.1.9.3.1. Установление подлинности по Δ^4 -3-оксогруппе

Поглощение в УФ-области спектра

Все изучаемые природные гормоны и их синтетические аналоги из групп кортикостероидов, гестагенных и андрогенных гормонов имеют в своей структуре Δ^4 -3-оксогруппу, которая придает им свойство селективного поглощения УФ-излучения в области $238\text{—}242\pm 2$ нм. Метод УФ-спектрофотометрии неспецифичен. Более специфично применение УФ-спектрофотометрии в сочетании с хроматографией в тонких слоях сорбента.

Реакции присоединения—элиминирования

Примечание. При взаимодействии с гидроксиламином, семикарбазидом, изониазидом и т. д. вследствие реакции (A_N) присоединения с последующим отщеплением воды образуются оксимы, семикарбазоны, гидразоны. В случае прогестерона образуются дипроизводные (по C_3 и C_{20}).

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

6.1.9.3.2. Реакции, обусловленные наличием α -кетольной группировки

С реактивом Фелинга

Методика. К 1 мл 1% спиртового раствора лекарственного вещества прибавляют 1 мл реактива Фелинга и нагревают на кипящей водяной бане. Образуется красно-оранжевый осадок.

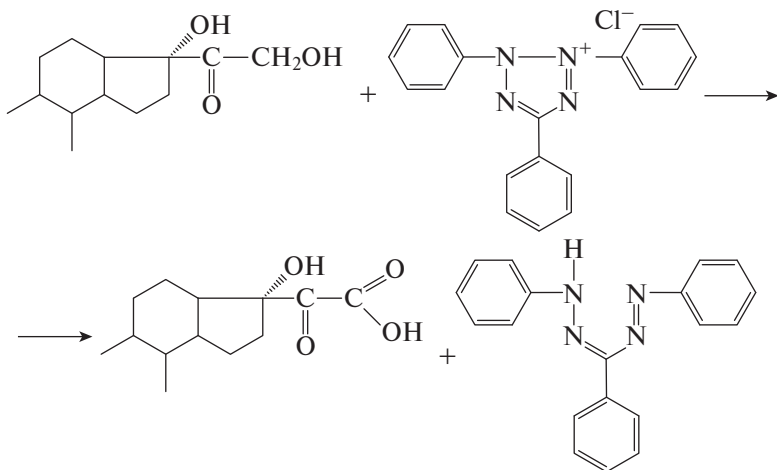
С аммиачным раствором серебра нитрата

Методика. К 1 мл 1% спиртового раствора вещества прибавляют 2 мл аммиачного раствора серебра нитрата, нагревают на кипящей водяной бане в течение 4—5 мин.

Реакция с 2,3,5-трифенилтетразолия хлоридом

Методика. К 5 мл 0,05% спиртового раствора вещества прибавляют 2 мл свежеприготовленного 0,5% спиртового раствора 2,3,5-трифенилтетразолия хлорида.

да и 0,5 мл 0,5 М спиртового раствора натрия гидроксида. Появляется красное окрашивание (красный формазан):



Фотоколориметрический метод количественного определения лекарственных препаратов основан на перечисленных реакциях.

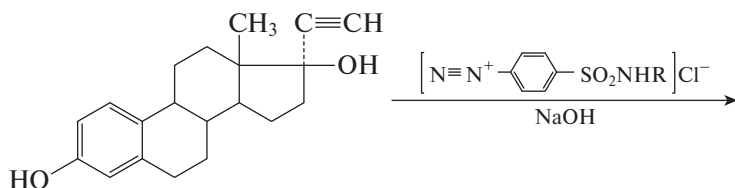
6.1.9.3.3. Реакция, обусловленная сложноэфирной группой (гидроксамовая реакция)

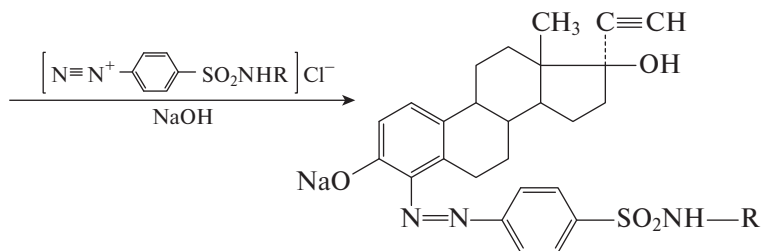
Лекарственные вещества (тестостерона пропионат и др.), содержащие сложноэфирную группу, с гидроксиламином в щелочной среде образуют гидроксамовую кислоту. При добавлении солей тяжелых металлов появляется окрашивание.

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

6.1.9.3.4. Реакции, обусловленные фенольным гидроксилом 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):





Образование азокрасителя

Методика. 5 мг этинилэстрадиола растворяют в смеси 3 мл 10% раствора натрия гидроксида и 2 мл воды, добавляют 2—3 мл свежеприготовленного диазореактива. Образуется красное окрашивание.

Приготовление диазореактива

0,1 г стрептоцида растворяют при нагревании в 2 мл хлороводородной кислоты разведенной и добавляют после охлаждения 2 мл 1% раствора натрия нитрита.

В щелочной среде, когда количество щелочи в азосоставляющей (эстрогенном гормоне) превосходит количество кислоты, взятой для реакции диазотирования, азокраситель имеет вишнево-красную окраску. В нейтральной или слабокислой среде этот продукт представляет собой оранжево-красный осадок.

6.1.9.3.5. Идентификация некоторых стероидных гормонов и карденолидов методом хроматографии в тонком слое сорбента

Методика основана на различии подвижности веществ в определенных системах растворителя при хроматографировании в тонком слое сорбента.

Для анализа лекарственных средств применяют пластинку размером 20×20 см², на которую наносят суспензию 9 г силикагеля и 20 мл воды.

Возможно применение готовых пластинок «Силуфол УФ-254».

Определение стероидных гормонов

На линию старта наносят 0,01 мл 0,1% раствора веществ в 95% спирте. Хроматографируют восходящим методом в следующих системах:

- для кортикостероидов и их аналогов — хлороформ—метанол—вода (88 : 12 : 0,8);
- для эстрогенов и их аналогов — гексан—ацетон (70 : 30);
- для андрогенов, анаболиков, гестагенов и их аналогов — гексан—ацетон (70 : 30).

Фронт растворителя — 13 см. Пластинку вынимают, сушат на воздухе. Для обнаружения исследуемых веществ пластинку просматривают в УФ-свете при длине волны 254 нм или опрыскивают 10% раствором кислоты фосфорно-молибденовой в ацетоне. Хроматограммы нагревают в сушильном шкафу при 110—120 °С в течение 1—2 мин.

Определение карденолидов

На линию старта наносят 0,01 мл 0,1% раствора веществ в смеси 95% этанол—хлороформ (1 : 1). Хроматографируют восходящим методом в системе хло-

роформ—ацетон (1 : 1). Фронт растворителя — 13 см. Пластинку вынимают, сушат на воздухе. Для выявления зон адсорбции пластинку опрыскивают 1% раствором ванилина в 10% растворе хлорной кислоты.

С помощью хроматографии в тонком слое определяют *подлинность* и *доброкачественность* лекарственных средств из-за возможного присутствия в них близких по структуре посторонних примесей — полупродуктов или побочных продуктов синтеза.

6.1.10. Схема анализа неизвестного лекарственного вещества из класса алифатических и алициклических соединений

Для проведения анализа неизвестного лекарственного вещества рекомендуются следующие вещества: формалин, хлоралгидрат, гексаметиленetetрамин, глюкоза, калия ацетат, натрия цитрат, кальция глюконат, аскорбиновая и глутаминовая кислоты, метионин, антибиотики: производные β -лактамидов и аминокликозидов, производные терпенов и циклопентанпергидрофенантрена (сердечные гликозиды, стероидные гормоны и их синтетические аналоги).

На анализ могут быть получены объекты исследования в различных лекарственных формах: порошки (почти все вышеперечисленные лекарственные средства; исключением являются раствор формальдегида — бесцветная прозрачная жидкость и валидол — прозрачная маслянистая жидкость); таблетки (гексаметиленetetрамин, кальция глюконат, аскорбиновая и глутаминовая кислоты, метионин, феноксиметилпенициллин, ампициллина натриевая соль, терпингидрат, некоторые стероидные гормоны); ампулы (гексаметиленetetрамин, аскорбиновая кислота, кальция глюконат, сульфокамфокаин, некоторые производные циклопентанпергидрофенантрена); флаконы с алюминиевыми колпачками (антибиотики).

На основе проведенных испытаний делается предварительное заключение о возможном химическом составе исследуемого объекта, подлинность которого подтверждается в соответствии с требованиями частной статьи ГФ или другой НД.

Физические свойства

Цвет. Исследуемые лекарственные средства данной группы, как правило, белого цвета. Для некоторых Фармакопея допускает оттенок (строфантин К, некоторые стероидные гормоны и их синтетические аналоги — порошки с желтоватым оттенком).

Агрегатное состояние. Большинство исследуемых лекарственных средств — кристаллические порошки. Хлоралгидрат, гексаметиленetetрамин, глюкоза, натрия цитрат, калия ацетат, аскорбиновая и глутаминовая кислоты, метионин, феноксиметилпенициллин, оксациллина и ампициллина натриевые соли, производные стероидных гормонов и их синтетические аналоги имеют мелкокристаллическую структуру; зернистая структура у кальция глюконата; стрептомицина сульфат представляет собой пористую массу; камфора имеет вид прессованных плиток с кристаллической структурой, легко режущихся но-

жом и слипающихся в комки; ментол может быть в виде бесцветных кристаллов. Формалин и валидол — бесцветные растворы.

Запах. Характерный запах имеют хлоралгидрат, калия ацетат, ментол, камфора, формалин, валидол.

Возгонка, окраска пламени. Улетучиваются на воздухе ментол, камфора, хлоралгидрат; возгоняются при нагревании, не обугливаясь, гексаметиленetetрамин, камфора.

Важную информацию об исследуемом соединении может дать окрашивание пламени. Соли натрия (натрия цитрат, бензилпенициллина, оксациллина, ампициллина, цефалотина натриевые соли) окрашивают пламя в желтый цвет; бензилпенициллина калиевая соль и калия ацетат — в фиолетовый; соли кальция (кальция глюконат), смоченные кислотой хлороводородной, — в кирпично-красный.

Растворимость в воде. Исследование растворимости образца в воде проводят по общей статье ГФ «Растворимость». Как правило, растворимые в воде соли *органических кислот и неорганических оснований* (калия ацетат, натрия цитрат, натриевые соли антибиотиков, производных β -лактамидов; исключение — кальция глюконат, который медленно растворим в холодной, но растворим в горячей воде); *соли органических оснований и неорганических кислот* (стрептомицина сульфат); *соли органических кислот и органических оснований* могут существенно различаться по растворимости (сульфокамфокаин легко растворим, бензилпенициллина новокаиновая соль — малорастворима).

Некоторые препараты, не являясь солями, также растворимы в воде (хлоралгидрат, гексаметиленetetрамин, глюкоза, аскорбиновая кислота и др.).

К веществам, *очень мало или практически нерастворимым в воде*, относятся некоторые производные терпенов; сердечных гликозидов; стероидных гормонов и их синтетических аналогов; феноксиметилпенициллин, цефалотин.

Реакция среды. Калия ацетат, натрия цитрат имеют слабощелочную реакцию среды; бензилпенициллина калиевая или натриевая соли, стрептомицина сульфат — нейтральную или слабокислую; гексаметиленetetрамина — слабощелочную (препарат должен изменять цвет лакмуса, но не фенолфталеина).

Химические свойства

Реакции с кислотами и щелочами. После определения растворимости образца в воде исследуют его отношение к кислотам и щелочам. Если вещество нерастворимо в воде, его последовательно растворяют в хлороводородной кислоте разведенной, затем растворе натрия гидроксида. В щелочах растворяются аскорбиновая и глутаминовая кислоты, феноксиметилпенициллин, цефалексин, этинилэстрадиол, что доказывает их кислотные свойства; в кислотах — гексаметиленetetрамин, как однокислотное основание; в кислотах и щелочах — амфолиты: глутаминовая кислота, метионин; ампициллина натриевая соль, цефалексин. При действии на хлоралгидрат щелочью образуется хлороформ — вещество со специфическим запахом.

Затем доказывают кислотные и основные свойства с помощью цветных реакций.

Солекомплексобразование с ионами тяжелых металлов за счет кислотных свойств ендиольной группы (аскорбиновая кислота), карбоксигруппы (глутаминовая кислота, метионин и др.); фенольного гидроксила (эстрогены).

Кислотные свойства доказываются растворением лекарственного вещества в растворах щелочей и образованием окрашенных солекомплексных соединений с ионами тяжелых металлов. Так, глюкоза как многоатомный спирт с ионами меди (II) и эквивалентным количеством щелочи образует комплексное соединение фиолетового цвета.

С ионами тяжелых металлов дают окрашенные солекомплексные соединения соли органических кислот и минеральных оснований (калия ацетат с железа (III) хлоридом — красно-бурое окрашивание, кальция глюконат — светло-зеленое).

Производные α -аминокислот (глутаминовая кислота, метионин и др.) — амфолиты, они растворяются в кислотах и щелочах, а также дают окрашенные комплексные соли с ионами меди (II) — комплексы фиолетового цвета.

Осадительные реакции с общеалкалоидными реактивами характерны для солей, образованных органическим основанием и органической кислотой (бензилпенициллина новокаиновая соль и сульфокамфокаин), которые за счет остатка новокаина дают реакцию с осадочными общеалкалоидными реактивами, например с реактивом Люголя (в результате реакции образуется бурый осадок).

Окислительно-восстановительные реакции. Эти реакции обусловлены соответствующими функциональными группами или структурными фрагментами молекул лекарственных веществ: альдегидной группой (формальдегид, глюкоза, хлоралгидрат, строфантин К, стрептомицина сульфат); ендиольной группой (аскорбиновая кислота), α -кетольной группой (кортикостероиды). Восстанавливающая способность лекарственных веществ алифатического ряда различна, поэтому используются различные реагенты и условия проведения реакций. Общими реактивами являются реактив Толленса, реактив Фелинга. Специфическим окислителем для α -кетольной группы является 2,3,5-трифенилтетразолия хлорид.

Реакции гидролитического разложения и деструкции

Лактамы и сложные эфиры (антибиотики группы пенициллина и цефалоспорины, кортизона ацетат, дезоксикортикостерона ацетат, тестостерона пропионат) подвергаются реакциям гидролитического разложения. Эти реакции используются для идентификации препаратов. Так, при кислотном гидролизе кортизона ацетата, дезоксикортикостерона ацетата выделившуюся уксусную кислоту определяют по запаху или по реакции образования этилацетата.

Реакции нуклеофильного присоединения, электрофильного замещения, конденсации и образование красителей

В качестве реагентов в реакциях конденсации и окисления для лекарственных веществ — производных альдегидов — используют различные фенолы в среде серной кислоты концентрированной (тимол, резорцин, α - и β -нафтолы, хромотроповая кислота).

Для соединений, содержащих фенольный гидроксил, используют реактив Марки.

С ароматическими альдегидами (ванилин, *пара*-диметиламинобензальдегид в серной кислоте концентрированной) дают окрашенные продукты конденсации и окисления производные терпенов, стероидных гормонов и их синтетические аналоги, содержащие активную метиленовую группу. Ментол с ванилином, камфора с фурфуролом в среде серной кислоты концентрированной дают малиновое и синее окрашивание соответственно.

Реакции нуклеофильного присоединения в соединениях, содержащих альдегидную и кетогруппу, используют для идентификации формальдегида, камфоры, бромкамфоры, сульфокамфокаина, некоторых стероидных гормонов и их синтетических аналогов. При взаимодействии с гидроксиламином, семикарбазидом, изониазидом и другими веществами образуются оксимы, семикарбазоны, гидразоны. Оксимы выпадают в осадок, затем определяют температуры плавления; гидразоны окрашены в оранжевый цвет.

Реакции электрофильного замещения характерны для фенолов и ароматических аминов, как сильных *орто*- и *пара*-ориентантов (этинилэстрадиол, бензилпенициллина новокаиновая соль и сульфокамфокаин, содержащие остатки новокаина). Для новокаина (первичная ароматическая аминогруппа) реакцию проводят с раствором натрия нитрита и хлороводородной кислоты разведенной, далее полученную соль диазония сочетают со щелочным раствором β -нафтола с добавлением 0,05 г натрия ацетата. Для этинилэстрадиола (фенольный гидроксил) реакцию образования азокрасителя проводят с солью диазония.

Реакции дегалогенирования и этерификации. Нингидриновая проба. Для бромкамфоры проводят реакцию дегалогенирования. Натрия бромид затем доказывают по реакции окисления хлорамином в среде хлороводородной кислоты разведенной.

Производные α -аминокислот (глутаминовая кислота, метионин и др.) с раствором нингидрина при нагревании дают сине-фиолетовое окрашивание. Такая же реакция наблюдается у некоторых антибиотиков, содержащих в структуре остатки α -аминокислот (ампициллин и цефалексин).

Для таких препаратов, как калия ацетат, и некоторых стероидов характерны реакции образования сложных эфиров. Калия ацетат при нагревании с серной кислотой концентрированной и этанолом образует этилацетат со специфическим запахом, этинилэстрадиол с бензойной кислотой — сложный эфир этинилэстрадиола бензоат (осадок белого цвета с определенной температурой плавления).

Некоторые реакции на производные циклопентанпергидрофенантрена (сердечные гликозиды и их синтетические аналоги)

Проводят ряд реакций на выявление определенных фрагментов структур: а) с серной кислотой концентрированной, которая служит общим, но специфическим реагентом. По окраске продуктов реакции, наличию или отсутствию флуоресценции в УФ-области спектра, изменению окраски после разведения водой или хлороформом можно различить отдельные препараты (см. разд. 6.1.9); б) с различными нитропроизводными в щелочной среде доказывают α - β -ненасыщенное лактонное кольцо сердечных гликозидов.

6.2. Ароматические соединения

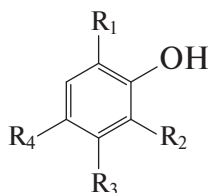
6.2.1. Фенолы, хиноны, ароматические кислоты и их производные

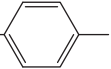
В раздел включены лекарственные вещества группы фенолов (табл. 6.10): антисептические средства — фенол, резорцин; противоглистное средство — тимол; синтетический аналог эстрогенов нестероидной структуры — синэстрол; а также производное нафтохинона, обладающее антигеморрагическим действием, — викасол.

6.2.1.1. Фенол и его производные

Таблица 6.10

Производные фенола



Лекарственное вещество	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
Фенол	—H	—H	—H	—H
Резорцин	—H	—H	—OH	—H
Тимол	—CH—CH ₃ CH ₃	—H	—CH ₃	—H
Синэстрол	—H	—H	—H	—CH=CH—  —OH

Исследуемые лекарственные соединения имеют характерные **спектры** поглощения в УФ-области с максимумом около 280 нм, что обусловлено наличием фенольного гидроксила в структуре соединений (табл. 6.11).

Таблица 6.11

Спектральные характеристики некоторых лекарственных средств

Субстанция	Растворитель	Концентрация, %	λ_{max} , нм
Диэтилстильб-эстрол	95% раствор спирта	0,001	242
	0,1 М раствор натрия гидроксида	0,0006	262
Резорцин	Смесь спирта 95% и воды (1 : 2)	0,003	275
Синэстрол	95% спирт	0,005	280
	0,1 М раствор натрия гидроксида	0,0005	242, 295

Изучаемые соединения белого цвета, но возможны изменения их окраски (прежде всего из-за процессов окисления). Для резорцина, синэстрола, викасола в разделе «Описание» допускаются желтоватые или сероватые оттенки.

Контроль качества лекарственных веществ по цвету проводится также при определении *цветности* для резорцина.

Характерный *запах* тимола, резорцина используется для идентификации, а в некоторых случаях — для выявления примеси. Так, примесь фенола в резорцине определяется по запаху.

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

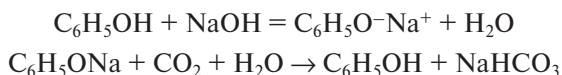
Химические свойства субстанции изучаемой группы обусловлены присутствием фенольного гидроксила.

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

Кислотность фенола и образование солей

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

Поэтому образуются соли при взаимодействии фенолов с растворами щелочей и карбонатами щелочных металлов, но из-за обратимости реакции фенол не взаимодействует с натрия гидрокарбонатом



Реакции с тяжелыми металлами

Характерной качественной реакцией на фенолы является реакция с железом (III) хлоридом.

Различная растворимость субстанций в воде и цвет комплекса используются для дифференцирования соединений данной группы. Так, фенол, резорцин образуют комплексы без нагревания, синэстрол, тимол — в спиртовой среде.

При выполнении данной реакции необходимо контролировать щелочность из-за возможности образования бурого осадка железа (III) гидроксида, который маскирует цвет комплекса. Реакция не проходит и в сильноокислой среде из-за низкой диссоциации гидроксила.

Реакция с железом (III) хлоридом на фенолы

Методика. К 0,01 г субстанции, растворенной в 1 мл воды (для фенола, резорцина), или к 0,1 г субстанции, растворенной в 1 мл 95% спирта (для синэстрола, тимола) добавляют 2 капли раствора железа (III) хлорида — наблюдается характерное окрашивание (табл. 6.12).

С помощью раствора аммиака можно отличить фенол от резорцина. Окрашка комплекса резорцина с железом после добавления реактива изменяется до буровато-желтой.

Реакция с раствором железа (III) хлорида используется для обнаружения примеси фенола в тимоле. Фенол растворяется в воде легче, чем тимол. По методике ГФ цвет комплекса тимола с железом невооруженным глазом не вос-

принимается. При наличии примеси фенола в тех же условиях появляется фиолетовая окраска комплекса.

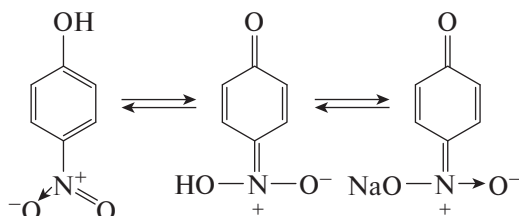
Таблица 6.12

Окраска комплексов субстанции с железа (III) хлоридом

Субстанция	Концентрация растворов	Растворитель	Окраска комплекса
Фенол	0,1 : 40	Вода	Фиолетовая
Резорцин	0,1 : 40	—	Сине-фиолетовая
Тимол	1 : 10	Спирт	Светло-зеленая
Синэстрол	1 : 10	—	Зеленая

Реакции электрофильного замещения

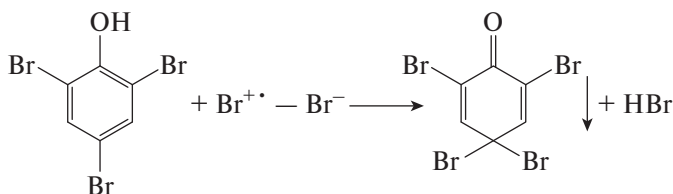
Часто используются в фармацевтическом анализе.

Нитрование

Методика. К 0,001 г субстанции, растворенной в 2 мл воды (синэстрол в 95% спирте), добавляют 1—2 мл азотной кислоты разведенной и нагревают на водяной бане. Постепенно появляется желтое окрашивание.

Бромирование

Если бромирование производных фенола вести бромной водой, то образуется белый осадок 2,4,6-трибромфенола. Избытком бромной воды это соединение бромруется с образованием желтого осадка 2,4,4,6-тетрабромциклогексана-2,5-диенона:

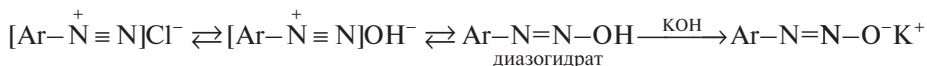


Методика. К 0,001 г субстанции, растворенной в 2 мл воды (синэстрол в 95% спирте), прибавляют по каплям бромную воду. Выпадает белый осадок.

Реакция сочетания фенолов с солью диазония в щелочной среде

При взаимодействии фенолов с солью диазония образуется азокраситель. Сочетание идет в *орто*- и *пара*-положениях по отношению к фенольному гидроксилу в щелочной среде (pH 9,0—10,0). Легче сочетание происходит в *пара*-положении из-за образования длинной цепи сопряженных связей.

В нейтральной среде выпадает осадок азокрасителя красного цвета. При $\text{pH} > 10,0$ реакция азосочетания протекать не будет из-за перехода соли диазония в диазогидрат (в диазотат).



Методика. К 0,05 г лекарственного вещества (фенола, резорцина, тимола, синэстрола), растворенного в 5 мл воды (синэстрол, тимол растворяют в 5 мл 95% спирта), добавляют 2 мл раствора аммиака и 1 мл диазореактива. Наблюдается красное или оранжевое окрашивание.

Приготовление диазореактива

0,1 г стрептоцида растворяют при нагревании в 2 мл хлороводородной кислоты разведенной и добавляют после охлаждения 2 мл 1% раствора натрия нитрита.

Реакции окисления

Присутствие гидроксильной группы, связанной с ядром, резко изменяет отношение ароматического ядра к окислителям. Фенолы окисляются легко, образуя смесь продуктов окисления.

Индофеноловая проба

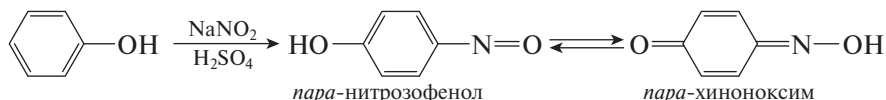
Проба проводится в растворе аммиака при действии такими окислителями, как хлорная известь, хлорамин, бромная вода.

Методика. 0,05 г субстанции 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.

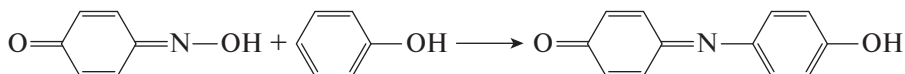
При анализе часто используют реакции электрофильного замещения в сочетании с окислением.

Нитрозирование (нитрозореакция Либермана)

Реакция нитрозирования является разновидностью индофеноловой реакции:



Хиноноксим взаимодействует с избыточным количеством фенола, с образованием индофенола:



Индофенол — амфотерное соединение, способное образовывать хорошо диссоциируемые окрашенные соли как с кислотой, так и с основанием. Окраска индофенола также зависит от заместителей и количества фенольных гидроксильных групп.

Реакция используется для дифференциации лекарственных соединений данной группы.

Методика. 0,01 г субстанции помещают на предметное стекло, смачивают 2—3 каплями 1% раствора натрия нитрита в серной кислоте концентрированной. Наблюдается окрашивание, изменяющееся при добавлении раствора щелочи (табл. 6.13).

Окраска индофенолов

Таблица 6.13

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

Реакции с формальдегидом и серной кислотой концентрированной

При взаимодействии фенолов с реактивом Марки образуется окрашенный арилметановый краситель.

Методика

1) 10 мг субстанции помещают на часовое или предметное стекло и добавляют 3 капли реактива Марки. При стоянии появляется красное окрашивание.

2) 1—2 мг синэстрола растворяют при нагревании в 4 мл хлороформа, прибавляют 2 мл реактива Марки и взбалтывают. Слой хлороформа окрашивается в вишнево-красный цвет.

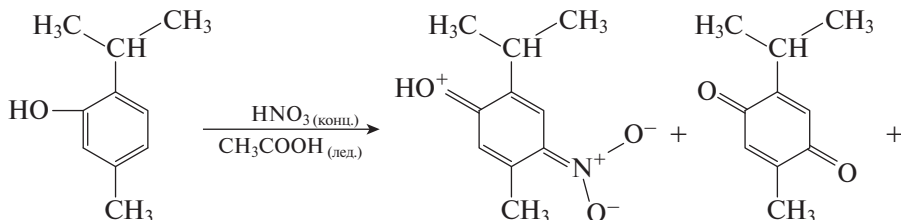
Добавление органического растворителя повышает специфичность реакции.

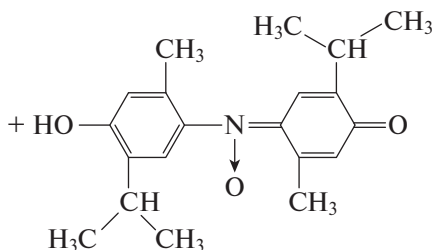
Примечание. Вместо раствора формальдегида в серной кислоте концентрированной можно использовать несколько миллиграммов гексаметилентетрамина и несколько капель серной кислоты концентрированной.

Частные реакции

Реакция тимола с азотной кислотой концентрированной

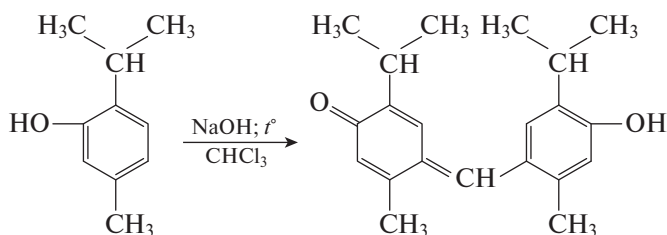
Методика. 5 мг тимола растворяют в 1 мл уксусной кислоты ледяной, прибавляют 6 капель серной кислоты концентрированной и 1 каплю азотной кислоты концентрированной. В отраженном свете наблюдается сине-зеленое окрашивание, в проходящем свете — темно-красное:





Реакция тимола с хлороформом

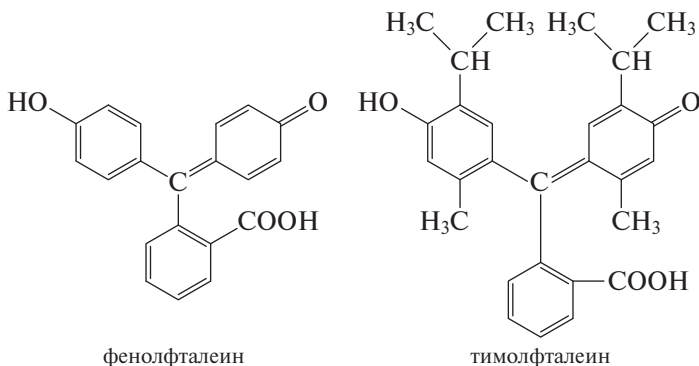
Методика. 0,2 г тимола нагревают на водяной бане с 1 мл раствора натрия гидроксида. Со временем появляется желтовато-розовое окрашивание. К подогретому раствору прибавляют 2—3 капли хлороформа и взбалтывают. Появляется красно-фиолетовое окрашивание:



Реакция резорцина с фталевым ангидридом

Методика. 0,01 г резорцина сплавляют в фарфоровом тигле с избытком фталевого ангидрида в присутствии нескольких капель серной кислоты концентрированной. К полученному сплаву желто-красного цвета после охлаждения приливают разведенный раствор щелочи. Появляется интенсивная зеленая флуоресценция образующегося в результате реакции флуоресцеина.

Фталевый ангидрид вступает в реакцию конденсации и с фенолом, при этом образуется фенолфталеин, имеющий в щелочной среде пурпурную окраску:



С тимолом образуется тимолфталеин, окрашенный в щелочной среде в синий цвет. Реакции с фенолом и тимолом протекают в более «жестких» условиях.

Производные фенолов конденсируются не только с лактонами (например, фталевый ангидрид), но и с лактамами (например, лактам глутаминовой кислоты). Образующиеся при этом продукты не имеют характерной окраски и не применяются в анализе лекарственных веществ.

6.2.1.2. Хиноны (викасол)

Основным химическим свойством *викасола* является взаимодействие со щелочью. На этой реакции основаны качественное и количественное определение, требования к чистоте, стабилизация и хранение.

Реакция заключается в действии щелочи на натрия бисульфит, производным которого является викасол. Образуется натрия сульфит и желтый осадок 2-метил-1,4-нафтохинона. С помощью данной реакции подтверждается подлинность викасола. Образовавшийся в результате реакции осадок извлекают хлороформом, очищают от примесей и устанавливают температуру плавления полученного 2-метил-1,4-нафтохинона (104—107 °C).

Взаимодействие со щелочью

Методика. К 5 мл 1% раствора викасола прибавляют 1 мл раствора натрия гидроксида; выпадает хлопьевидный осадок желтого цвета.

Остаток натрия сульфоната открывают с помощью реакции на ион натрия (по окрашиванию бесцветного пламени в желтый цвет) и по выделению сернистого газа при действии серной кислоты концентрированной.

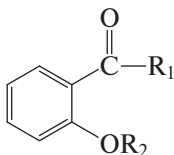
Взаимодействие с кислотой

Методика. К 5 мл раствора викасола (1 : 50) прибавляют 2 мл серной кислоты концентрированной. Ощущается запах сернистого газа.

Примечание. Неустойчивость викасола в щелочной среде определяет требование ГФ к прозрачности и цветности при испытаниях на чистоту. Это обусловлено тем, что продукт разложения 2-метил-1,4-нафтохинон, в отличие от викасола, нерастворим в воде и окрашен.

При испытании на чистоту регламентируется также содержание натрия бисульфита — исходного продукта синтеза, который определяется количественно йодометрическим методом.

6.2.1.3. Ароматические кислоты и их производные



Производные салициловой кислоты см. в табл. 6.14.

Спектрофотометрия в УФ-области используется в испытаниях на подлинность и в некоторых случаях на чистоту лекарственных веществ (табл. 6.15).

Таблица 6.14

Производные салициловой кислоты

Субстанции	R ₁	R ₂
Ацетилсалициловая кислота	—ОН	$\text{—C} \begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{CH}_3 \end{array}$
Салициловая кислота	—ОН	—Н
Натрия салицилат	—ONa	—Н
Оксафенамид	—NH—C ₆ H ₄ —ОН	—Н

Таблица 6.15

Спектральные характеристики некоторых лекарственных средств

Субстанция	Растворитель	Концентрация, %	λ_{max} , нм
Салициловая кислота	0,5 М раствор серной кислоты	0,001	235, 300
Ацетилсалициловая кислота	Хлороформ	0,007	278
	0,1 М раствор серной кислоты	0,001	228, 276

Содержание салициловой кислоты в ацетилсалициловой кислоте определяется спектрофотометрически по реакции комплексообразования с железом-аммонийными квасцами.

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

Данные лекарственные средства полифункциональны, химические свойства обусловлены присутствием фенольного гидроксильного, карбоксильной группы, сложноэфирной группы (ацетилсалициловой кислоты), амидной группы (оксафенамида).

Применение общих типов реакций и их сочетание, использование различных реактивов и растворителей позволяют идентифицировать и дифференцировать лекарственные вещества.

Кислотность ароматических кислот и образование солей

Ароматические кислоты сильнее кислот жирного ряда.

Водные или спирто-водные растворы ароматических кислот имеют кислую реакцию, что можно обнаружить по индикатору.

Соединения с карбоксильной группой, в отличие от фенолов, растворяются в растворах гидрокарбонатов щелочных металлов с образованием растворимых солей.

Проведите сравнительное исследование лекарственных средств по растворимости в щелочах, натрия гидрокарбонате, кислотах.

Проведите наблюдение за возможными изменениями при добавлении к водным растворам субстанций щелочи и кислоты.

Данные оформите в виде таблицы.

Реакция с железом (III) хлоридом на бензоат-ион

Методика. 0,02 г натрия бензоата растворяют в 1,5 мл воды (0,02 г бензойной кислоты в 1,5 мл 0,1 М раствора натрия гидроксида) и добавляют 1—2 капли железа (III) хлорида. Образуется розовато-желтый осадок.

Реакция с железа (III) хлоридом на салицилат-ион

В зависимости от соотношения реактива и лекарственного вещества, а также от pH среды салицилат-ион образует с железа (III) хлоридом различно окрашенные комплексные ионы (табл. 6.16).

Таблица 6.16

Окраска комплексов препаратов с железа (III) хлоридом

Препарат	Концентрация растворов	Растворитель	Дополнительные условия	Окраска комплекса
Бензойная кислота	0,1 : 10	Вода	Щелочь	Розово-желтый осадок
Салициловая кислота	0,1 : 10	Вода	Нагрев	Фиолетовая
Натрия бензоат	0,01 : 10	Вода	Нет	Розово-желтый осадок
Натрия салицилат	0,01 : 10	Вода	Нет	Красно-фиолетовая
			Аммиак	Желтая
Салициламид	0,1 : 10	Вода	Нагрев	Красно-фиолетовая
Оксафенамид	0,01 : 10	Спирт — вода	Нет	Красно-фиолетовая

При pH 2,0—3,0 образуется окрашенный в фиолетовый цвет моносалицилат, который разрушается при pH 1,0 и ниже (при добавлении уксусной кислоты окраска сохраняется, а при добавлении хлороводородной кислоты происходит обесцвечивание и выпадает белый осадок салициловой кислоты).

Методика

1) 0,14 г салициловой кислоты растворяют в 1 мл 4% раствора натрия гидроксида и прибавляют 5 мл воды и 1—2 капли раствора железа (III) хлорида. Появляется интенсивное красно-фиолетовое окрашивание, которое сохраняется при добавлении небольшого количества уксусной кислоты разведенной, но исчезает при добавлении разведенной хлороводородной кислоты с образованием белого кристаллического осадка.

При pH = 3,0—8,0 образуется дисалицилат красного цвета (см. табл. 6.16).

2) 0,5 г натрия салицилата растворяют в 10 мл воды и прибавляют 4 капли раствора железа (III) хлорида; наблюдается красное окрашивание.

При pH = 8,0—10,0 образуется трисалицилат желтого цвета.

3) 1 г натрия салицилата растворяют в 10 мл воды, прибавляют 1 каплю раствора железа (III) хлорида и 1 каплю раствора аммиака. Появляется желтое окрашивание.

Примесь свободной салициловой кислоты в ацетилсалициловой кислоте определяется по образованию окрашенного комплекса с ионами железа (III).

Содержимое пробирок с комплексом натрия бензоата и натрия салицилата разделить на три части: первую пробирку оставить без изменений; во вторую добавить 2 капли уксусной кислоты; в третью — хлороводородную кислоту разведенную. Проведите наблюдения за изменениями. Сделайте выводы об устойчивости фенолов и карбоновых кислот.

Реакции с меди сульфатом

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 позволяет идентифицировать соединения в смеси.

Методика

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.

Реакция с серебра нитратом

Методика. 0,05 г натрия бензоата (натрия салицилата) растворяют в 2 мл воды и прибавляют 1—2 капли раствора серебра нитрата. Появляется белый осадок.

Реакция выделения нерастворимой ароматической кислоты из натрия бензоата и салицилата

При действии на 10% водный раствор натриевой соли бензойной (салициловой) кислоты хлороводородной кислотой выделяется нерастворимая в воде бензойная (салициловая) кислота в виде белого осадка. Выделившуюся кислоту можно характеризовать по температуре плавления.

Образование простых и сложных эфиров

Реакции образования простых и сложных эфиров характерны для данной группы. Реакции используются в синтезе кислоты ацетилсалициловой, в контроле качества. Образовавшиеся сложные эфиры идентифицируют по характерной температуре плавления. Реакция может быть использована для количественного определения (синэстрол).

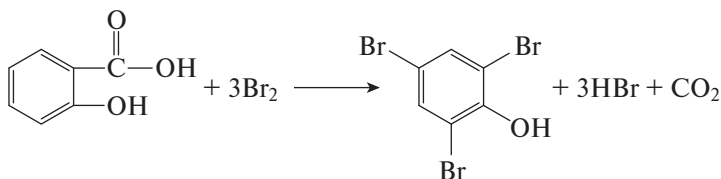
Методика. К 0,25 г субстанции синэстрола добавляют 1 мл уксусного ангидрида и 2 мл безводного пиридина. Кипятят с обратным холодильником в течение 15 мин, охлаждают, добавляют 50 мл воды и тщательно встряхивают. Осадок отфильтровывают.

Частные реакции

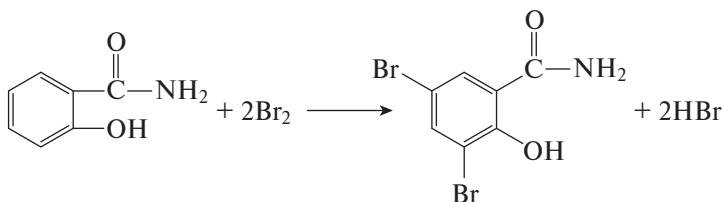
Реакции электрофильного замещения на салициловую кислоту

Бромирование

При действии брома на салициловую кислоту происходит декарбоксилирование и выделяется белый осадок трибромфенола:



Салициламид при бромировании образует белый осадок 3,5-дибромсалициламида:



Методика. 0,05 г лекарственного средства растворяют в 2 мл воды (син-эстрол, салициловая кислота, салициламид), прибавляют по каплям бромную воду. Выпадает белый осадок.

Реакции сочетания с солью диазония

Методика. 0,05 г салициловой кислоты растворяют в 1 мл 4% раствора натрия гидроксида, добавляют 1 мл диазореактива. Появляется желтое, переходящее в розовое окрашивание. При добавлении 0,5 г натрия ацетата образуется желтый осадок.

Приготовление диазореактива (см. разд. 6.1.9.3.4).

Реакции окисления

Салициловая, ацетилсалициловая кислоты окисляются, так как являются производными фенола. Пример реакции окисления — индофеноловая проба.

Индофеноловая проба

Методика. 0,05 г исследуемого вещества растворяют в 0,5 мл раствора аммиака и добавляют 3—4 капли раствора хлорамина. Нагревают смесь на кипящей водяной бане. Через несколько минут наблюдается окрашивание, изменяющееся от добавления кислот.

Реакции с формальдегидом и серной кислотой концентрированной

Методика. 10 мг субстанции помещают на часовое стекло или предметное стекло и добавляют 3 капли реактива Марки. При стоянии появляется красное окрашивание.

Реакции гидролитического расщепления

Амиды и сложные эфиры салициловой кислоты подвергаются реакциям гидролитического расщепления. Эти реакции используются для идентификации препаратов по продуктам их гидролиза и для количественного определения.

Щелочной гидролиз

Ацетилсалициловую кислоту гидролизуют раствором натрия гидроксида при нагревании. После охлаждения подкисляют серной кислотой разведенной, выделяется белый кристаллический осадок салициловой кислоты. Лекарственные вещества можно различать по запаху некоторых продуктов гидролиза: при гидролизе ацетилсалициловой кислоты ощущается запах уксусной кислоты. Уксусную кислоту можно обнаружить также по образованию уксусноэтилового эфира, обладающего характерным запахом.

Салициловую кислоту определяют с помощью железа (III) хлорида по фиолетовому окрашиванию.

Методика. 0,5 г ацетилсалициловой кислоты кипятят в течение 3 мин с 5 мл раствора натрия гидроксида, затем охлаждают и подкисляют серной кислотой разведенной; выделяется белый кристаллический осадок, и ощущается запах уксусной кислоты (ацетилсалициловая кислота). Раствор сливают в другую пробирку и добавляют к нему 2 мл 95% спирта и 2 мл серной кислоты концентрированной; раствор имеет запах уксусноэтилового эфира. К осадку добавляют 1—2 капли раствора железа (III) хлорида. Появляется фиолетовое окрашивание.

Кислотный гидролиз

При гидролизе этих лекарственных веществ ощущается запах уксусной кислоты (ацетилсалициловая кислота). Салициловую кислоту определяют, добавляя формалин, — появляется розовое окрашивание (арилметановый краситель).

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

Гидролиз под действием воды

Методика. 0,01—0,02 г ацетилсалициловой кислоты кипятят с 2 мл воды несколько секунд, охлаждают и добавляют 1 каплю раствора железа (III) хлорида — появляется фиолетовое окрашивание.

Реакции на катионы

Определение натрия в натрия бензоате, натрия салицилате

Соль натрия, внесенная в бесцветное пламя, окрашивает его в желтый цвет.

Анализ экстремпоральных лекарственных форм, содержащих ароматические кислоты

ПРОПИСЬ 1¹

Натрия салицилата
натрия бензоата по 2,0;
воды очищенной 100,0.

Подлинность

Ион натрия. Определяют по окрашиванию пламени в желтый цвет.

Салицилат- и бензоат-ионы.

а) На фильтровальную бумагу наносят каплю раствора железа (III) хлорида, затем в центр полученного пятна помещают каплю с исследуемым раствором. Образуется пятно розовато-желтого цвета (бензоат-ион), окаймленное кольцом фиолетового цвета (салицилат-ион).

б) С меди сульфатом: в пробирку вносят 1—2 мл анализируемой смеси, прибавляют 3—4 капли раствора меди сульфата, 1 мл хлороформа и встряхивают. Водный слой окрашивается.

¹ См. Максютин Н. П. и др. Методы анализа лекарств. — Киев: Здоровье, 1984. — С. 160.

Количественное определение*Определение суммы ингредиентов*

К 1 мл смеси добавляют 4 мл эфира, 3 капли метилового оранжевого. Титруют 0,1 М раствором хлороводородной кислоты до красного окрашивания.

1 мл 0,1 М раствора хлороводородной кислоты соответствует 0,0160 г натрия салицилата и 0,0144 г натрия бензоата.

Определение натрия салицилата

В плоскодонную колбу помещают 1 мл смеси, 10 мл 0,0167 М раствора калия бромата, 1,0 г калия бромида, подкисляют 1 мл 50% раствора серной кислоты. Перемешивают и оставляют на 15 мин.

После этого к смеси добавляют 10—15 мл 10% раствора калия йодида, взбалтывают, оставляют на 15 мин. Выделившийся йод титруют 0,1 М раствором натрия тиосульфата (индикатор — крахмал).

1 мл 0,0167 М раствора калия бромата соответствует 0,002667 г натрия салицилата.

ПРОПИСЬ 2¹

Раствора цинка сульфата 0,3% — 10 мл;

новокаина гидрохлорида 0,1;

борной кислоты 0,2.

Подлинность

Новокаина гидрохлорид. К нескольким каплям раствора прибавляют по 3—4 капли хлороводородной кислоты разведенной и раствора натрия нитрита, перемешивают и прибавляют 15—20 капель щелочного раствора β-нафтола, появляется оранжево-красное окрашивание.

Цинка сульфат. Для определения иона цинка к 1—2 каплям раствора прибавляют 2 капли раствора калия гексацианоферрата (II), образуется белый студенистый осадок.

Сульфат-ион с раствором бария хлорида образует белый осадок.

Кислота борная. 5 капель лекарственной смеси выпаривают досуха, прибавляют 15—20 капель спирта и поджигают, пламя окрашивается в зеленый цвет.

Количественное определение

Новокаина гидрохлорид. К 1 мл раствора прибавляют 2 капли раствора бромфенолового синего и по каплям уксусную кислоту разведенную до зеленовато-желтого окрашивания. Титруют 0,1 М раствором серебра нитрата до фиолетового окрашивания.

1 мл 0,1 М раствора серебра нитрата соответствует 0,02728 г новокаина гидрохлорида.

Цинка сульфат. К 1 мл смеси прибавляют 2—3 мл воды, 3—5 мл аммиачного буферного раствора, 5—6 капель раствора кислотного хром черного и титруют из полумикробюретки 0,01 М раствором трилона Б до синего окрашивания.

1 мл 0,01 М раствора трилона Б соответствует 0,002876 г цинка сульфата.

¹ Там же. С. 182.

Кислота борная. К 1 мл анализируемого раствора прибавляют 5—6 капель калия гексацианоферрата (II) для осаждения цинка сульфата, 5—6 мл глицерина, нейтрализованного по фенолфталеину, и титруют сумму новокаина гидрохлорида с борной кислотой 0,1 М раствором натрия гидроксида до розового окрашивания.

1 мл 0,1 М раствора натрия гидроксида соответствует 0,006183 г кислоты борной.

ПРОПИСЬ 3¹

Ацетилсалициловой кислоты 0,3;

аскорбиновой кислоты 0,1;

кальция лактата 0,2.

Подлинность

Кислота ацетилсалициловая. К 0,02—0,03 г смеси прибавляют 3—4 капли реактива Марки и слегка нагревают. Появляется красное окрашивание.

Кислота аскорбиновая. К 0,03 г смеси добавляют 1 мл воды и 1—2 капли раствора серебра нитрата. Выпадает темный осадок.

Лактат-ион. К 0,03—0,05 г порошка прибавляют 1—2 мл воды, 3—4 капли серной кислоты разведенной, по каплям калия перманганата до фиолетового окрашивания жидкости и нагревают. Образуется ацетальдегид, который обнаруживают по почернению бумажки, смоченной реактивом Несслера.

Ион кальция. К 0,05 г смеси добавляют 1 мл воды, 1—2 капли полученного раствора помещают на предметное стекло, прибавляют 1—2 капли раствора аммония оксалата. Образуется белый осадок, который нерастворим в уксусной кислоте и растворим в хлороводородной кислоте.

Количественное определение

Определение суммы аскорбиновой кислоты и ацетилсалициловой кислоты. 0,1 г порошка взбалтывают с 5 мл нейтрализованного по фенолфталеину спирта и титруют 0,1 М раствором натрия гидроксида. Индикатор: 2—3 капли фенолфталеина.

1 мл 0,1 М раствора натрия гидроксида соответствует 0,01802 г ацетилсалициловой кислоты и 0,0176 г аскорбиновой кислоты.

Определение аскорбиновой кислоты. К оттитрованной жидкости прибавляют 1 мл крахмала и титруют 0,05 М раствором йода до синего окрашивания.

1 мл 0,05 М раствора йода соответствует 0,0088 г аскорбиновой кислоты.

Определение кальция лактата. Помещают 0,2 г лекарственной формы в колбу, прибавляют 10 мл аммиачного буфера, 0,02 г индикаторной смеси кислотного хром темно-синего. Затем титруют 0,05 М раствором трилона Б до синефиолетового окрашивания.

1 мл 0,05 М раствора трилона Б соответствует 0,01542 г кальция лактата.

6.2.2. Тетрациклины

Тетрациклины — амфотерные соединения. Диметиламиногруппа обладает основными свойствами, и поэтому тетрациклины образуют соли с органически-

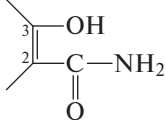
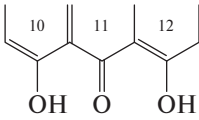
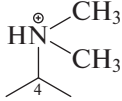
¹ Там же. С. 168.

ми и неорганическими кислотами (соли непрочные, легко гидролизуются). За счет енольных и фенольных гидроксильных групп они проявляют кислотные свойства и могут образовывать растворимые соли с гидроксидами щелочных металлов. Тетрациклины образуют также нерастворимые окрашенные хелатные комплексы с поливалентными катионами (табл. 6.17).

Для идентификации тетрациклинов применяется реакция образования окрашенных фенолятов и енолятов железа (III). Кроме того, можно провести ряд реакций на фенольный гидроксил, например реакцию образования азокрасителя.

Тетрациклины вследствие наличия алициклической структуры колец А, В и С их молекулы, а также фенольного гидроксильного неустойчивы к действию щелочей, карбонатов щелочных металлов, сильных минеральных кислот ($\text{pH} < 2,0$), света и влаги. В процессе хранения могут образовываться неактивные или токсичные продукты (4-эпитетрациклины, ангидротетрациклины, 4-эпиангидротетрациклины), которые необходимо учитывать при оценке качества препаратов.

Таблица 6.17
 pK_a различных структурных элементов тетрациклина и окситетрациклина

Структурный элемент	Значения pK_a	
	тетрациклина	окситетрациклина
	3,3	3,5
	7,7	7,6
	9,7	9,2

Эти примеси можно обнаружить методом тонкослойной хроматографии с применением соответствующих стандартных образцов. Ангидропроизводные, кроме того, определяют по поглощению света при длине волны 437 нм.

В щелочной среде протекает изомеризация тетрациклинов с образованием окрашенных в желтый цвет флуоресцирующих продуктов. Эта реакция используется для идентификации и спектрофотометрического количественного определения тетрациклинов ($\lambda_{\text{max}} = 380$ нм).

В сильноокислой среде, например при действии хлороводородной кислоты концентрированной, тетрациклины превращаются в ангидротетрациклины, которые имеют темно-желтую окраску ($\lambda_{\text{max}} = 437$ нм) и желтую флуоресценцию в УФ-свете. Это испытание также используется для идентификации данной группы препаратов (общая реакция).

Для отличия тетрациклина от окситетрациклина проводят реакцию с серной кислотой концентрированной. На первой стадии образуется ангидротетрациклин, а затем происходит реакция окисления с образованием окрашенных в различные цвет продуктов.

Реакция с серной кислотой концентрированной

Методика. К 1—2 мг субстанции прибавляют 2 мл серной кислоты концентрированной: тетрациклин дает фиолетовую окраску, окситетрациклин — вишнево-красную.

Реакция изомеризации под действием натрия гидроксида

При действии на тетрациклин раствором натрия гидроксида происходит изомеризация молекулы тетрациклина с образованием изотетрациклина, что сопровождается появлением более интенсивного желтого окрашивания по сравнению с окраской тетрациклина и голубой флуоресценции в УФ-свете после нагревания.

Методика. 0,01 г субстанции (тетрациклина, окситетрациклина) растворяют в 2 мл 10% раствора натрия гидроксида; появляется коричнево-желтое окрашивание; нагревают на кипящей водяной бане в течение 1—2 мин — появляется синяя флуоресценция, наблюдаемая в УФ-свете.

Реакция с железа (III) хлоридом

Методика. К 0,01 г субстанции прибавляют 2 капли 3% раствора железа (III) хлорида и 10 мл воды; появляется буро-красное окрашивание.

Реакция образования азокрасителя

Методика. 0,01 г субстанции (тетрациклин, окситетрациклин) растворяют в 2 мл 10% раствора натрия гидроксида и прибавляют 1—2 мл раствора соли диазотия (приготовление — см. разд. 6.1.10). Появляется красное окрашивание.

Реакция образования ангидротетрациклина с хлороводородной кислотой концентрированной

Методика. 0,005—0,01 г субстанции растворяют в 2 мл хлороводородной кислоты концентрированной и нагревают на кипящей водяной бане в течение 2—3 мин. Тетрациклин дает желтую окраску и желто-зеленую флуоресценцию, окситетрациклин — оранжево-красную окраску и желто-зеленую флуоресценцию, наблюдаемую в УФ-свете.

6.2.3. Производные пара-аминофенола

К данной группе соединений относится *парацетамол*. Это лекарственное вещество поглощает свет в УФ-области: 0,005% раствор парацетамола в метаноле имеет максимум при 249 нм, что используется для идентификации.

Химические свойства парацетамола обусловлены наличием остатков *пара*-аминофенола (способность окисляться) и ацетанилида (гидролитическое расщепление с последующим доказательством продуктов гидролиза — уксусной кислоты и первичного ароматического амина).

Кислотные свойства

Реакция комплексообразования с железа (III) хлоридом

0,1 г субстанции взбалтывают с 10 мл воды и прибавляют несколько капель раствора железа (III) хлорида; появляется сине-фиолетовое окрашивание.

Реакции окисления

Окисление калия дихроматом

При кипячении с хлороводородной кислотой разведенной парацетамол подвергается гидролитическому расщеплению с образованием уксусной кислоты и *пара*-аминофенола. Последний окисляется калия дихроматом в хинонин, который далее вступает во взаимодействие с непрореагировавшим *пара*-аминофенолом. В результате реакции образуется индофеноловый краситель фиолетового цвета.

Методика. 0,1 г субстанции кипятят с 2 мл хлороводородной кислоты разведенной в течение 1 мин, прибавляют 10 мл воды, охлаждают и прибавляют 1 каплю раствора калия дихромата. Появляется фиолетовое окрашивание, не переходящее в красное.

Реакция окисления слабыми окислителями (без предварительного гидролиза). Реакция с серебра нитратом

Наличие фенольного гидроксила обуславливает восстановительные свойства парацетамола: он восстанавливает металлическое серебро из аммиачного раствора серебра нитрата.

Методика. К 1 мл 1% раствора парацетамола в 95% спирте прибавляют 1 каплю аммиачного раствора серебра нитрата (смешивают 0,1 М раствор серебра нитрата с 5 М раствором аммиака в соотношении 1 : 1) и нагревают; появляется серый осадок серебра.

Реакции конденсации и окисления. Реакция с реактивом Марки

Методика. К 5—10 мг субстанции прибавляют 3—5 капель свежеприготовленного реактива Марки (1 капля формалина в 1 мл серной кислоты концентрированной). Парацетамол дает буро-красное окрашивание.

Реакция гидролитического расщепления

При кислотном гидролизе парацетамола образуется уксусная кислота, которая может быть обнаружена по запаху, *пара*-аминофенол можно идентифицировать по реакции образования азокрасителя.

Методика. 0,1 г субстанции осторожно кипятят с 2 мл серной кислотой разведенной в течение 2 мин; ощущается запах уксусной кислоты.

Реакция образования азокрасителя после кислотного гидролиза

Методика. 0,02—0,03 г парацетамола кипятят 2—3 мин с 2—3 мл хлороводородной кислоты разведенной, охлаждают и прибавляют 2—3 капли раствора натрия нитрита; полученный раствор добавляют по каплям к 2 мл щелочного раствора β -нафтола до появления красного окрашивания.

Реакция замещения (без предварительного гидролиза). Реакция образования азокрасителя

Методика. 0,1 г парацетамола взбалтывают с 2 мл воды и прибавляют 1 мл раствора натрия гидроксида. Затем прибавляют 3 мл свежеприготовленного диазореактива; появляется красное окрашивание.

Приготовление диазореактива (см. разд. 6.1.9.3.4).

6.2.4. Ароматические аминокислоты и их производные

К данной группе относятся производные *пара*-аминобензойной кислоты — анестезин и новокаина гидрохлорид (местные анестетики), производные *пара*-аминосалициловой кислоты — натрия *пара*-аминосалицилат (противотуберкулезное средство), а также производные *орто*-замещенного амина — натрия диклофенак (противовоспалительное средство).

Химические свойства и реакции подлинности производных ароматических аминокислот обусловлены соответствующими функциональными группами: первичной ароматической аминогруппой (анестезин, новокаина гидрохлорид, натрия *пара*-аминосалицилат), сложноэфирной группой (анестезин, новокаина гидрохлорид), остатком салициловой кислоты (натрия *пара*-аминосалицилат), карбоксильной группой, вторичной ароматической аминогруппой и остатком дифениламина (натрия диклофенак), ионами натрия (натрия *пара*-аминосалицилат), хлорид-ионом (новокаина гидрохлорид).

Для идентификации исследуемых лекарственных средств используют УФ-спектры (табл. 6.18).

Таблица 6.18

Спектральные характеристики некоторых лекарственных средств

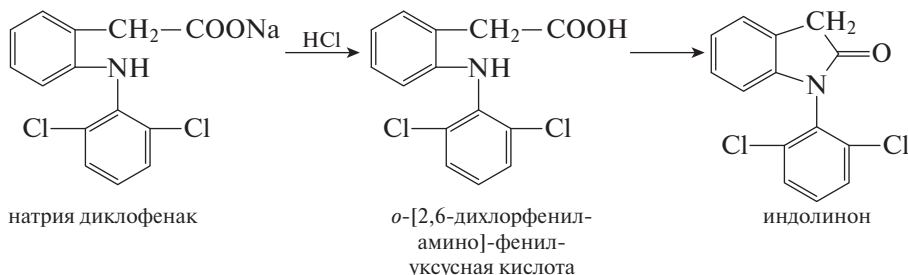
Субстанция	Растворитель	Концентрация, %	λ_{max} , нм
Натрия <i>пара</i> -аминосалицилат	Вода	0,001	265, 299
Натрия диклофенак	Смесь: 0,1 М раствор NaOH, 95% спирт и вода (1 : 2 : 6)	0,0015	276
Новокаина гидрохлорид	Вода	0,001	290
Новокаионамид	0,1 М раствор NaOH	0,0015	272

Реакции, основанные на кислотно-основных свойствах

За счет ароматической аминогруппы препараты взаимодействуют с кислотами с образованием солей, но соли неустойчивы, легко гидролизуются. Новокаина гидрохлорид, новокаионамид, дикаин кроме ароматической аминогруппы содержат третичный азот в алифатической цепи, который реагирует с кислотами. Такая соль устойчива, но при действии щелочи слабое органическое основание вытесняется из этой соли.

При добавлении к водному раствору натриевых солей производных ароматических аминокислот (натрия *пара*-аминосалицилата и натрия диклофенака) неорганических кислот (например, хлороводородной) происходит выделение белых осадков кислот (*пара*-аминосалициловой или *о*-[2,6-дихлорфенил-

амино]-фенилуксусной). Из ортофена наряду с кислотной формой образуется индолинон:



Реакция диклофенака с кислотой

Методика. 0,02 г натрия диклофенака растворяют в 2 мл воды и прибавляют 1 мл хлороводородной кислоты разведенной; выпадает белый осадок.

para-Аминосалициловая кислота, кислотная форма натрия диклофенака — амфотерные соединения, кроме основного центра имеют кислотный центр — карбоксигруппу. Перечисленные соединения образуют соли с щелочами (диклофенака натриевая соль) и с солями тяжелых металлов.

Реакция на натрия *para*-аминосалицилат с железа (III) хлоридом

Водный раствор (2%) натрия *para*-аминосалицилата имеет pH = 6,5—8,5, с железа (III) хлоридом при заданном значении pH образуется комплексная соль коричнево-красного цвета. Если раствор предварительно подкислить, то образуется комплексная соль красно-фиолетового цвета. Эта реакция служит и для открытия токсичной примеси 5-аминосалициловой кислоты, которая с железа (III) хлоридом образует комплекс такого же цвета, как и натрия *para*-аминосалицилат, причем окраска комплекса с *para*-аминосалицилатом не изменяется, а комплекс с 5-аминосалициловой кислотой со временем изменяет растворимость и выпадает коричневый осадок.

Методика. 0,01 г субстанции растворяют в 10 мл воды, подкисляют 2—3 каплями хлороводородной кислоты разведенной и прибавляют 2—3 капли железа (III) хлорида, жидкость окрашивается в фиолетово-красный цвет. Полученный раствор оставляют на 3 ч; выпадения осадка не должно наблюдаться.

Реакции солеобразования натрия диклофенака

Как производное ароматической аминокислоты, натрия диклофенак вступает в реакции комплексообразования с солями тяжелых металлов.

К 0,02 г субстанции добавляют по 2 капли раствора соли тяжелых металлов: 2% раствора серебра нитрата (белый осадок); 3% раствора железа (III) хлорида (желто-коричневый осадок), 10% раствора меди (II) сульфата (светло-зеленый осадок).

Реакции на первичную ароматическую аминогруппу

Первичную ароматическую аминогруппу содержат анестезин, новокаина гидрохлорид, натрия *para*-аминосалицилат.

Реакция диазотирования и азосочетания

Эта реакция для анестезина и новокаина гидрохлорида выполняется по общей методике ГФ. Для натрия *para*-аминосалицилата, который имеет слабощелочную реакцию среды в водном растворе, требуется добавлять больше хлороводородной кислоты разведенной и 0,1 М раствора натрия нитрита для образования соли диазония. Концентрация раствора также уменьшается (0,02 г в 10 мл воды).

Реакцию азосочетания можно проводить не только с фенолом в щелочной среде, но и с ароматическим амином в кислой среде.

Сочетание с ароматическими аминами

Методика. К раствору 0,1 г натрия *para*-аминосалицилата в 5 мл хлороводородной кислоты разведенной прибавляют 1 каплю раствора натрия нитрита и 5 капель 1% раствора α -нафтиламина в 95% спирте — появляется красное окрашивание, переходящее в оранжевое при подщелачивании раствором натрия гидроксида.

Сочетание с фенолами

Методика

1) 0,05 г новокаина гидрохлорида (или анестезина) растворяют в 2 мл воды, подкисленной 3 каплями хлороводородной кислоты разведенной, прибавляют 0,1 М раствора натрия нитрита и взбалтывают. Полученный раствор прибавляют к 3 мл раствора β -нафтола с натрия ацетатом. Появляется красный осадок.

2) 0,02 г натрия *para*-аминосалицилата растворяют в 10 мл воды, прибавляют 1 мл хлороводородной кислоты разведенной и 1 мл 0,1 М раствора натрия нитрита. 1 мл полученного раствора прибавляют к 5 мл раствора β -нафтола с натрия ацетатом. Появляется красный осадок (ГФ).

Реакции окисления

Новокаина гидрохлорид, анестезин и натрия *para*-аминосалицилат легко окисляются, образуя как окрашенные, так и бесцветные продукты. Особенно легко окисляется натрия *para*-аминосалицилат, так как он содержит, кроме первичной ароматической аминогруппы, фенольный гидроксил; его водные растворы неустойчивы, при стоянии окисляются и темнеют. В качестве окислителей применяются растворы калия перманганата, хлорамина, водорода пероксид.

Реакции окисления анестезина и новокаина гидрохлорида

Методика

1) 0,02—0,03 г анестезина растворяют в 2 мл воды с 4—5 каплями разведенной хлороводородной кислоты и прибавляют 1 мл раствора хлорамина. Через 2—3 мин добавляют 1—2 мл эфира и взбалтывают, эфирный слой окрашивается в оранжевый цвет.

2) 0,05 г новокаина гидрохлорида растворяют в 2 мл воды, прибавляют 3 капли серной кислоты разведенной и 1 мл 0,02 М раствора калия перманганата; фиолетовая окраска моментально исчезает.

3) К 0,005—0,01 г новокаина гидрохлорида прибавляют 1—2 капли водорода пероксида и 3—5 капель серной кислоты концентрированной; постепенно появляется сиреневое окрашивание.

Реакции окисления натрия диклофенака

В результате окисления первичных ароматических аминов может изменяться не только их окраска, но и растворимость, поэтому одной из характеристик доброкачественности анестезина, новокаина гидрохлорида и натрия *пара*-аминосалицилата является испытание на прозрачность и цветность их растворов.

При действии различных окислителей (натрия нитрита, калия дихромата, калия перманганата, калия гексацианоферрата (III), калия йодата) в среде серной кислоты концентрированной образуются окрашенные продукты окисления.

Методика

1) 0,002 г субстанции помещают на часовое стекло, добавляют 3 капли серной кислоты концентрированной. Затем добавляют 3 капли 5% раствора калия дихромата. Появляется малиновая окраска.

2) 0,01 г субстанции растворяют при нагревании до 40° в 3 мл 1% раствора натрия гидроксида. К 1 мл 0,01% водного раствора натрия нитрита прибавляют 3 капли приготовленного раствора лекарственного вещества, взбалтывают и осторожно прибавляют 2 мл серной кислоты концентрированной. Появляется синее окрашивание дифенилдифенохинондимина гидросульфата (см. разд. 2.3).

Реакция конденсации с формальдегидом

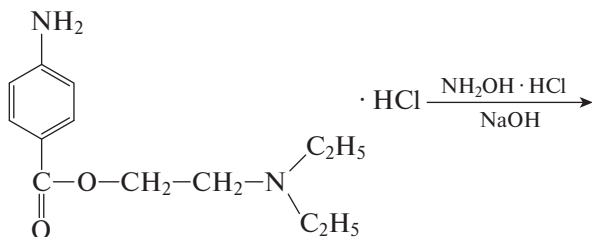
Натрия диклофенак образует окрашенный продукт при взаимодействии с формальдегидом в присутствии серной кислоты концентрированной.

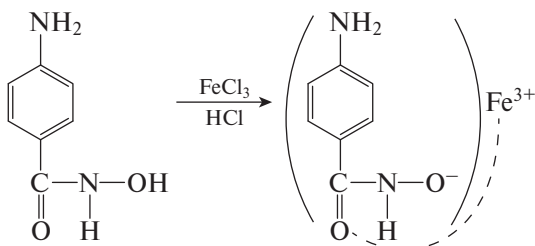
Методика. 0,002 г вещества растворяют в 1 мл серной кислоты концентрированной и наслаивают реактив Марки. На границе двух слоев жидкости наблюдают зелено-белую окраску колец.

Реакция на сложноэфирную группу (гидроксамовая проба)

Анестезин и новокаина гидрохлорид как сложные эфиры при взаимодействии с гидроксиламином в щелочной среде образуют гидроксамовые кислоты, которые после подкисления хлороводородной кислотой образуют окрашенные гидроксаматы с солями железа (III) или меди (II).

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





При выполнении этой реакции необходимо строго соблюдать требования методики, так как железа (III) гидроксаматы образуются в кислой среде при определенном значении pH; добавление избытка кислоты вызывает разрушение комплекса и изменение окраски. Эта реакция лежит в основе методики количественного определения.

Частные реакции

Йодоформная проба на остаток этилового спирта (реакция на анестезин)

Методика. 0,05 г субстанции нагревают с 5 мл раствора натрия гидроксида и приливают 0,1 М раствор йода до не исчезающего желтого окрашивания; появляется запах йодоформа.

Реакции натрия *пара*-аминосалицилата и натрия диклофенака

В молекулах этих препаратов содержатся ионы натрия, которые дают характерные реакции.

6.2.5. Арилалкиламины и их производные

6.2.5.1. Производные фенилалкиламинов, оксифенилалкиламинов

Общими элементами в структуре фенилалкиламинов являются ароматическое кольцо и алифатическая аминогруппа (первичная аминогруппа — у норадреналина, вторичная — у адреналина и эфедрина).

Растворы солей адреналина и норадреналина имеют характерные максимумы в УФ-свете при 279 нм. С помощью спектрофотометрии регламентируется примесь адреналона и норадреналона в соответствующих препаратах (максимум при 310 нм). Для идентификации эфедрина гидрохлорида используют спектр поглощения водного раствора (0,5 мг/мл) в интервале длин волн 230—350 нм. Максимум наблюдается при длине волн 251, 254, 263 нм.

Кислотно-основные свойства

Эфедрин за счет вторичной алифатической аминогруппы является органическим основанием. Промышленностью выпускается в виде соли органического основания и хлороводородной кислоты.

Адреналин и норадреналин — амфолиты. Кроме основных центров (алифатических первичной аминогруппы у адреналина), данные соединения имеют фенольные гидроксилы, обладающие кислотными свойствами.

Выделение органического основания из солей

Соль, образованная слабым органическим основанием и сильной кислотой (винной или хлороводородной), неустойчива и легко гидролизует. Гидролиз в щелочной среде необратим и приводит к образованию нерастворимого в воде основания.

Основание эфедрина — исключение; оно растворимо в воде.

Основания адреналина и норадреналина нерастворимы в воде, но при избытке щелочи происходит образование растворимых фенолятов, которые легко окисляются кислородом воздуха. Поэтому для выделения основания используют раствор аммиака. Реакцию проводят в присутствии антиоксиданта при охлаждении.

При хранении лекарственных форм для инъекций данных соединений возможно влияние щелочности стекла, что приводит к изменению рН растворов, образованию фенолятов и окислению, поэтому ГФ контролирует значение рН и цветность данных растворов, определение показателей мутности и цветности.

Реакция комплексообразования

Адреналин, норадреналин, эфедрин при взаимодействии с солями тяжелых металлов образуют окрашенные комплексы.

Норадреналин и адреналин взаимодействуют с **железа (III) хлоридом**. Состав комплекса и его окраска меняются в зависимости от значения рН раствора.

Методика. 0,001 г вещества растворяют в 1 мл воды, прибавляют 1 каплю раствора железа (III) хлорида; появляется изумрудно-зеленое окрашивание. От прибавления 1 капли раствора аммиака окраска переходит в вишневую, а затем в оранжево-красную.

Эфедрин за счет вторичной спиртовой и алифатической вторичной аминогруппы образует хелатный комплекс с **меди (II) сульфатом**. Полученный комплекс способен переходить в эфирный слой, что делает данную реакцию специфичной.

Методика. 0,01 г эфедрина гидрохлорида растворяют в 1 мл воды, прибавляют 0,1 мл раствора меди (II) сульфата и 1 мл раствора натрия гидроксида. Появляется фиолетовое окрашивание. При взбалтывании этого раствора с 1 мл эфира эфирный слой окрашивается в розовый цвет, а водный слой — в синий.

Реакции окисления

При хранении препаратов норадреналина и адреналина под действием света и кислорода воздуха вследствие окисления происходит изменение их цветности.

Норадреналин и адреналин, являясь производными пирокатехина — двух-атомного фенола, легко окисляются различными реактивами: растворами йода; калия йодата; натрия нитрита.

Методика. К 1 мл 0,2% раствора адреналина гидрохлорида (норадреналина гидротартрата) добавляют 2 мл 1% калия йодата (или 1 мл 10% свежеприготовленного раствора натрия нитрита) и слегка нагревают на горелке. Через 3—4 мин наблюдается красное окрашивание продуктов их окисления, одним из которых является адренохром (норадренохром).

Установлено, что образование адренохрома и норадренохрома зависит от значения 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 М раствора йода и оставляют на 5 мин. Прибавляют 2 мл 0,1 М 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).

6.2.5.2. Производные нитрофенилалкиламинов. Левомецитин

Реакции восстановления нитрогруппы, диазотирования и азосочетания

Ароматическая нитрогруппа после восстановления до первичной ароматической аминогруппы может диазотироваться и при сочетании со щелочным раствором β-нафтола образует азокраситель.

Методика. К 0,1 г левомецитина прибавляют 5 мл 25% раствора хлороводородной кислоты и 0,3 г цинковой пыли, кипятят в течение 3—4 мин. После охлаждения фильтруют. К 2 мл фильтрата добавляют 2 мл 0,1 М раствора натрия нитрита. 1—2 капли полученного раствора прибавляют к 2 мл свежеприготовленного раствора β-нафтола; появляется красное окрашивание.

Данная методика положена в основу количественного определения лекарственного вещества.

Реакция гидролитического расщепления натрия гидроксидом

Реакция левомецитина с натрия гидроксидом позволяет подтвердить многие характерные особенности структуры левомецитина: нитрофенильный радикал, ковалентно связанные атомы хлора, замещенную амидную группу.

При нагревании левомецитина с раствором щелочи образуется кирпично-красный осадок азобензойной кислоты за счет нитрофенильного радикала молекулы. Из амидной группы выделяется аммиак; два неионогенных атома хлора превращаются в хлорид-ионы:

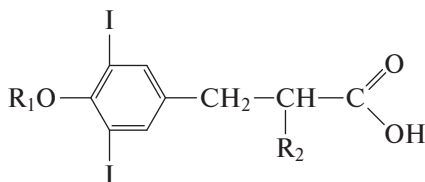


Реакция комплексообразования с меди (II) сульфатом

Левомецитин, как и эфедрин, за счет спиртового гидроксила и вторичной алифатической аминогруппы у двух рядом стоящих атомов углерода (С-1 и С-2) может образовывать окрашенные комплексы с солями тяжелых металлов, например меди (II) сульфатом.

Методика. 10 мг левомецитина встряхивают с 1 мл 5% раствора меди (II) сульфата, добавляют 1 мл раствора натрия гидроксида и встряхивают 1 мин. Появляется синий осадок. Затем добавляют 2 мл *n*-бутанола и встряхивают. Слой *n*-бутанола (верхний) окрашивается в фиолетовый цвет.

6.2.6. Йодированные производные ароматических и арилалифатических аминокислот



К этой группе соединений относятся лекарственные вещества, стимулирующие функцию щитовидной железы (тиреоидин, трийодтиронин).

Химические свойства тиреоидина, трийодтиронина обусловлены наличием ковалентно связанного йода, фенольного гидроксила и фенильного радикала, карбоксигруппы.

Кислотно-основные свойства

Трийодтиронин содержит фенольный гидроксил и карбоксильную группу, которые придают кислый характер ее соединению, а алифатическая первичная аминогруппа — основной характер. Поэтому трийодтиронин растворим в кислотах и щелочах. С солями тяжелых металлов трийодтиронин образует комплексы.

Реакции выявления органически связанного йода

Для обнаружения ковалентно связанного йода его предварительно переводят в ионогенное состояние. Для этой цели применяют различные способы минерализации: спекание со смесью калия нитрата и натрия карбоната; нагревание на огне; нагревание с концентрированной кислотой, сжигание в кислороде.

Методика

1) 1 таблетку растирают в ступке. Порошок вносят в сухую пробирку и закрывают пробкой. При нагревании порошка на огне выделяются пары йода.

2) 0,1 г вещества или порошок, полученный из одной таблетки, помещают в сухую пробирку, добавляют 1 мл серной кислоты концентрированной, закрывают пробкой и нагревают. Выделяются фиолетовые пары йода.

3) 0,07 г вещества сжигают в колбе с кислородом (ГФ). Для поглощения применяют раствор крахмала, содержащего 0,2% сульфаминовой кислоты. После сжигания образца содержимое колбы охлаждают. Поглощающий раствор окрашивается в синий цвет.

Приготовление поглощающего раствора

0,2 г сульфаминовой кислоты растворяют в 100 мл крахмала.

Примечание. При неправильном хранении возможно пожелтение лекарственного вещества в результате образования свободного йода, содержание которого регламентируется фармакопеей (ГФ).

Частные реакции

Реакция с нингидрином

Трийодтиронин, являясь производным аминокислоты, взаимодействует с нингидрином (см. разд. 6.1.5).

Методика. 0,1 г растертых в порошок таблеток взбалтывают с 5 мл воды и фильтруют. К фильтрату прибавляют 0,5 мл свежеприготовленного раствора нингидрина. Кипятят в течение 2—3 мин. При охлаждении появляется сине-фиолетовое окрашивание.

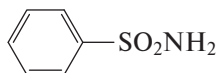
Реакция с натрия нитритом

При взаимодействии трийодтиронина с натрия нитритом в кислой среде появляется желтое окрашивание.

Растворяют 0,005 г вещества в 2 мл 50% спирта, содержащего 0,05 мл хлороводородной кислоты разведенной. Добавляют 1 каплю 10% раствора натрия нитрита и нагревают. Появляется желтое окрашивание. После охлаждения добавляют 5 мл раствора аммиака. Раствор окрашивается в красный цвет.

6.2.7. Бензолсульфониламиды и их производные

Структурной основой лекарственных веществ данной группы является бензолсульфониламид:



Физические, физико-химические свойства

Лекарственные вещества данной группы — белые или желтоватые порошки. Салазопиридазин — азокраситель по строению — вещество красно-оранжевого цвета. Большинство из них малорастворимы в воде, растворимы в полярных растворителях, например ацетоне. Натриевые соли: сульфацил-натрий, хлорамин Б — растворимы в воде.

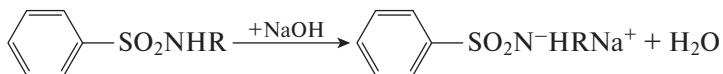
В испытании на *подлинность* лекарственных веществ этой группы используются методы ИК- и УФ-спектроскопии. Так, согласно ГФ, в испытаниях на подлинность сульфадиметоксина используется характеристика УФ-спектра поглощения щелочного раствора вещества относительно кислого раствора.

Раствор глибенкламида в смеси метанола и хлороводородной кислоты в области 230—350 нм имеет максимум при 300 нм и не менее интенсивный максимум при 275 нм, что используется для подтверждения его подлинности.

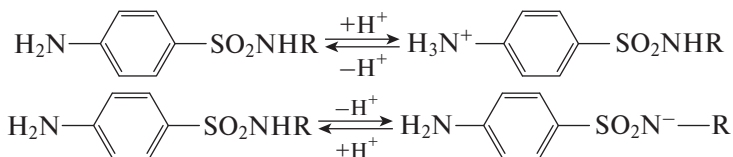
Общие химические свойства

Кислотно-основные свойства

Бензолсульфониламиды содержат NH-кислотный центр, растворяются в щелочах с образованием солей:

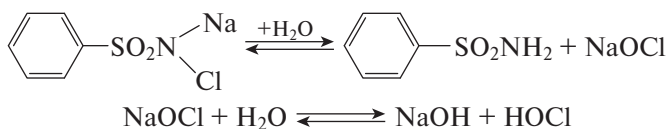


Большинство производных сульфаниламида проявляют амфотерные свойства: наряду с NH-кислотным центром, имеют центр основности в виде первичной ароматической аминогруппы. Они растворяются в кислотах, однако устойчивых солей не образуют.



Солевые формы сульфаниамидов хорошо растворяются в воде и применяются в виде инъекционных растворов и глазных капель (сульфацил-натрий). Водные растворы таких лекарственных веществ вследствие гидролиза имеют щелочную реакцию среды.

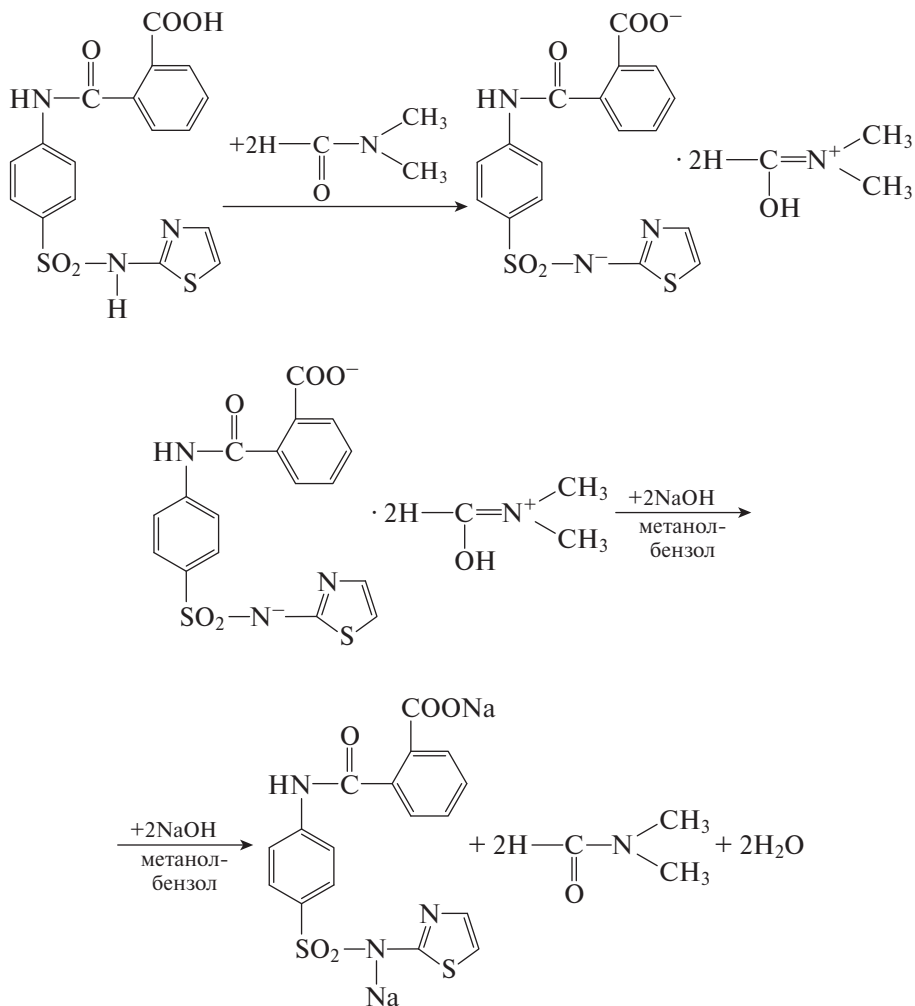
Гидролиз хлорамин Б в водном растворе с образованием натрия гидроксида и гипохлорита объясняет характерное изменение красной лакмусовой бумаги: сначала посинение, затем — обесцвечивание:



В натриевых солях сульфаниамидов регламентируется предел щелочности как примесь, связанная со способом их получения.

Такие лекарственные вещества могут быть определены количественно методом *ацидиметрии*.

На кислотных свойствах бензолсульфаниамидов основано количественное определение их методом нейтрализации в протофильных растворителях, например диметилформамиде. Титрантом служит раствор натрия гидроксида в смеси метанола и бензола. В этих условиях проводится оценка качества фта-лазола, который титруется как двухосновная кислота:



Как производные NH-кислот, бензолсульфонамиды взаимодействуют с солями тяжелых металлов: меди, серебра, кобальта с образованием комплексных соединений характерной окраски, как правило, нерастворимых в воде. Взаимодействие с сульфатом меди (II) имеет дифференцирующее значение и может применяться для подтверждения подлинности лекарственных веществ данной группы. Кислотные формы предварительно растворяют в щелочи, избегая ее избытка.

Комплексообразование с солями тяжелых металлов

Методика

1) 0,1 г дихлотиазид предварительно нейтрализуют 0,1 М раствором натрия гидроксида по тимолфталейну до слабо-голубого окрашивания. К полученному раствору прибавляют 2—3 капли раствора кобальта хлорида. Образуется голубовато-зеленый осадок.

2) 0,1 г сульфацил-натрия растворяют в 3 мл воды и прибавляют 1 мл раствора меди сульфата. Образуется осадок голубовато-зеленого цвета, не изменяющийся при стоянии.

Гидролитическое расщепление

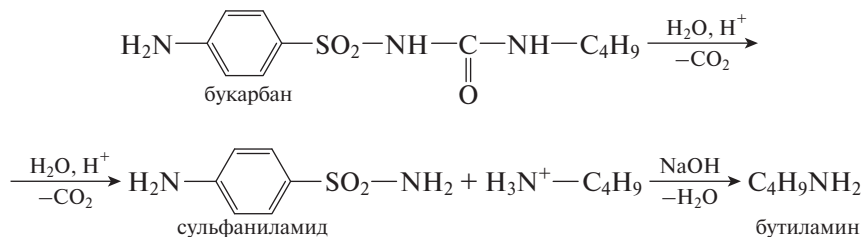
Способность к гидролитическому расщеплению относится к числу общих типов реакций, подтверждающих строение бензолсульфонамидов. Как правило, вещества этой группы гидролизуются по амидной связи в кислой среде с образованием соответствующих аминов, идентифицируемых по величине температуры плавления (сульфаниламиды с гетероциклическим заместителем в сульфамидной группе).

Сульфацил-натрий, в отличие от других производных сульфаниламида, гидролизуется как в кислой, так и в щелочной среде по ацетамидной связи с образованием ацетата и сульфаниламида. Эта реакция может служить подтверждением его подлинности.

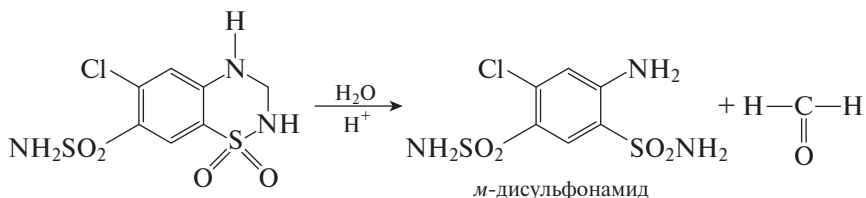
Гидролиз в кислой среде букарбана

В результате гидролиза букарбана, производного бензолсульфонилмочевины, в кислой среде образуется соль бутиламина, которая после подщелачивания раствора выделяет свободный бутиламин в виде маслянистых капель.

Методика. К 0,1 г букарбана прибавляют 5 мл разведенной серной кислоты 16% и кипятят в течение 5 мин, затем осторожно прибавляют 6 мл 30% раствора натрия гидроксида. На поверхности жидкости образуются жирные капли бутиламина с характерным запахом.



Гидролиз дихлотиазид в кислой среде приводит к образованию *мета*-дисульфонамида и формальдегида:



мета-Дисульфонамид идентифицируется по температуре плавления (260—263 °С), а также по реакции диазотирования и азосочетания с β-нафтолом.

Реакция образования ауринового красителя с динатриевой солью хромотроповой кислоты

Методика. Смешивают 10 мг дихлотиазида с 10 мг динатрия хроматропата, прибавляют 1 мл воды и осторожно 5 мл серной кислоты концентрированной. Появляется красно-фиолетовое окрашивание.

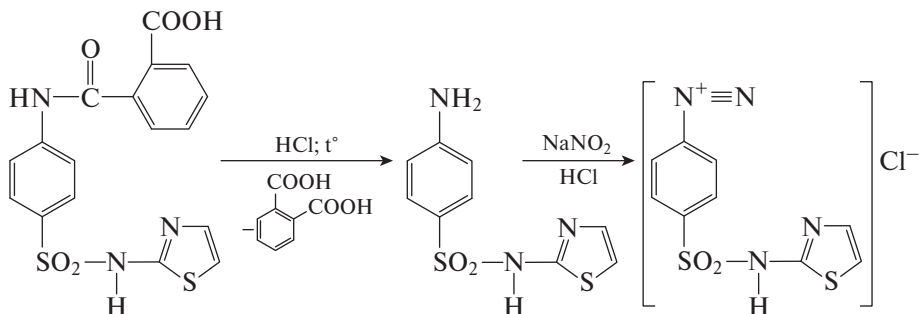
Частные реакции. Производные сульфаниламида

Реакция диазотирования и азосочетания

Реакция диазотирования и азосочетания с щелочным раствором β -нафтола в присутствии ацетата натрия рекомендована ГФ как общегрупповое испытание на подлинность лекарственных веществ, содержащих первичную ароматическую аминогруппу. При этом конечный продукт реакции представляет собой окрашенный осадок. Взаимодействие с нитритом натрия в кислой среде лежит в основе нитритометрического определения сульфаниламидов.

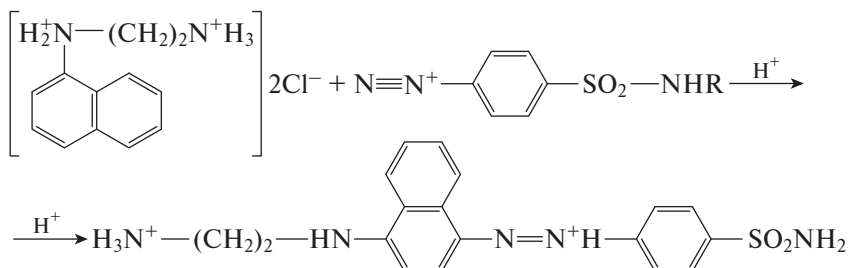
Методика. 0,05 г сульфацил-натрия растворяют в 1 мл хлороводородной кислоты разведенной, прибавляют 2 мл 1% раствора натрия нитрита; полученный раствор прибавляют к 1 мл щелочного раствора β -нафтола, содержащего 0,5 г натрия ацетата; образуется оранжево-красный осадок.

Лекарственные вещества с ацилированной аминогруппой, например фтазол, вступают в реакцию диазотирования после кислотного гидролиза:



Методика. 0,05 г фтазола кипятят в 2 мл воды и 1 мл разведенной кислоты хлороводородной в течение 1—2 мин. Полученный раствор дает реакцию на первичные ароматические амины.

В качестве азосоставляющей может выступать амин, например дигидрохлорид N-(1-нафтил)-этилендиамина, который в оптимальной области pH 5,0—7,0 образует с солью диазония азокраситель основного характера.



Реакции окисления

Как производные аналина, сульфаниламиды легко окисляются с образованием окрашенных соединений, что приводит к изменению их внешнего вида при хранении. Наиболее легко окисление этих веществ происходит в водных растворах.

При взаимодействии сульфаниламидов с реагентами-окислителями (калия броматом, хлорамином Б, калия дихроматом и др.) образуются окрашенные соединения, характерные в отдельных случаях для одного из них, что позволяет осуществлять выбор реактива для надежного определения соответствующего лекарственного вещества. Так, все сульфаниламиды реагируют с водородом пероксидом в присутствии хлорида железа (III). Однако только стрептоцид образует при этом пурпурное окрашивание, поэтому данная реакция может быть использована для определения стрептоцида в многокомпонентных лекарственных формах.

При окислении сульфаниламидов хлорамином Б в щелочной среде и сочетании с фенолами образуются индофеноловые красители.

Образование индофеноловых красителей

Методика. 0,05—0,1 г стрептоцида растворяют в 1 мл 10% раствора натрия гидроксида. К полученному раствору прибавляют 6—8 капель раствора хлорамина и 5 капель 1% раствора фенола. Нагревают несколько минут на водяной бане. Образуется сине-фиолетовое окрашивание.

Пиролиз сульфаниламидов

На способности окисляться основана реакция пиролиза (термическое разложение с доступом кислорода воздуха) сульфаниламидов. Кристаллические сульфаниламиды при нагревании в сухих пробирках образуют окрашенные плавы.

Стрептоцид образует плав фиолетово-синего цвета, сульгин — фиолетово-красного (в обоих случаях выделяется аммиак), норсульфазол — темно-бурого цвета (выделяется сероводород).

Методика. 0,05 г производного сульфаниламида нагревают (осторожно) в сухой пробирке в пламени горелки. Образуется окрашенный плав, выделяются газообразные продукты: аммиак (стрептоцид, сульгин), сероводород (норсульфазол). В случае стрептоцида ощущается также запах анилина.

Частные реакции (уросульфам, фталазол)

Методика

1) 0,05 г уросульфана нагревают с 1 мл 5% раствора натрия нитрита до кипения; появляется рубиново-красное окрашивание (отличие от других сульфаниламидов).

2) К 0,05 г фталазола прибавляют 0,05 г резорцина, 1—2 капли серной кислоты концентрированной и сплавляют на пламени горелки в течение 1—2 мин. После охлаждения полученную массу растворяют в 2—3 мл раствора натрия гидроксида и выливают в воду; наблюдается ярко-зеленая флуоресценция.

6.2.8. Схема анализа неизвестного лекарственного вещества из класса ароматических соединений

Для проведения контрольной работы рекомендуется использовать следующие вещества: резорцин, синэстрол, тимол, тетрациклин и его соли, бензойную кислоту, натрия бензоат, салициловую кислоту, натрия салицилат, ацетилсалициловую кислоту, парацетамол, анестезин, новокаина гидрохлорид, натрия *пара*-аминосалицилат, адреналина и норадреналина гидротартрат, левомицетин, стрептоцид, сульфацил-натрия, сульфадиметоксин, норсульфазол, фталазол, викасол.

Ориентировочной основой действия при проведении лабораторной работы является общая схема фармацевтического анализа.

По *формам выпуска* объекты исследования различаются: порошки, таблетки (например: синэстрол, викасол, тетрациклин, парацетамол, натрия салицилат, натрия *пара*-аминосалицилат, ацетилсалициловая кислота, фталазол, стрептоцид, норсульфазол, сульфадиметоксин), растворы (синэстрол, викасол, натрия бензоат, натрия салицилат, *пара*-аминосалицилат натрия, новокаина гидрохлорид, соли адреналина и норадреналина, сульфацил-натрия, резорцин).

Физические свойства

Цвет. Исследуемые соединения данной группы, как правило, белого цвета (кроме производных тетрациклина, которые имеют желтую окраску). Для ряда препаратов НД допускает оттенок: сероватый у солей адреналина; желтоватый — у натрия *пара*-аминосалицилата, парацетамола, резорцина, сульфадиметоксина, викасола; розоватый — у парацетамола, натрия *пара*-аминосалицилата.

Формы кристаллов. Исследуемые вещества — кристаллические порошки. Кислота салициловая, натрия *пара*-аминосалицилат имеют мелкокристаллическую форму, натрия салицилат — мелкие чешуйки, кислота бензойная — игольчатые кристаллы.

Запах. Характерный запах имеют тимол, резорцин, ацетилсалициловая кислота, натрия бензоат.

Возгонка, плав, окраска пламени. Некоторые соединения изменяются при прокаливании. Так, для бензойной и салициловой кислот характерна возгонка. При пиролизе стрептоцида образуется фиолетовый плав и появляется запах аммиака.

Плавы с таблеточной массой не характерны из-за обугливания имеющихся там наполнителей. Для инъекционных растворов необходимо дополнительное выпаривание.

Важную информацию об исследуемом соединении может дать окрашивание пламени. Соли натрия (натрия бензоат, викасол, натрия салицилат, сульфацил-натрия, натрия *пара*-аминосалицилат) окрашивают пламя в желтый цвет. При внесении в пламя на медной проволоке соединений, содержащих элемент хлора (адреналина гидрохлорид, новокаина гидрохлорид, тетрациклина гидрохлорид), наблюдается зеленое окрашивание (проба Бейльштейна).

Растворимость в воде

По растворимости в воде лекарственные вещества можно разделить на 2 группы: *растворимые в воде* (соли адреналина и норадреналина, натрия бензоат и салицилат, резорцин, тетрациклина гидрохлорид, окситетрациклина гидрохлорид, новокаина гидрохлорид, сульфацил-натрия) и *нерастворимые в воде* (ацетилсалициловая, бензойная и салициловая кислоты, парацетамол, левомицетин, анестезин, синэстрол, тимол, тетрациклин, стрептоцид, сульфадиметоксин, фталазол).

Растворимы в воде, как правило, соли:

а) органического основания и минеральной кислоты (например, соли адреналина, тетрациклина, новокаина гидрохлорид). Водные растворы таких соединений имеют кислую реакцию среды.

б) соли органической кислоты и минерального основания (натрия сульфацил). Реакция среды водных растворов таких солей щелочная.

Химические свойства

Реакции, обусловленные основными свойствами

а) При добавлении щелочи к водному раствору солей органических оснований и минеральных кислот происходит вытеснение органического основания, нерастворимого в воде. Для солей адреналина, норадреналина, тетрациклина, окситетрациклина имеет значение сила основания. Данные соединения содержат фенольные гидроксилы и, следовательно, способны с щелочами образовывать растворимые в воде феноляты. Поэтому для их осаждения используют растворы аммиака или гидрокарбоната натрия. Полученные осадки отфильтровывают, высушивают и идентифицируют по температуре плавления.

б) Если исследуемый образец нерастворим в воде, то его помещают в раствор 8% хлороводородной кислоты. В кислотах растворяются соединения, имеющие первичную ароматическую аминогруппу (анестезин, норсульфазол, стрептоцид, сульфадиметоксин).

в) Реакции с общеалкалоидными осадительными реактивами. Из исследуемых соединений лишь новокаина гидрохлорид обладает выраженными основными свойствами и образует осадки с данными реактивами.

Кислотные свойства

а) Неорганическая кислота вытесняет нерастворимые в воде органические кислоты из их солей. Однако при наличии сульфацил-натрия и *пара*-аминосалицилата натрия выпадение осадка кислотной формы при использовании минеральной кислоты не наблюдается, так как данные соединения за счет центра основности (первичная ароматическая аминогруппа) образуют с кислотой растворимую соль.

Викасол разрушается как в кислой, так и в щелочной среде, образуя желтый осадок, который идентифицируется по температуре плавления.

б) Нерастворимые в воде лекарственные вещества растворяются в щелочах из-за образования солей, если в них имеются кислотные центры — карбоксильная, амидная группы, фенольный и енольный гидроксил (ацетилсалициловая кислота, бензойная кислота, парацетамол, синэстрол, тимол, фталазол).

Вследствие разной степени кислотности эти вещества можно дифференцировать по растворимости в натрия гидрокарбонате.

Амфотерные соединения растворимы и в кислотах, и в щелочах (сульфадиметоксин, норсульфазол, тетрациклин). Такие препараты, как левомецетин, не растворяются в кислотах, щелочах.

в) Реакции с солями тяжелых металлов. Лекарственные вещества-кислоты участвуют в реакциях образования солей и комплексов с катионами тяжелых металлов. Условия проведения реакций и окраска получаемых продуктов реакций с железа (III) хлоридом и солями меди приведены в разд. 6.1.3.

Левомецетин — аминспирт, он образует комплекс с солями меди (II) характерной окраски в органическом слое.

Окислительно-восстановительные реакции. Исследуемые соединения (кроме бензойной кислоты и натрия бензоата) окисляются окислителями различной силы. Способность к окислению обусловлена наличием в их структуре фенольных гидроксильных и первичной ароматической аминогруппы. На этом свойстве основана индофеноловая проба, которую применяют для идентификации фенолов и сульфаниламидных препаратов.

У парацетамола заблокирована первичная аминогруппа, поэтому реакции окисления идут в «жестких» условиях. Образование красителя описано в разд. 6.2.3.

Характерное окрашивание эфирного слоя наблюдается при окислении анемезина. Особенно легко окисляются производные пирокатехина (соли адреналина и норадреналина), например, натрия нитритом, натрия йодатом.

Производные фенолов способны образовывать арилметановые красители, где процесс окисления является одним из этапов.

Реакции электрофильного замещения. Фенольные гидроксильные и ароматические аминогруппы являются сильнейшими *орто*- и *пара*-ориентантами, поэтому легко вступают в реакции электрофильного замещения. Реакция азосочетания общегрупповая для лекарственных веществ, содержащих фенольный гидроксил и первичную ароматическую аминогруппу. Условия ее проведения, а также окраска полученных красителей позволяют в определенной степени дифференцировать эти лекарственные вещества. Методики проведения реакции указаны в разделах (6.2.1 — фенолы), (6.2.3 — парацетамол), (6.2.4 — аминокислоты), (6.2.7 — сульфаниламиды).

Некоторые лекарственные вещества (ацетилсалициловая кислота, фталазол и т. д.) дают эту реакцию только после предварительного гидролиза.

Левомецетин вступает в реакцию диазотирования, а затем азосочетания после восстановления нитрогруппы в аминогруппу.

Реакции гидролитического расщепления. Амиды и сложные эфиры (сульфаниламиды, ацетилсалициловая кислота, анестезин, новокаина гидрохлорид) подвергаются реакциям гидролитического расщепления. Эти реакции используются для идентификации препаратов. Так, при нагревании стрептоцида со щелочью выделяется аммиак, который обнаруживается по запаху и посинению влажной лакмусовой бумаги, ацетилсалициловая кислота, натрия сульфацил и парацетамол — по запаху уксусной кислоты. Продукты гидролиза можно обнаружить по реакциям образования арилметанового красителя на примере ацетилсалициловой кислоты.

Лекарственные препараты, содержащие сложноэфирную, амидную группы, дают гидроксамовую реакцию.

Проведенные испытания позволяют сделать предварительное заключение об объекте исследования.

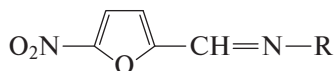
Подтверждение подлинности объекта в дальнейшем проводится в соответствии с требованиями ГФ или другой НД, и составляется окончательное заключение.

6.3. Гетероциклические соединения

6.3.1. Производные фурана

К этой группе относятся лекарственные средства, обладающие антибактериальным действием (фурацилин, фурадонин, фуразолидон).

По строению эти вещества можно рассматривать как продукт конденсации альдегида 5-нитрофурфурола и соответствующего аминопроизводного, что можно представить общей формулой:



Все они содержат азометиновую связь $-\text{CH}=\text{N}-$ и построены по типу оснований Шиффа, различаются заместителями в положении 2.

Физико-химические свойства

- желтые с зеленоватым или оранжевым оттенком кристаллические вещества, без запаха;
- очень мало растворимы или практически нерастворимы в воде и 95% спирте;
- характеризуются определенной температурой плавления;
- поглощают в видимой УФ- и ИК-областях спектра.

УФ-спектрофотометрия используется для установления подлинности и количественного определения препаратов.

Так, для идентификации фурацилина снимают УФ-спектры его растворов в смеси диметилформамида и воды (1 : 50).

Максимумы поглощения такого раствора находятся в области 260 и 375 нм, а минимум — при 306 нм. Количественное определение проводят при 375 нм. В качестве растворителя для УФ-спектрофотометрического определения применяется также 50% раствор серной кислоты, в котором препараты имеют максимум поглощения при 227 нм.

Химические свойства и методы анализа

Кислотно-основные свойства

Производные 5-нитрофурана — вещества кислотного характера. Кислотные свойства фурацилина обусловлены амидной группой в остатке семикарбазида.

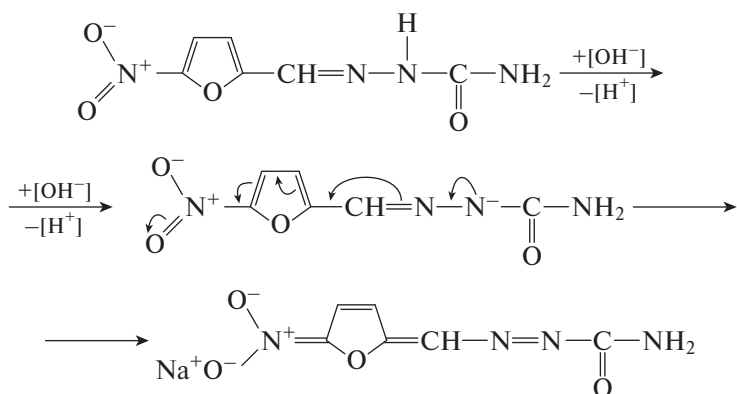
Фурадонин проявляет кислотные свойства за счет кето-енольной и лактим-лактамной таутомерии в гидантоиновом фрагменте.

Нитрогруппа, как сильный электронно-донорный акцептор, повышает кислотность лекарственных веществ.

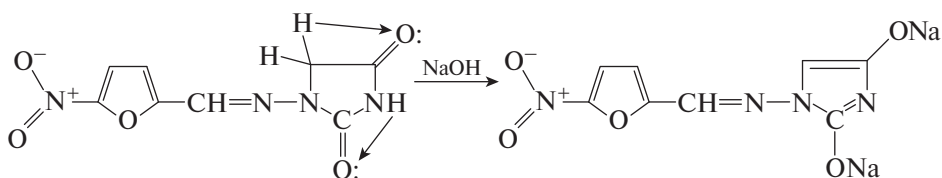
За счет кислотных свойств 5-нитрофураны взаимодействуют с:

- водными растворами щелочей;
- протофильными растворителями (диметилформамид);
- ионами тяжелых металлов.

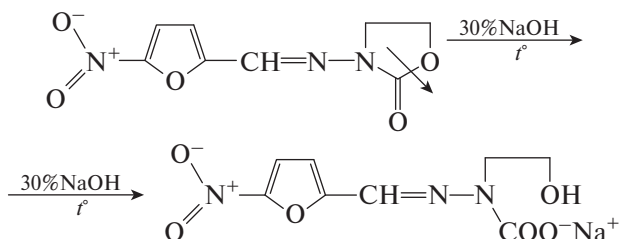
Лекарственные вещества данной группы реагируют с водным раствором натрия гидроксида, образуя окрашенные соединения различной структуры. Фурацилин при растворении в 10% растворе натрия гидроксида дает оранжево-красное окрашивание. При этом происходит депротонирование NH-кислотного центра и перераспределение электронной плотности с образованием окрашенного аниона.



Темно-красное окрашивание при действии раствора натрия гидроксида на фурадонин обусловлено таутомерными превращениями в ядре гидантоина.



Фуразолидон дает бурое окрашивание с 30% раствором щелочи при нагревании, что связано с расщеплением лактонного цикла (ядро оксазолидона) и образованием ионизированной соли:



Реакция с водным раствором натрия гидроксида

Методика

1) 0,01 г фурацилина растворяют в смеси 5 мл раствора натрия гидроксида 10% и 5 мл воды; появляется оранжево-красное окрашивание. При нагревании полученного раствора выделяется аммиак.

2) 0,01 г фурадонина растворяют в смеси 5 мл 30% раствора натрия гидроксида и 5 мл воды; появляется темно-красное окрашивание.

3) 0,05 г фуразолидона смешивают с 20 мл воды и 5 мл 30% раствора натрия гидроксида и нагревают; появляется бурое окрашивание.

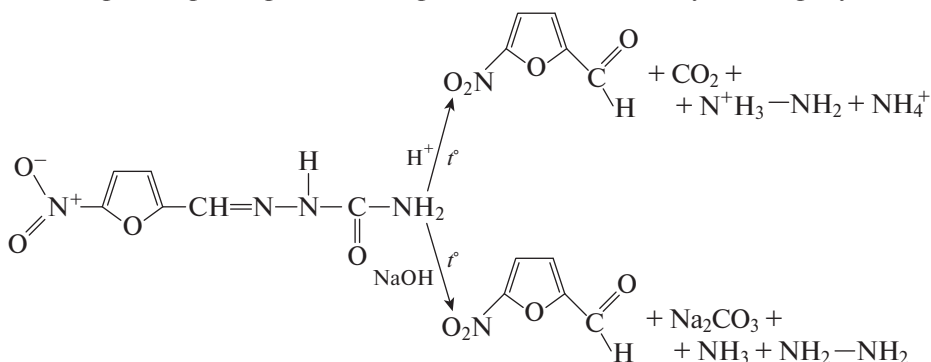
Реакция подлинности фурадонина и фуразолидона

При взаимодействии производных 5-нитрофурана со спиртовым раствором щелочи в среде неводных растворителей основного характера, например в диметилформамиде, получают ионизированные соединения различной окраски. Это испытание позволяет дифференцировать данные лекарственные вещества и используется согласно ГФ для установления подлинности фурадонина и фуразолидона.

Методика. 0,01 г фуразолидона или фурадонина растворяют в 3 мл диметилформамида; появляется желтое окрашивание, которое после прибавления 2 капель 1 М раствора калия гидроксида в 50% спирте переходит в фиолетовое (фуразолидон) или коричнево-желтое (фурадонин).

Гидролитическое расщепление

Данное свойство связано с наличием в структуре лекарственных веществ производных 5-нитрофурана азометиновой, амидной и сложноэфирной групп. Оно используется для отличия фурацилина от других веществ этого ряда. Фурацилин — семикарбазон; он подвергается гидролизу как в кислой, так и в щелочной средах при нагревании с образованием соответствующих продуктов:



При нагревании фурацилина с раствором натрия гидроксида появляется оранжево-красное окрашивание и выделяется аммиак (методика — см. выше).

Методы количественного анализа

- 1) Кислотно-основное титрование в неводной среде.
- 2) Метод фотометрии.
- 3) Йодометрическое определение.

6.3.2. Производные бензопирана

6.3.2.1. Неодикумарин

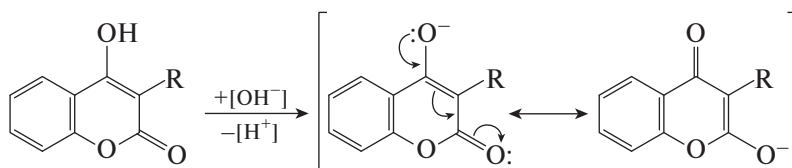
Физико-химические свойства

Белый или со слегка кремоватым оттенком мелкокристаллический порошок. Очень мало растворим в воде, трудно в ацетоне, малорастворим в 95% спирте и эфире. Раствор неоидкумарина в этаноле имеет два максимума поглощения при 276 и 303 нм; в 0,1 М растворе натрия гидроксида — один максимум при 310 нм. Данное свойство используется для установления подлинности неоидкумарина.

Химические свойства и методы анализа

Кислотные свойства

Как енол, неоидкумарин относится к ОН-кислотам. Поэтому он реагирует с раствором натрия гидроксида, а также дает окрашенную комплексную соль с железа (III) хлоридом. При взаимодействии неоидкумарина с раствором натрия гидроксида (при комнатной температуре) образуется мезомерностабилизированный анион.



Реакция с раствором железа (III) хлорида

Методика. 0,05 г неоидкумарина растворяют в 5 мл спирта при нагревании, прибавляют 2—3 капли раствора железа хлорида; раствор окрашивается в красно-бурый цвет.

Кислотные свойства неоидкумарина лежат в основе его количественного определения.

Метод алкалиметрии

Неоидкумарин после растворения в ацетоне титруют водным раствором натрия гидроксида. В этих условиях препарат ведет себя как одноосновная кислота, образуя однозамещенную соль (енолят). Молярная масса эквивалента в данном случае равна молярной массе лекарственного вещества.

Методика. Около 0,4 г неоидкумарина (точная навеска) растворяют в 30 мл ацетона, прибавляют 20 мл воды, 5 капель смешанного индикатора (метиловый оранжевый и метиленовый синий) и титруют 0,1 М раствором натрия гидроксида до изменения фиолетового окрашивания на зеленое. Параллельно проводят контрольный опыт.

1 мл 0,1 М раствора натрия гидроксида соответствует 0,04084 г неоидкумарина, которого должно быть не менее 98,5%.

Кислотно-основное титрование в неводной среде

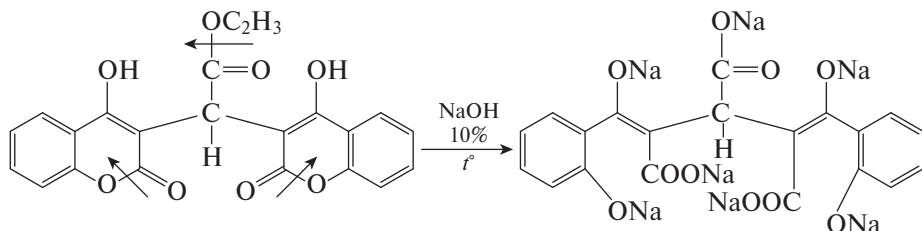
Навеску лекарственного вещества растворяют в протофильном растворителе (бутиламине) и титруют стандартным раствором лития метоксида. Здесь ле-

картвенное вещество ведет себя как двухосновная кислота, и молярная масса эквивалента равна $1/2$ молярной массы неодикумарина.

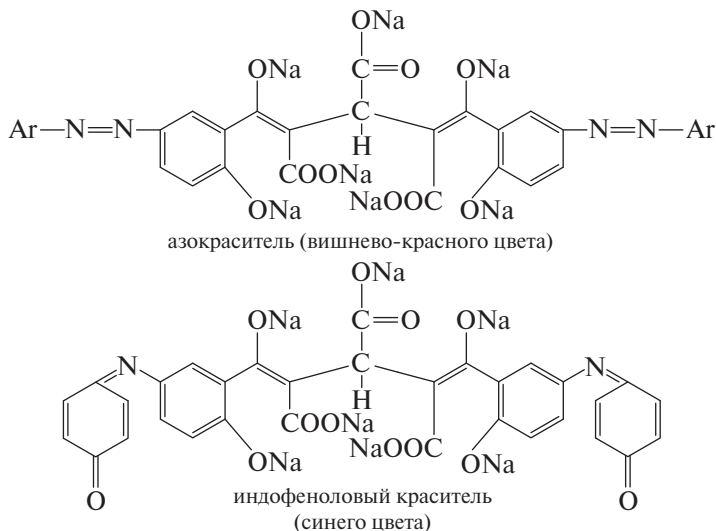
Гидролитическое разложение

Как лактон и сложный эфир, неодикумарин подвергается гидролитическому разложению. Характер продуктов гидролиза зависит от условий проведения реакции.

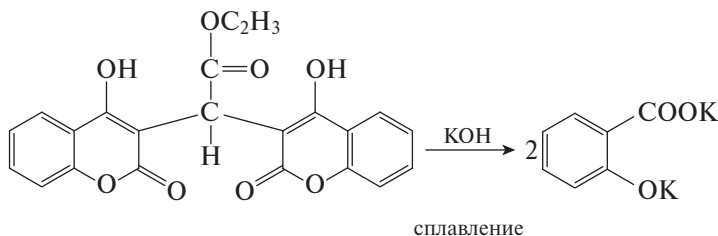
При нагревании с 10% раствором натрия гидроксидом идет раскрытие лактонного цикла с образованием фенолокислоты:



Продукт реакции можно идентифицировать с помощью реакции электрофильного замещения, а именно образования азокрасителя (путем сочетания с солями диазония) и индофенолового красителя (с хинонимином):



При гидролизе в жестких условиях (сплавление с кристаллическим калия гидроксидом) идет деструкция молекулы с образованием калиевой соли кислоты салициловой, которую идентифицируют с железа (III) хлоридом:



Гидроксая реакция. За счет лактонного цикла и сложноэфирной группы неодикумарин вступает в гидроксую реакцию, что можно использовать для его качественной и количественной оценки. Реакция не является специфичной, ее дают и другие сложные эфиры, лактоны, амиды, лактамы.

Реакция ацетилирования. Енольные гидроксилы обуславливают способность неодикумарина давать сложные эфиры — а именно, при действии ангидрида уксусного идет реакция ацетилирования с образованием диацетата, который идентифицируют по температуре плавления. Данная реакция используется также для количественного определения препарата методом ацетилирования.

6.2.3.2. Рутин (рутозид)

Физические свойства

Зеленовато-желтый мелкокристаллический порошок. Практически нерастворим в воде, малорастворим в 95% спирте, практически нерастворим в растворах кислот, эфире, хлороформе, ацетоне и бензоле, растворим в разведенных растворах едких щелочей.

Для рутозида характерно поглощение в УФ-области спектра при двух максимумах — 259 и 362,5 нм. Это свойство используется для определения подлинности, посторонних примесей (примеси кверцетина) и количественного определения.

Примесь кверцетина в рутине и количественное содержание последнего определяют методом УФ-спектрофотометрии по соотношению значений оптических плотностей при длинах волн 375 и 362,5 нм.

Химические свойства и методы анализа

Свойства определяются наличием в структуре молекулы рутина фенольных гидроксильных, сахарной части и флавоноидного фрагмента.

Реакции на фенольный гидроксил

Методика

1) 0,005 г (5 мг) лекарственного вещества растворяют в 5 мл 1 М раствора натрия гидроксида; появляется желто-оранжевое окрашивание.

2) 0,01 г лекарственного вещества растворяют в 50 мл воды, к 10 мл полученного раствора добавляют несколько капель раствора железа (III) хлорида; появляется темно-зеленое окрашивание.

3) 0,01 г рутина растворяют в 5 мл горячей воды, прибавляют по каплям раствор основного ацетата свинца; выпадает оранжевый осадок.

4) 0,01 г рутина растворяют в 1 мл 10% раствора натрия гидроксида и прибавляют 2—3 капли соли диазония; образуется темно-красное окрашивание.

Приготовление соли диазония. 0,5 г стрептоцида растворяют в 2 мл хлороводородной кислоты разведенной и прибавляют 1 мл 0,1 М раствора натрия нитрита.

Реакции на сахарный компонент

Рутин дает положительную реакцию на сахарный компонент с реактивом Фелинга, что позволяет отличить его от кверцетина (агликона). Для этого рутин

предварительно подвергают кислотному гидролизу при нагревании, в результате чего разрушается гликозидная связь и высвобождаются сахара, обладающие восстановительными свойствами.

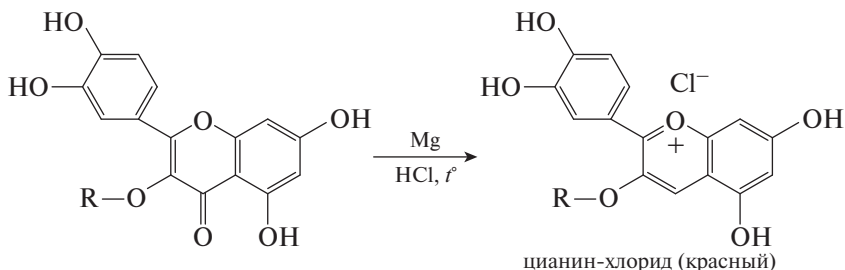
Окисление сахаров реактивом Фелинга

При окислении сахаров Cu (II) восстанавливается до оксида меди (I) с образованием красного осадка (см. гл. 7).

Методика. 1 г рутина кипятят со 100 мл 0,5% раствора хлороводородной кислоты и фильтруют. К 5 мл фильтрата прибавляют 0,3 мл раствора натрия гидроксида и 3 мл реактива Фелинга; при кипячении смеси образуется красный осадок.

Образование цианидинового красителя (цианидиновая проба)

Это специфическая реакция подлинности на рутин и кверцетин. Она основана на восстановлении водородом (металлический магний или цинк в присутствии хлороводородной кислоты концентрированной) флавоноидного фрагмента с образованием окрашенных пирилиевых солей. Образующееся красное окрашивание присуще цианин-хлориду (соль бензопирилия или бензопироксония)



Методика. 0,02 г рутина растворяют в 5 мл горячего 95% спирта, добавляют несколько капель хлороводородной кислоты концентрированной и 0,05 г порошка магния или магниевой стружки; постепенно раствор окрашивается в красный цвет.

6.3.3. Производные пиразола

В данной группе рассмотрены: антипирин и анальгин — производные частично гидрированной системы — пиразолина; бутадиион — производное полностью гидрированного пиразола, т. е. пиразолидина.

Физико-химические свойства антипирина

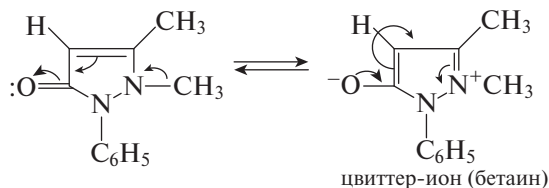
Бесцветные кристаллы или белый кристаллический порошок без запаха, слабогорького вкуса.

Очень легко растворим в воде, легко растворим в спирте и хлороформе, трудно растворим в эфире. Водный раствор имеет нейтральную реакцию среды ($\text{pH} = 6,0\text{--}7,5$).

Максимумы поглощения в УФ-спектре:

- в кислой среде 230 нм,
- в щелочной среде 256 нм.

Растворимость антипирина в воде обусловлена его способностью образовывать внутреннюю соль (цвиттер-ион) или бетаиновую структуру, которая хорошо сольватируется водой.

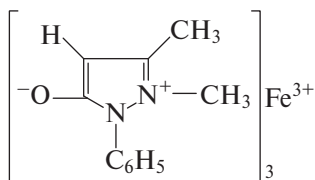


Эта специфическая особенность антипирина связана также с его химическими свойствами, а именно способностью к реакциям электрофильного замещения и устойчивостью к окислению.

Химические свойства и методы анализа

Реакция комплексообразования

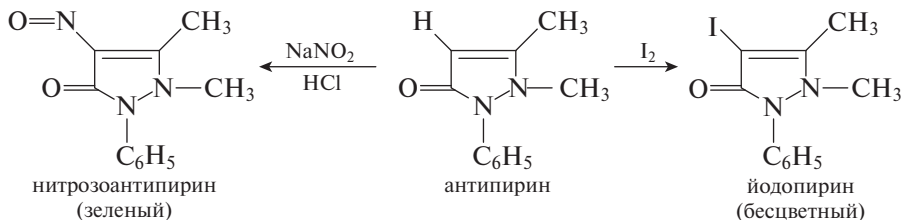
За счет способности давать в водном растворе цвиттер-ион антипирин образует с железа (III) хлоридом комплексную соль (феррипирин) красного цвета.



Реакция используется для определения подлинности антипирина.

Методика. К 2 мл 1% раствора антипирина прибавляют 1 каплю раствора железа (III) хлорида. Появляется красное окрашивание, исчезающее при действии минеральных кислот.

Реакции электрофильного замещения (с раствором йода и натрия нитрита в кислой среде)



Взаимодействие антипирина с раствором йода имеет свою особенность, а именно реакция идет в двух направлениях. При действии первых капель реактива на водный раствор лекарственного вещества наблюдают обесцвечивание йода вследствие S_E -реакции. Дальнейшее добавление реагента приводит к образованию бурого осадка комплексной соли периодида или полийодида благодаря основным свойствам антипирина.

Реакция взаимодействия с йодом лежит в основе количественного определения антипирина йодометрическим методом.

Реакция образования нитрозоантипирина

Применяется для определения подлинности препарата. Кроме того, ее используют для открытия нитрит-иона и количественного определения антипирина методом фотоэлектроколориметрии.

Методика. К 2 мл 1% раствора антипирина прибавляют 1 каплю раствора натрия нитрита и 10 капель серной кислоты разведенной; образуется изумрудно-зеленое окрашивание.

6.3.3.1. Анальгин (метамизол-натрий)

Физико-химические свойства

Белый или белый с едва заметным желтоватым оттенком кристаллический порошок. В присутствии влаги быстро разлагается. Растворим в 1,5 частях воды, 160 частях 95% спирта, практически нерастворим в эфире, хлороформе, ацетоне. Растворим в воде, поскольку является натриевой солью замещенной довольно сильной сульфокислоты; водные растворы имеют нейтральную реакцию среды (рН 6,0—7,5).

Максимум поглощения в УФ-спектре — 258 нм в кислой среде.

Химические свойства и методы анализа

Методы оценки качества анальгина определяются его свойствами: способностью к окислению и гидролитическому расщеплению.

Способность к окислению

Анальгин проявляет выраженные восстановительные свойства, которые обусловлены наличием неустойчивой частично гидрированной системы пиразолина и гидразиновой группировки. Кроме того, его реакционная способность усилена радикалом при С-4. Способность к окислению определяет реакции идентификации, метод количественного анализа и условия хранения.

В качестве окислителей для идентификации анальгина используют железа (III) хлорид, серебра нитрат, калия йодат и др. При этом образуются окрашенные продукты окисления.

Взаимодействие с калия йодатом в кислой среде

Применяют для определения подлинности. При этом сначала наблюдается малиновое окрашивание продукта окисления анальгина; одновременно идет восстановление калия йодата до йода и калия йодида, которые затем образуют с анальгином как азотистым основанием бурый осадок комплексной соли (перйодид).

Методика. К 0,1 г метамизол-натрия прибавляют 5 мл спирта и 0,5 мл хлороводородной кислоты разведенной. После растворения лекарственного вещества прибавляют 5 мл 0,0167 М раствора калия йодата; раствор окрашивается в малиновый цвет, при дальнейшем добавлении реактива окраска усиливается и выделяется бурый осадок.

Реакция с раствором серебра нитрата

Проходит в два этапа: сначала выделяется белый осадок серебряной соли анальгина вследствие обменной реакции, затем идет окисление анальгина

с образованием окрашенных продуктов окисления и выделение осадка металлического серебра.

Взаимодействие с раствором йода

Протекает по двум направлениям. При действии первых капель реактива на раствор препарата наблюдают обесцвечивание йода вследствие окисления анальгина (отличие от антипирина). Дальнейшее добавление раствора йода приводит к образованию бурого осадка периодида за счет основности анальгина. Центр основности — атом азота во 2-м положении. Реакция с йодом лежит в основе количественного определения анальгина йодометрическим методом.

Методика. К 2 мл 1% раствора метамизол-натрия добавляют соответственно по 2—3 капли раствора йода, железа (III) хлорида, серебра нитрата и подкисленный 0,5 мл хлороводородной кислоты разведенной раствор натрия нитрита.

Окисление хлорамином (или известью хлорной)

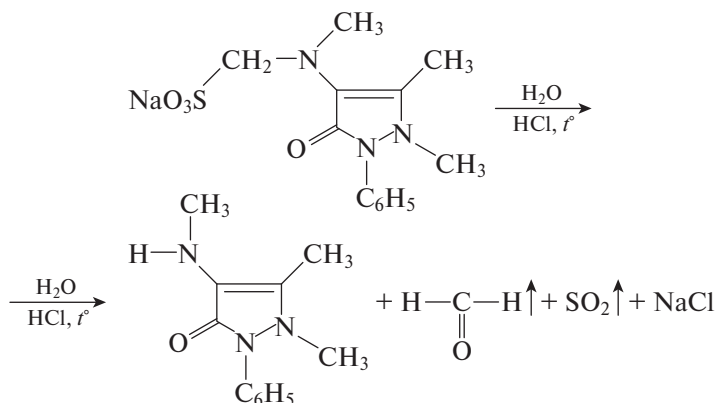
Методика. 0,2 г лекарственного вещества растворяют в 2 мл воды, прибавляют 0,5 мл серной кислоты разведенной и 0,5 мл свежеприготовленного 1% раствора хлорамина или извести хлорной; появляется голубое окрашивание, переходящее в зеленое, затем в желтое.

Образование берлинской лазури

Методика. К 1 мл раствора анальгина (1 : 25) прибавляют 2 мл свежеприготовленного раствора калия гексацианоферрата (III) и 1 каплю железа (III) хлорида; появляется синее окрашивание.

Реакция гидролитического расщепления

Анальгин подвергается гидролитическому расщеплению в кислой, нейтральной и щелочной средах, особенно при нагревании. Реакция кислотного гидролиза используется для идентификации анальгина: серы (IV) оксид и формальдегид обнаруживают по запаху. Кроме того, формальдегид можно подтвердить реакцией образования ауринового красителя с хромотроповой кислотой или салициловой кислотой в присутствии серной кислоты концентрированной.



Методика

1) 0,2 г анальгина нагревают с 2 мл хлороводородной кислоты разведенной; ощущается острый запах оксида серы (IV), а затем формальдегида.

2) 0,05 г лекарственного вещества помещают в сухую пробирку, добавляют несколько кристаллов салициловой кислоты или резорцина, 0,5 мл серной кислоты концентрированной и нагревают на водяной бане; образуется розовое окрашивание.

6.3.3.2. Бутадион (фенилбутазон)

Бутадион представляет собой производное гетероцикла пиразолидина — полностью гидрированного пиразола. В то же время его можно рассматривать как циклический гидразид бутилмалоновой кислоты и 1,2-дифенилгидразина, поэтому молекула содержит две амидных связи.

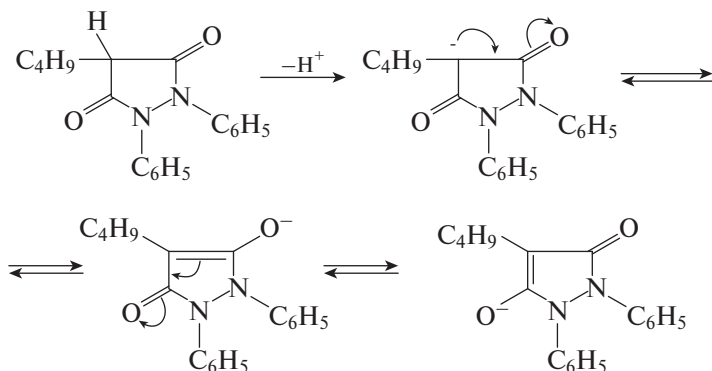
Физические свойства

Белый или белый со слегка желтоватым оттенком порошок. Практически нерастворим в воде, трудно растворим в спирте, легко растворим в хлороформе, эфире, ацетоне и растворе натрия гидроксида, практически нерастворим в разведенных кислотах. Бутадион поглощает в УФ- и ИК-областях спектра. УФ-спектры имеют одну полосу поглощения с максимумами при 240 нм в нейтральной и кислой средах и при 264 нм в щелочной среде.

Химические свойства и методы анализа

Кислотно-основные свойства

Фенилбутазон, как СН-кислота, проявляет кислотные свойства за счет подвижного атома водорода у С-4, стоящего рядом с электроотрицательными карбонильными группами и, как следствие, способность к кето-енольной таутомерии. В щелочной среде идет депротонирование СН-кислотного центра и образование мезомерностабилизированных ионов.



Таким образом, в растворах щелочей бутадион находится в виде амбидентного иона.

Благодаря кислотным свойствам бутадион образует растворимые соли со щелочами и нерастворимые окрашенные комплексные соли с ионами тяжелых металлов. Реакция с раствором меди (II) сульфата используется для

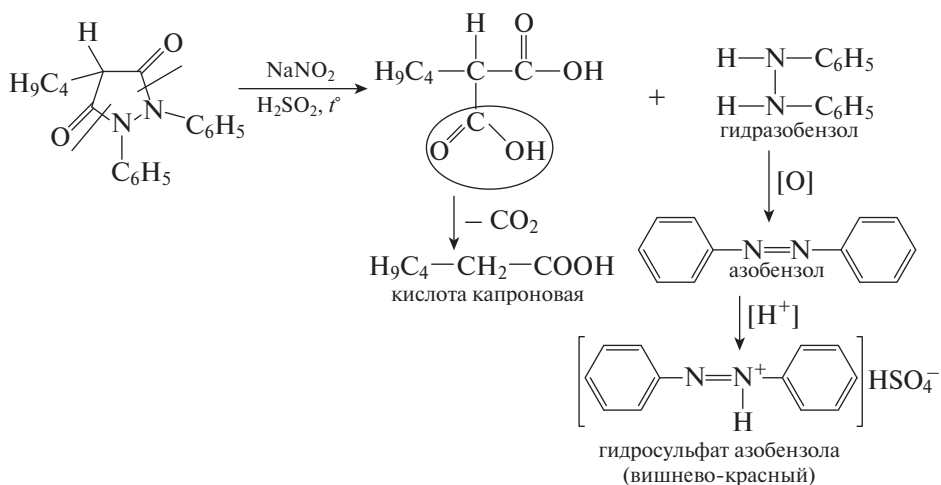
определения подлинности лекарственного вещества. Образуется осадок серо-голубого цвета. При ее выполнении необходимо перевести бутатион в ионизированное состояние, добавив его в 0,1 М раствор натрия гидроксида. Но реакция среды при этом должна быть нейтральной во избежание образования при избытке щелочи осадка меди гидроксида. Поэтому раствор натрия гидроксида берут в эквивалентном количестве либо в количестве, недостаточном для полного растворения лекарственного вещества.

Реакция с раствором меди (II) сульфата

Методика. 0,05 г лекарственного вещества взбалтывают с 1,5 мл 0,1 М раствора натрия гидроксида в течение 2 мин. Фильтруют от осадка и к фильтрату прибавляют 0,5 мл раствора меди (II) сульфата; образуется осадок сероватого цвета, переходящий в бледно-голубой.

Способность к окислению

Бутатион, как производное полностью гидрированной системы, довольно устойчив к окислению. Поэтому он окисляется только в жестких условиях, например при действии кристаллического натрия нитрита в присутствии серной кислоты концентрированной при нагревании. В данной реакции фенолбутазон, как циклический гидразид, подвергается гидролитическому расщеплению с образованием бутилмалоновой кислоты и гидразобензола. Кислота бутилмалоновая декарбоксилируется (наблюдается выделение пузырьков CO_2), а гидразобензол окисляется до азобензола, появляется вишнево-красное окрашивание:



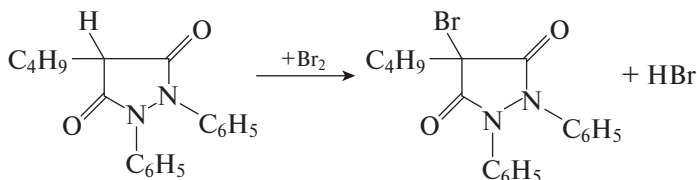
Реакция окисления бутатиона

Это испытание применяется как реакция подлинности на бутатион.

Методика. 0,1 г лекарственного вещества растворяют в 3 мл серной кислоты концентрированной, добавляют 0,02 г натрия нитрита и слегка нагревают; появляется оранжевое окрашивание, переходящее в стойкое вишнево-красное, одновременно наблюдается выделение пузырьков газа.

Реакции электрофильного замещения

Атом водорода при С-4 может замещаться на электрофилы, например Br^+ . При действии бромной воды образуется бромзамещенное бутадiona, имеющее определенную температуру плавления:

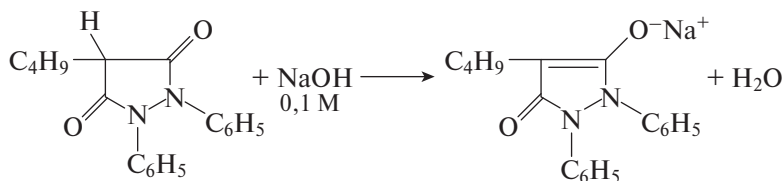


Данная реакция может быть использована для количественного определения бутадiona броматометрическим методом.

Количественное определение бутадiona

Основано на его кислотных свойствах и проводится методом алкалиметрии.

Лекарственное вещество титруют 0,1 М стандартным раствором натрия гидроксида в среде ацетона, который растворяет бутадion и препятствует гидролизу образующейся натриевой соли:

**6.3.4. Производные бензимидазола****6.3.4.1. Дибазол (бендазола гидрохлорид)****Физико-химические свойства**

Белый или белый со слегка сероватым оттенком кристаллический порошок. Гигроскопичен. Трудно растворим в воде и хлороформе, легко растворим в спирте, малорастворим в ацетоне, практически нерастворим в эфире.

Химические свойства и оценка качества

Дибазол — соль азотистого органического основания, основные свойства которого обусловлены гетероатомом азота в положении 3 («пиридиновый»).

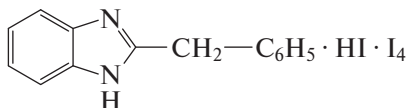
Благодаря основности дибазол образует нерастворимые комплексные соли с общеалкалоидными осадительными реактивами: Люголя, Драгендорфа, пикриновой и кремневольфрамовой кислотами.

Реакции с общеалкалоидными реактивами

Методика. 0,02 г дибазола растворяют в 5 мл воды, прибавляют 3 капли хлороводородной кислоты разведенной и 3—5 капель соответствующего реактива. Отмечают цвет осадка.

Реакция с раствором йода в кислой среде

Применяется в качестве испытания на подлинность. При этом образуется полийодид или периодид дибазола в виде красновато-серебристого осадка состава:



Методика. 0,02 г лекарственного вещества растворяют в 5 мл воды, прибавляют 3 капли хлороводородной кислоты разведенной, 2—3 капли 0,05 М раствора йода и взбалтывают; образуется красновато-серебристый осадок.

Кислотные свойства дибазола

В молекуле дибазола находится также NH-кислотный центр в С-1. Поэтому он дает комплексные соли с ионами тяжелых металлов (Ag^+ ; Co^{2+}). Кислотные свойства дибазола учитываются при обнаружении хлорид-иона. Во избежание образования серебряной соли дибазола предварительно осаждают основание раствором аммиака. Раствор натрия гидроксида применять нецелесообразно из-за кислотных свойств лекарственного вещества. Осадок основания отфильтровывают и в фильтрате обнаруживают хлорид-ион.

Методика. 0,02 г лекарственного вещества растворяют в 3 мл воды, прибавляют 1 мл раствора аммиака и образующийся осадок отфильтровывают. Фильтрат, подкисленный 2,5 мл азотной кислоты разведенной, дает характерную реакцию на хлориды с раствором серебра нитрата.

Количественное определение дибазола

Проводят методом кислотно-основного титрования в безводной уксусной кислоте (протогенный растворитель). Титруют 0,1 М раствором хлорной кислоты в присутствии ацетата окисной ртути. Индикатор — кристаллический фиолетовый.

6.3.5. Производные пиридина

К ним относятся лекарственные вещества как природного происхождения, так и полученные путем синтеза. Принадлежность к данной группе позволяет провести с ними общегрупповые реакции на цикл пиридина, например реакцию Цинке, пиролиз, нагревание с уксусным ангидридом и лимонной кислотой. Наличие других функциональных групп используют для проведения частных реакций подлинности.

Общие реакции

Пиролиз

При нагревании в сухом виде производных пиридина с натрия карбонатом образуется пиридин, обнаруживаемый по характерному запаху.

Методика. Лекарственное вещество массой 0,1 г нагревают с 0,1 г натрия карбоната; ощущается запах пиридина.

Получение производного глутаконового альдегида (реакция Цинке)

Методика. К 0,01—0,05 г лекарственного вещества (изониазида, фтивазида, кислоты никотиновой) или к 2—3 каплям 25% раствора диэтиламида кислоты никотиновой прибавляют 0,05 г 2,4-динитрохлорбензола, 3 мл 95% спирта и кипятят в течение 2—3 мин. После охлаждения прибавляют 2 капли раствора натрия гидроксида — появляется красно-бурое окрашивание, переходящее в красновато-кирпичное (изониазид), желтовато-бурое, усиливающееся при стоянии (фтивазид), буро-красное (кислота никотиновая), фиолетовое (25% раствор диэтиламида кислоты никотиновой).

Образование дианилглутаконового альдегида

Методика. К 1 мл 0,5% раствора лекарственного вещества (кислоты никотиновой, никотинамида, изониазида) прибавляют 1 каплю 5% раствора аммония роданида, 0,5 мл 5% раствора хлорамина Б, 4 капли раствора натрия гидроксида, 3 мл насыщенного раствора анилина и встряхивают; появляется желтое окрашивание.

Частные реакции**Реакции кислотно-основного типа**

Лекарственные средства производных пиридина имеют амфотерный характер, обусловленный соответствующими структурными элементами их молекул. Кислотно-основные свойства лежат в основе испытаний на подлинность лекарственных веществ данной группы.

Например, фтивазид, как амфотерное вещество, растворяется в кислотах и щелочах. Окраска образующихся при этом соединений обусловлена наличием сопряженных двойных связей и ионизированного состояния солей. При добавлении щелочи образуется фенолят оранжевого цвета, а при добавлении кислоты — соль пиридиния такого же цвета.

Благодаря кислотным свойствам кислота никотиновая образует нерастворимые соли с ионами тяжелых металлов. Так, с ионами меди (II) образуется осадок никотината меди синего цвета.

Для получения медной соли никотиновую кислоту предварительно переводят в ионизированное состояние (натриевую соль), растворяя в щелочи. Необходимо учитывать реакцию среды после добавления раствора щелочи; она должна быть нейтральной во избежание образования гидроксида меди.

Методика. 0,05 г лекарственного вещества растворяют в 2 мл 0,1 М раствора натрия гидроксида, фильтруют, добавляют по каплям раствор меди сульфата; постепенно образуется осадок синего цвета.

Реакция с никотиновой кислотой

Методика. К 3 мл теплого раствора лекарственного вещества (1 : 100) приливают 1 мл раствора сульфата меди; образуется синий осадок.

Реакция комплексообразования с железа (III) хлоридом

Фенольный гидроксил пиридоксина гидрохлорида обуславливает реакцию комплексообразования с железа (III) хлоридом. При действии его на 0,1% раствор лекарственного вещества появляется красное окрашивание, исчезающее при добавлении разведенной кислоты хлороводородной.

Окислительно-восстановительные реакции

Характерны для изониазида и фтивазида, которые, как производные гидразина, проявляют восстановительную способность.

Для идентификации изониазида используют реакции окисления серебра нитратом и меди сульфатом. В нейтральной среде изониазид с ионами серебра образует комплекс белого цвета, который при нагревании разрушается с образованием металлического серебра, азота и кислоты изоникотиновой. В кислой среде изониазид с солями серебра не реагирует.

В аммиачной среде реакция протекает мгновенно с образованием металлического серебра.

Методика. 0,01 г лекарственного вещества растворяют в 2 мл воды и прибавляют 1 мл аммиачного раствора нитрата серебра; образуется темный осадок; при нагревании на водяной бане на стенках пробирки наблюдается «серебряное зеркало».

Взаимодействие изониазида с сульфатом меди

На первой стадии образуется осадок комплексной соли синего цвета. При последующем нагревании идет уже окислительно-восстановительная реакция с образованием оксида меди (I) желтого цвета и выделением пузырьков молекулярного азота.

Методика. 0,1 г лекарственного вещества растворяют в 5 мл воды и прибавляют 4—5 капель раствора меди сульфата; выделяется голубой осадок; при встряхивании раствор также окрашивается в голубой цвет. При нагревании раствор и осадок становятся светло-зеленого цвета и выделяются пузырьки газа.

Реакции гидролитического расщепления

Реакции характерны для лекарственных средств, содержащих амидную связь.

Никотинамид и диэтиламид кислоты никотиновой при нагревании в растворах щелочей разлагаются соответственно с образованием аммиака и диэтиламина, обнаруживаемых по запаху.

1) 0,1 г никотинамида нагревают с 2 мл 0,1 М раствора натрия гидроксида; появляется запах аммиака.

2) При кипячении 2—3 капель диэтиламида кислоты никотиновой с 3 мл раствора натрия гидроксида выделяется диэтиламин, который обнаруживают по характерному запаху.

Реакцию гидролитического разложения щелочью можно использовать не только для установления подлинности данных лекарственных средств, но также и для их количественного определения.

Изониазид и фтивазид, как гидразиды кислоты изоникотиновой, гидролизуются с образованием исходных продуктов синтеза. Данная реакция используется для идентификации фтивазида.

Образующийся в результате реакции ванилин обнаруживают по цветной реакции с камфорой (при нагревании с серной кислотой концентрированной проявляется фиолетовое окрашивание) или по характерному запаху.

Реакции электрофильного замещения

Характерны для пиридоксина гидрохлорида как для фенола, имеющего свободное *пара*-положение. К ним относятся реакции образования азокрасителя и индофенолового красителя. Последняя используется для определения подлинности, а также количественного спектрофотометрического анализа.

Индофенольный краситель извлекают бутанолом, слой которого окрашивается в голубой цвет.

6.3.6. Производные хинолина

Производные хинолина, изучение которых берет начало с открытием алкалоидов коры хинного дерева, — многочисленная группа лекарственных веществ, обладающих, главным образом, антибактериальным действием. Большинство из них вступают в реакции с общеалкалоидными осадительными реактивами.

Специфическими реакциями на хинин являются таллейохинная и эритрохинная пробы.

Таллейохинная проба

Данная реакция специфична для определения хинина и хинидина и основана на окислении метоксидной группы хинолинового ядра бромной водой с образованием продуктов окисления: 5,6-*орто*-хинона и 5,6,7-тригидроксипроизводного. При последующем действии аммиака происходит конденсация этих соединений с образованием таллейохина, окрашенного в изумрудно-зеленый цвет.

Другие алкалоиды хинного дерева, такие как цинхонин и цинхонидин, не содержащие метоксидной группы, этой реакции не дают.

Методика. 0,05% раствора лекарственного вещества смешивают с 1 мл разведенной (1 : 4) бромной воды и добавляют 2 мл раствора аммиака; появляется зеленое окрашивание.

Образование эритрохина

Методика. 3 мл 0,05% раствора соли хинина подкисляют каплей уксусной кислоты разведенной. Затем при перемешивании приливают по каплям разведенную бромную воду до устойчивой желтой окраски. На каждые n капель прибавленной бромной воды добавляют $n/5$ капель 10% раствора калия гексацианоферрата (III) и затем разведенный раствор аммиака до слабощелочной реакции. Появляется красная окраска, при встряхивании переходящая в хлороформный слой.

Флуоресценция сернокислых растворов

Водные растворы солей хинина и хинидина в присутствии серной кислоты характеризуются голубой флуоресценцией.

Методика. К 5 мл 0,05% раствора лекарственного вещества в воде прибавляют 2—3 капли серной кислоты разведенной — наблюдается голубая флуоресценция.

Образование герепатита

Спиртовые растворы солей хинина, подкисленные кислотой серной, при взаимодействии со спиртовым раствором йода образуют характерные (в виде листочков) зеленые кристаллы герепатита $4C_{20}H_{24}O_2N_2 \cdot 3H_2SO_4 \cdot 2HI \cdot I_4 \cdot 6H_2O$.

Методика. К 0,05 г лекарственного вещества (в сухой пробирке) прибавляют 3 мл 95% спирта, 0,5 мл 16% раствора серной кислоты, встряхивают и нагревают 1—2 мин на водяной бане. В горячий раствор добавляют 1 мл спиртового раствора йода и сразу охлаждают под краном.

6.3.6.1. Производные 8-оксихинолина

Химические свойства хинозола определяются фенольным гидроксилом и третичным атомом азота хинолинового ядра.

Выделение основания (8-оксихинолина)

Хинозол является солью органического основания, которое можно выделить действием натрия карбоната. В избытке последнего осадок растворим, что обусловлено кислотными свойствами фенольного гидроксила, усиленными соседством электроотрицательного атома азота.

Реакции на фенольный гидроксил

Хинозол и нитроксолин дают групповую реакцию на фенольный гидроксил с раствором железа (III) хлорида. Особенность взаимодействия лекарственных веществ с солями железа (а также солями магния, меди и др.) заключается в том, что в результате образуются прочные хелатные комплексы, не разрушающиеся даже минеральными кислотами.

Методика. К 5 мл раствора хинозола (1 : 10) прибавляют 1—2 капли раствора железа (III) хлорида; появляется синевато-зеленое окрашивание, не исчезающее при добавлении раствора хлороводородной кислоты.

Реакция с солью диазония

Хинозол как фенол, имеющий свободные *орто*- и *пара*-положения, вступает в реакцию сочетания с солью диазония, образуя азокраситель ярко-красного цвета.

Характерной особенностью нитроксолина является наличие ароматической нитрогруппы, за счет которой препарат дает реакцию образования азокрасителя. Для этого нитрогруппу предварительно восстанавливают до первичной ароматической аминогруппы, затем проводят диазотирование и азосочетание со щелочным раствором β -нафтола.

Методика. К 0,01 г лекарственного вещества добавляют 5 мл хлороводородной кислоты разведенной, 0,01 г цинковой пыли и нагревают на кипящей водяной бане до растворения. К раствору прибавляют 3 капли 0,1 М раствора натрия нитрита и взбалтывают. Полученный раствор прибавляют к 3 мл щелочного раствора β -нафтола; появляется красно-оранжевое окрашивание.

Реакция комплексообразования хинозола с солями магния, меди, железа

Методика. 0,01 г лекарственного вещества растворяют в 5 мл 0,1 М раствора хлороводородной кислоты, добавляют 1 мл раствора железа (III) хлорида; появляется черно-зеленое окрашивание.

6.3.6.2. Производные 4-аминохинолина

Окисление хлорохина

Хлорохина фосфат и гидроксихлорохина сульфат, как соли азотистых оснований, дают осадки с общеалкалоидными осадительными реактивами.

Указанные препараты окисляются при действии различных окислителей в присутствии концентрированной серной кислоты.

Методика. К 0,02 г хлорохина фосфата прибавляют 5 мл раствора серной кислоты концентрированной и 3 капли 5% раствора дихромата калия; появляется красное окрашивание, быстро переходящее в красно-коричневое.

6.3.6.3. Производные 4-хинолона

Определение подлинности

Лекарственные вещества группы 4-хинолона образуют устойчивые хелаты красного цвета с солями трехвалентного железа.

Методика. К 5 мл раствора ципрофлоксацина (1 : 10) прибавляют 1—2 капли раствора железа (III) хлорида; появляется темно-красное окрашивание.

У производных фторхинолона после минерализации определяют ковалентно связанный атом фтора (в виде фторида). Для этого проводят характерные для фторид-иона реакции: с солями кальция, образование фтористоводородной кислоты с последующим травлением стекла, взаимодействие с цирконий-ализариновым комплексом.

6.3.7. Производные изохинолина

Изучение алкалоидов мака снотворного привело к созданию наркотических анальгетиков (морфина, кодеина и их синтетических аналогов) и спазмолитиков, таких как папаверина гидрохлорид и дротаверина гидрохлорид.

6.3.7.1. Производные бензилизохинолина

Папаверина гидрохлорид и дротаверина гидрохлорид — самые распространенные спазмолитики.

Как азотистые основания, оба препарата взаимодействуют с общеосадительными алкалоидными реактивами.

Особенностью папаверина является проявление веществом очень слабых основных свойств. Поэтому выделение основания папаверина из его соли проводят не щелочью, а раствором ацетата натрия. Это обстоятельство используют при определении подлинности препарата.

Восстановительные свойства папаверина гидрохлорида

Методика

1) К 0,1 г лекарственного вещества прибавляют 1 мл серной кислоты концентрированной и нагревают; появляется фиолетовое окрашивание.

2) 0,05 г лекарственного вещества помещают в фарфоровую чашку, смачивают 2 каплями азотной кислоты концентрированной; появляется желтое окрашивание, которое при нагревании на водяной бане переходит в оранжевое.

Коралиновая проба

В результате взаимодействия при нагревании папаверина с уксусным ангидридом в присутствии серной кислоты концентрированной возникает ярко-желтое окрашивание с зеленой флуоресценцией.

Методика. К 0,01 г лекарственного вещества добавляют 3 мл уксусного ангидрида и, осторожно, 0,15 мл серной кислоты концентрированной. Нагревают на водяной бане 3—4 мин. Возникает желтое окрашивание с зеленой флуоресценцией.

Чтобы выделить основание дротаверина из раствора его соли, следует использовать раствор щелочи, так как основные свойства дротаверина выражены в большей степени, чем у папаверина.

Выраженные восстановительные свойства дротаверина гидрохлорида можно доказать взаимодействием его с различными окислителями.

6.3.7.2. Производные фенантренизохинолина

К природным соединениям этого ряда относятся, в частности, морфин и кодеин. Как и другие алкалоиды, они взаимодействуют с общеалкалоидными осадительными реактивами.

Их выраженные восстановительные свойства обусловлены тем, что они являются частично гидрированными соединениями. Потому препараты этой группы — морфина гидрохлорид, морфина сульфат, кодеин и кодеина фосфат — взаимодействуют с различными окислителями, такими как реактивы Марки, Фреде, Эрмана и др.

6.3.8. Производные пиримидина

Среди лекарственных средств данной группы можно выделить производные барбитуровой кислоты (производные пиримидин-2,4,6-триона) (барбитал, барбитал-натрий, фенobarбитал, бензонал), обладающие снотворным и противосудорожным действием; гексенал и тиопентал-натрий применяются как средства для неингаляционного наркоза. Гексамидин (производное пиримидин-4,6-диона) можно рассматривать как производное фенobarбитала, но с более выраженным противосудорожным действием. Кроме того, к данной группе лекарственных средств относится метилурацил, ускоряющий процессы клеточной регенерации, а также противоопухолевые средства (фторурацил, фторафур и цитозин).

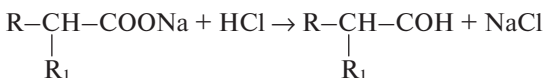
Барбитуровая кислота по химическому строению является циклическим уреидом, образованным мочевиной и двухосновной малоновой кислотой, благодаря чему подвергается гидролитическому расщеплению. Некоторые производные проявляют кислотные свойства, которые можно доказать по реакциям комплексообразования с солями тяжелых металлов. Структурные особенности строения производных урацила доказывают реакциями электрофильного замещения или после минерализации на фториды.

Реакция гидролитического расщепления

Доказывает строение производных барбитуровой кислоты как циклических уреидов. При сплавлении лекарственных средств с кристаллической щелочью

происходит расщепление молекулы барбитурата с образованием солей диалкилуксусной кислоты, аммиака и натрия карбоната.

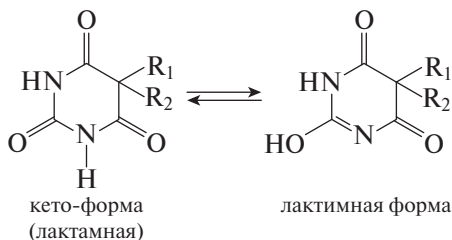
При последующем подкислении выделяются пузырьки газа (CO_2) и диалкилуксусная кислота с характерным запахом:



Методика. 0,1 г субстанции растирают в ступке с 0,2 г кристаллической щелочи, переносят в тигель и сплавляют. Выделившийся аммиак окрашивает влажную красную лакмусовую бумагу в синий цвет.

Кислотные свойства

Кислотные свойства барбитуратов-кислот (барбитал, фенобарбитал и др.) обусловлены лактам-лактимной таутомерией, что используется при проведении реакций подлинности, в количественном определении, при получении лекарственных средств в виде натриевых солей; учитывается при хранении, а также используется при проведении испытаний в тесте «Растворение».



Удельный показатель поглощения. Для барбитал-натрия и фенобарбитала $A_{1\text{см}}^{1\%}$ 320 при длинах волн 245 и 253 нм соответственно (в 0,1 М растворе натрия гидроксида).

Взаимодействие кислотных форм барбитуратов с раствором щелочи

Барбитураты-кислоты благодаря кислотным свойствам растворяются в растворах щелочи и натрия карбоната с образованием натриевых солей (при $\text{pH} \sim 10,0$) и динатриевых солей (при $\text{pH} \geq 13,0$).

Реакция применяется при получении натриевых солей барбитуратов и в количественном анализе кислотных форм барбитуратов.

Методика. К 0,1 г субстанции (барбитал, фенобарбитал) добавляют 2 мл воды, взбалтывают и добавляют 2 мл раствора щелочи; наблюдают растворение.

Гидролиз натриевых солей — производных барбитуровой кислоты

Барбитураты-соли в водных растворах имеют щелочную реакцию среды по фенолфталеину вследствие гидролиза.

Методика. К водному раствору барбитал-натрия (1 : 10) добавляют 1—2 капли фенолфталеина; появляется розовое окрашивание.

Выделение кислотной формы барбитуратов из натриевых солей

При действии минеральных кислот и даже углекислого газа воздуха на водные растворы натриевых солей барбитуратов происходит выделение осадка кислотной формы, нерастворимого в воде. Выделившуюся кислотную форму можно идентифицировать по температуре плавления.

Реакция используется для идентификации и количественного определения солей барбитуратов.

Методика. 0,3 г барбитал-натрия растворяют в 5 мл воды, прибавляют 1 мл кислоты хлороводородной разведенной, перемешивают и оставляют на 3—5 мин. Выделившийся осадок отфильтровывают, промывают водой до отрицательной реакции на хлориды и сушат при 100—105 °С до постоянной массы. Температура плавления выделенной диэтилбарбитуровой кислоты 189—192 °С.

Реакции комплексообразования с солями тяжелых металлов

Производные барбитуровой кислоты за счет кислотных свойств образуют комплексные соли с солями тяжелых металлов.

Комплексные соли образуются только с ионизированной формой лекарственного средства, поэтому кислотную форму предварительно переводят в соль, не допуская избытка щелочи во избежание образования осадков гидроксидов металлов.

Общегрупповыми являются реакции с раствором серебра нитрата, кобальта нитрата и меди сульфата.

Реакция комплексообразования раствором серебра нитрата

Натриевые соли производных барбитуровой кислоты, не имеющие заместителя в 1-м положении, образуют моносеребряные комплексные соли, растворимые в воде, в избытке серебра нитрата образуется дисеребряная соль, нерастворимая в воде.

Методика. К 1 мл раствора барбитал-натрия (1 : 10) прибавляют 1—2 капли 2% раствора серебра нитрата. Появляется муть белого цвета, исчезающая при встряхивании раствора. Затем добавляют 1 мл реактива — выпадает белый осадок.

Реакция комплексообразования раствором кобальта нитрата

С раствором кобальта нитрата образуются растворимые в воде, окрашенные в сине-фиолетовый цвет комплексные соединения. Образование их происходит в присутствии кальция хлорида и 95% спирта.

Методика. Для кислотных форм. 0,05 г субстанции растворяют в 2 мл 95% спирта, прибавляют 1 каплю раствора кальция хлорида, 2 капли раствора кобальта нитрата и 2 капли 0,1 М раствора натрия гидроксида; появляется сине-фиолетовое окрашивание. Для малых количеств: 0,001 г субстанции смешивают стеклянной палочкой в выпарительной чашке с 1 каплей 0,1 М раствора натрия гидроксида, затем добавляют 1 каплю раствора кальция хлорида, 2 кап-

ли раствора кобальта нитрата и перемешивают; появляется сине-фиолетовое окрашивание.

Для натриевых солей. 0,1 г препарата растворяют в 2 мл воды, добавляют 1—2 капли хлороводородной кислоты, 3 мл эфира и встряхивают в течение 2—3 мин, эфирный слой отделяют и выпаривают досуха. Остаток растворяют в 2 мл 95% спирта, добавляют 1 каплю раствора кальция хлорида, 2 капли раствора кобальта нитрата и 2 капли раствора натрия гидроксида; появляется сине-фиолетовое окрашивание. Для малых количеств: 0,001 г субстанции смешивают в фарфоровой чашке с 1 каплей раствора кальция хлорида и 2 каплями раствора кобальта нитрата; появляется сине-фиолетовое окрашивание.

По МФ III: К раствору 0,02 г субстанции в 5 мл 95% этанола прибавляют по 1 капле раствора кобальта хлорида и аммиака, появляется фиолетовое окрашивание.

Реакция комплексообразования с раствором меди сульфата

Производные барбитуровой кислоты образуют комплексные соединения с раствором меди сульфата различной окраски, нерастворимые в воде. Реакция общегрупповая, но находит применение для идентификации отдельных представителей данной группы лекарственных средств.

Реакция проводится в буферном растворе калия гидрокарбоната и калия карбоната, которые создают определенное значение pH раствора.

Даже при незначительном избытке щелочи может образоваться меди (II) гидроксид — аморфный осадок голубого цвета, маскирующий цвет комплекса.

Раствор калия гидрокарбоната и калия карбоната должен быть свежеприготовленным.

Методика. Для натриевых солей. 0,1 г субстанции растворяют в 1 мл воды, прибавляют 0,2 мл раствора калия гидрокарбоната и калия карбоната и 0,1 мл раствора меди сульфата; наблюдают результат реакции.

Для кислотных форм. 0,1 г субстанции взбалтывают с 1 мл 1% раствора натрия гидроксида в течение 1—2 мин, прибавляют 0,2 мл раствора калия гидрокарбоната и калия карбоната и 0,1 мл раствора меди сульфата; наблюдают результат реакции.

Модифицированная методика. Предварительно готовят раствор меди сульфата в растворе калия гидрокарбоната и калия карбоната: к 1 мл раствора меди сульфата прибавляют примерно двойной объем раствора калия гидрокарбоната и калия карбоната до растворения образующегося сначала осадка (раствор А).

Для натриевых солей. 0,1 г субстанции растворяют в 1 мл воды и прибавляют раствор А, наблюдают результат реакции.

Для кислотных форм. 0,1 г субстанции взбалтывают с 1 мл 0,1 М раствора натрия гидроксида в течение 1—2 мин, прибавляют раствор А, наблюдают результат реакции (табл. 6.19).

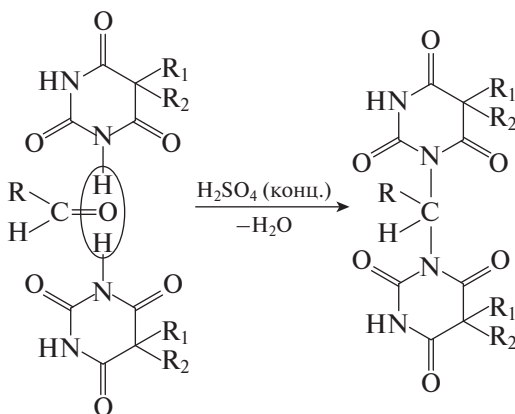
Таблица 6.19

Окраска комплексных солей барбитуратов с раствором меди сульфата

Лекарственное средство	Окраска комплексной соли
Барбитал-натрий	Синее окрашивание, затем выпадает осадок красновато-сиреневого цвета
Барбитал	Аналогично
Бензонал	Серо-голубое окрашивание
Гексенал	Голубое окрашивание, переходящее в ярко-синее, затем выпадает белый осадок
Тиопентал натрия	Желто-зеленое окрашивание со взвешенным осадком
Фенобарбитал	Мгновенно появляется осадок бледно-сиреневого цвета, не изменяющийся при стоянии

Реакции конденсации барбитуратов с альдегидами

Барбитураты вступают в реакцию конденсации с альдегидами: формальдегидом и *para*-диметиламинобензальдегидом в присутствии серной кислоты концентрированной с образованием окрашенных продуктов. Реакции могут служить для идентификации лекарственных средств данной группы:



Для фенобарбитала, барбитала. 0,01 г субстанции растворяют при нагревании на водяной бане в 1 мл 30—40% раствора формальдегида, охлаждают и осторожно приливают по стенкам пробирки 1—2 мл серной кислоты концентрированной, нагревают на водяной бане и наблюдают окрашивание: фенобарбитал образует розовое кольцо на границе жидкостей; барбитал — желтое кольцо с флуоресценцией.

Для барбитала и барбамила. 0,01—0,02 г субстанции растворяют в 10 каплях серной кислоты концентрированной, добавляют 10 капель раствора *para*-диметиламинобензальдегида, нагревают на водяной бане (проводят контрольный опыт) и наблюдают окрашивание: барбитал образует желтоватое кольцо, барбамил — коричневато-шоколадный раствор с зеленой флуоресценцией через 1—2 мин.

Частные реакции**Обнаружение фенобарбитала**

Фенобарбитал при С-5 несет заместитель — фенильный радикал, поэтому возможны реакции электрофильного замещения в ароматическом ядре, например нитрование. Фенобарбитал нитруют в жестких условиях: кристаллическим натрия нитратом в среде серной кислоты концентрированной при нагревании. Полученное нитропроизводное восстанавливают до ароматического амина цинком в кислой среде. Далее проводят диазотирование ароматической аминогруппы и азосочетание с β -нафтолом. Получают азокраситель вишнево-красного цвета.

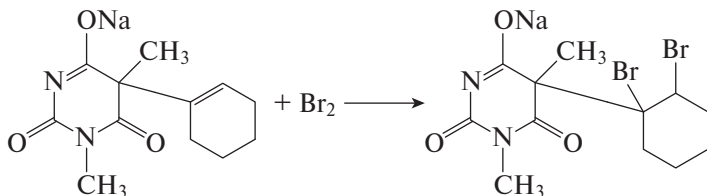
Методика. К 0,1 г фенобарбитала прибавляют 1 мл серной кислоты концентрированной, 0,3—0,5 г натрия нитрата и нагревают на водяной бане 10 мин, появляется желтое окрашивание раствора (нитрофенобарбитал). В охлажденный раствор добавляют 10 мл воды и цинковую пыль. Через 10—15 мин раствор отфильтровывают, к фильтрату добавляют 2—3 капли 2% раствора натрия нитрита. Полученный раствор добавляют каплями в щелочной раствор β -нафтола до образования вишнево-красного окрашивания (азокраситель).

Обнаружение серы в тиопентале натрия

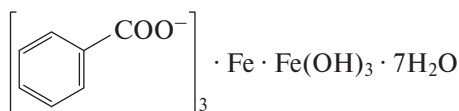
Методика. 0,2 г субстанции растворяют в 5 мл раствора натрия гидроксида, прибавляют 2 мл раствора свинца ацетата и кипятят; выпадает темный осадок; при охлаждении и подкислении хлороводородной кислотой концентрированной выделяется сероводород, обнаруживаемый по запаху и по потемнению фильтровальной бумаги, смоченной раствором свинца ацетата.

Реакция гексенала на неопределенную связь

К 5 мл раствора субстанции (1 : 100) в воде прибавляют по каплям бромную воду. Наблюдают обесцвечивание раствора.

**Реакция гексенала с раствором железа (III) хлорида и меди сульфата**

Бензонал содержит в структуре амидную связь, при гидролизе которой выделяется остаток бензойной кислоты, которую доказывают по реакции с раствором железа (III) хлорида, и меди сульфата.



Методика. 0,1 г субстанции взбалтывают в течение 1—2 мин с 2 мл 0,1 М раствора натрия гидроксида и фильтруют. Фильтрат делят на две части — к одной добавляют несколько капель раствора железа (III) хлорида, а к другой —

раствор меди сульфата; образуются осадки телесного и голубого цвета соответственно.

Реакция гексамидина с раствором динатриевой соли хромотроповой кислоты
В результате гидролиза гексамидина (производное пириимидин-4,6-диона) выделяется формальдегид, наличие которого доказывают с раствором динатриевой соли хромотроповой кислоты.

Методика. К 0,05 г субстанции приливают 5 мл свежеприготовленного 2% раствора динатриевой соли кислоты хромотроповой и 5 мл серной кислоты концентрированной и нагревают на сетке в течение 2—3 мин; появляется сиреневое окрашивание.

Реакции производных пириимидин-2,4-диона

Производные пириимидин-2,4-диона содержат в структуре неопредельную связь, которую доказывают по обесцвечиванию бромной воды, и ковалентносвязанный атом фтора (фторурацил, фторафур), который доказывают после минерализации металлическим натрием.

Методика

1) К 5 мл раствора субстанции в воде (1 : 100) (метилурацил, фторурацил, фторафур) прибавляют по каплям бромную воду. Наблюдают обесцвечивание реактива.

2) 0,5 г субстанции нагревают с 0,05 г расплавленного металлического натрия, охлаждают, осторожно прибавляют 2 мл воды, раствор фильтруют и к фильтрату прибавляют 0,5 мл уксусной кислоты ледяной. 0,1 мл этого раствора прибавляют к 0,2 мл смеси, состоящей из равных объемов свежеприготовленного раствора ализаринового красного С и 0,1% раствора циркония нитрата в хлороводородной кислоте; красный цвет раствора переходит в светло-желтый.

6.3.9. Производные пириимидилметилтиазола

6.3.9.1. Тиамин хлорид (бромид)

По составу лекарственное вещество является двойной солью. Четвертичный азот тиазолового цикла обуславливает образование четвертичных аммониевых солей (хлорид, бромид тиамин), а основные свойства пириимидинового цикла — образование комплексных солей с кислотами (гидрохлорид и гидробромид). Методы идентификации базируются на основных свойствах препарата, реакциях гидролиза и окисления.

Реакция с общеалкалоидными осадительными реактивами

Тиамин образует осадки с реактивами Драгендорфа, Люголя, Майера.

Методика. К 1 мл 0,2% раствора субстанции прибавляют по каплям один из перечисленных реактивов и наблюдают образование осадков.

Гидролитическое расщепление щелочью

В сильноокислой водной среде тиамин хлорид обладает высокой устойчивостью и не разрушается под действием энергичных окислителей. В щелочной

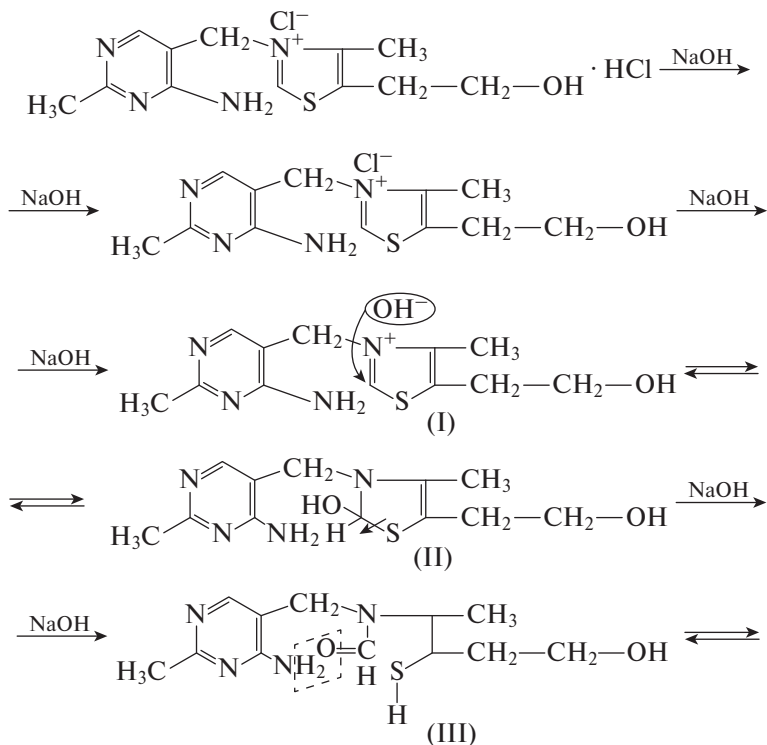
среде тиазольевый цикл тиамин становится неустойчивым и легко размыкается с образованием открытой тиольной формы тиамин — тиамин-тиола (см. «Реакция окисления тиамин в тиохром»).

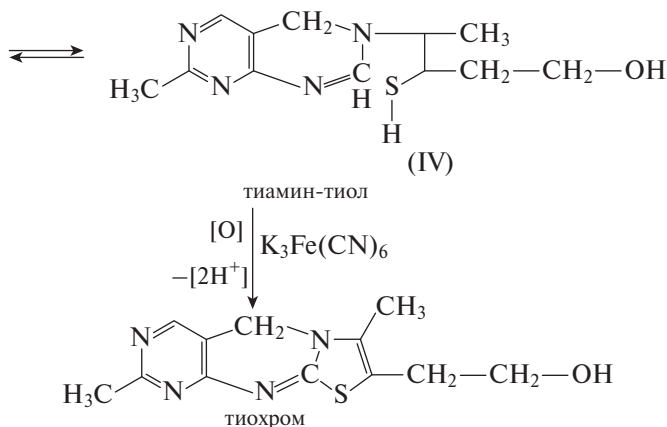
Реакция окисление тиамин в тиохром

Тиамины легко подвергаются окислению в щелочной среде. Эта реакция протекает через открытую тиольную форму с образованием трициклического соединения — тioxрома. Превращение тиаминa в тioxром в щелочной среде происходит под влиянием только сильных окислителей (калия перманганата, водорода пероксида, калия гексацианоферрата (III)). Окисление идет за счет раскрытого тiazолиевого кольца. Тioxром в УФ-свете имеет характерную синюю флуоресценцию. Реакция специфическая, применяется для установления подлинности тиаминa и его количественного флуориметрического определения.

Методика. 0,05 г субстанции растворяют в 25 мл воды. К 5 мл раствора приливают 1 мл раствора калия гексацианоферрата (III), 1 мл раствора натрия гидроксида, 5 мл бутилового или изоамилового спирта, хорошо встряхивают и дают отстояться. В верхнем слое возникает наблюдаемая в УФ-свете синяя флуоресценция, исчезающая при подкислении и вновь возникающая при подщелачивании раствора.

Превращение в открытую тиольную форму происходит под воздействием трех эквивалентов щелочи:





Первая молекула щелочи идет на нейтрализацию кислоты (HCl, HBr), вторая — на образование четвертичного аммониевого основания (I). Промежуточной формой между четвертичным аммониевым основанием и тиамин-тиолом является псевдооснование (II). При действии трех эквивалентов щелочи происходит размыкание тиазольевого цикла с образованием открытой тиольной формы (III), находящейся в равновесном состоянии со своей циклической формой (IV), которая окисляется в тιοхром.

6.3.10. Производные пурина

К лекарственным средствам данной группы относятся кофеин, кофеин-бензоат натрия, теобромин, теофиллин, эуфиллин и др.

Кислотно-основные свойства

Кофеин является слабым основанием благодаря наличию атомов кислорода в оксоформе, а также N-9 и растворяется в растворах кислот. Теобромин и теофиллин — амфотерные соединения. Кислотные свойства теобромина проявляются за счет лактам-лактимной таутомерии, для теофиллина характерна таутомерия, обусловленная миграцией протона от атома азота N-7 в пределах имидазольного кольца через C-8 к N-9 и в меньшей степени переходом протона в C-6 пиримидинового кольца. Основные свойства обусловлены азотом N-9.

Теобромин и теофиллин за счет кислотных свойств (наличие свободных протонов) растворяются в растворе натрия гидроксида. Теофиллин, в отличие от теобромина, растворяется в растворе аммиака, что используется в анализе чистоты теофиллина при определении примеси других пуриновых оснований.

Доказательство основных свойств

Производные пурина, как азотсодержащие основания с общеалкалоидными осадительными реактивами, образуют труднорастворимые в воде комплексные соли.

Кофеин реагирует характерно:

а) с раствором йода дает осадок только при подкислении хлороводородной или серной кислотами, образуя осадок перйодида кофеина $\text{Coff} \cdot \text{HI} \cdot \text{I}_4$ корич-

невого цвета, который растворяется при добавлении раствора натрия гидроксида. Реакция протекает количественно и применяется в доказательстве подлинности и количественном определении кофеина в кофеин-бензоате натрия (метод йодометрии, способ обратного титрования);

б) не реагирует с реактивом Майера, что может быть использовано для определения примесей посторонних алкалоидов;

в) осаждается танином, осадок растворим в избытке реактива.

Доказательство кислотных свойств

Реакции комплексообразования с солями тяжелых металлов. Теобромин и теофиллин образуют за счет кислотных свойств с солями тяжелых металлов нерастворимые в воде комплексные соли. Реакция общегрупповая, но находит применение для идентификации лекарственных веществ данной группы.

Образование серебряных солей. Методика. 0,5 г теобромина растворяют в смеси 3 мл воды и 6 мл 1% раствора щелочи (эквивалентное количество), добавляют 1 мл раствора аммиака и 2 мл 5% раствора серебра нитрата. При встряхивании образуется густая желатинообразная масса, которая разжижается при нагревании до 80 °С и снова застывает при охлаждении. Реакция с AgNO_3 применяется для количественного определения теофиллина и теобромина (косвенный метод нейтрализации, способ прямого титрования и метод аргентометрии, способ обратного титрования).

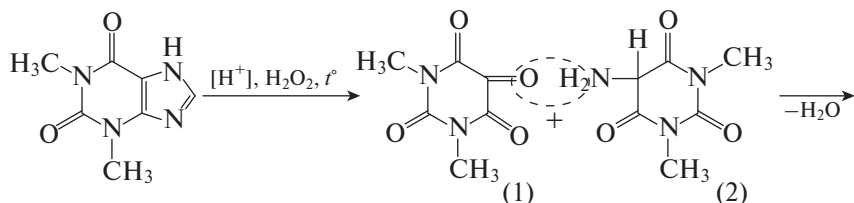
Образование комплексных солей с раствором кобальта хлорида. Методика.

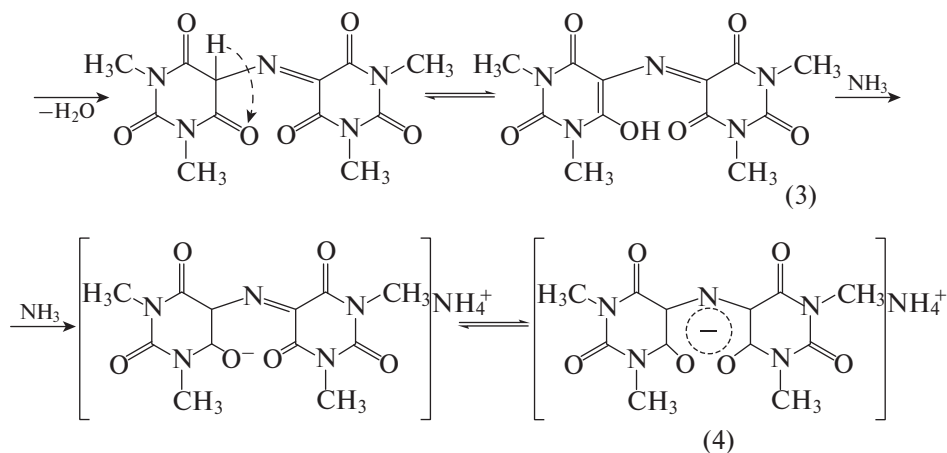
Примечание. Теобромин и теофиллин в нейтральной среде образуют комплексные соли различной окраски, нерастворимые в воде.

0,5 г теобромина или теофиллина растворяют в 2 мл 0,1 М раствора натрия гидроксида, встряхивают в течение 2—3 мин, фильтруют. К фильтрату прибавляют 3 капли раствора кобальта хлорида и перемешивают; теобромин образует быстро исчезающее фиолетовое окрашивание и осадок серовато-голубого цвета. Теофиллин в этих же условиях образует белый осадок с розоватым оттенком.

Реакция образования мурексида

Групповой реакцией на производные пурина является *мурексидная проба*. Реакция основана на окислительно-гидролитическом разложении производных пурина до пиримидинопроизводных (1,2), далее они конденсируются друг с другом с образованием пурпуровой кислоты (3), которая в присутствии аммиака переходит в мезомерно стабилизированный анион (4), окрашенный в красно-фиолетовый цвет (мурексид):



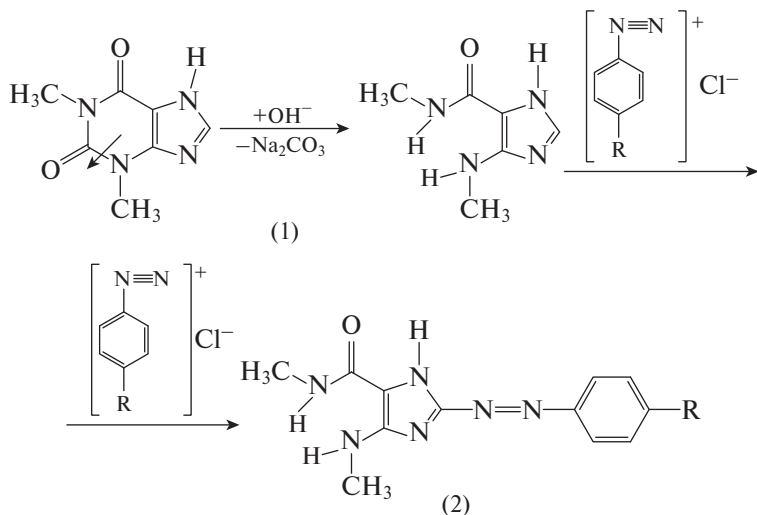


Методика. Около 0,01 г субстанции помещают в выпарительную чашку, прибавляют 10 капель хлороводородной кислоты разведенной, 10 капель 30% раствора водорода пероксида и выпаривают на водяной бане досуха. Остаток смачивают 1—2 каплями раствора аммиака, появляется пурпурно-красное окрашивание.

Реакция образования азокрасителя на теофиллин

При нагревании производных пурина с концентрированным раствором щелочи происходит размыкание пиримидинового цикла, что может использоваться для идентификации, например, теофиллина.

При нагревании теофиллина с раствором щелочи образуется теофиллидин, который в щелочной среде находится в виде аниона (1), в результате азосочетания образуется азокраситель красного цвета (2).



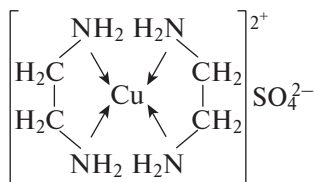
Методика. В тигле или выпарительной чашке к 0,1 г теофиллина прибавляют 2—2,5 мл 30% раствора натрия гидроксида, кипятят на сетке до образования

белой густой кашицы (на водяной бане 20 мин). Затем кашицу разводят водой (15—20 мл) — раствор А.

Отдельно готовят соль диазония (раствор Б) по следующей методике: к 0,1 г стрептоцида прибавляют 2 мл хлороводородной кислоты разведенной и 1 мл 0,1 М раствора натрия нитрита. К 5 мл раствора А приливают по каплям раствор Б. Появляется красное окрашивание.

Определение этилендиамина в эуфиллине

Методика. 0,05 г эуфиллина растворяют в 2 мл воды, прибавляют 5 капель раствора меди (II) сульфата; появляется ярко-фиолетовое окрашивание (комплексная соль).



Ультрафиолетовые спектры поглощения

Для кофеина $A_{1\text{см}}^{1\%}$ 400 при длине волны 273 нм (в 0,5 М растворе натрия гидроксида); теобромина $A_{1\text{см}}^{1\%}$ 391 и 568 при длинах волн 236 и 237 нм соответственно (в 0,5 М растворе натрия гидроксида); теофиллина $A_{1\text{см}}^{1\%}$ 662 при длине волны 274 нм (в 0,1 М растворе натрия гидроксида).

6.3.11. Производные птеридина

6.3.11.1. Фолиевая кислота

Молекула фолиевой кислоты состоит из трех основных частей: 2-амино-4-гидроксиптеридина (птерин), *пара*-аминобензойной кислоты и связанного с ней остатка глутаминовой кислоты.

Кислотно-основные свойства

Кислота фолиевая является амфотерным соединением. За счет основных свойств (обусловленных ядром птеридина) она малорастворима в хлороводородной кислоте разведенной и легко растворима в концентрированной. Более сильно у нее выражены кислотные свойства, связанные с енольным гидроксильным (при С-4) и карбоксигруппами. Поэтому она легко растворяется в растворах едких щелочей и карбонатов щелочных металлов, давая трехосновные соли.

За счет кислотных свойств кислота фолиевая с солями тяжелых металлов образует нерастворимые окрашенные комплексы, что используется для ее идентификации.

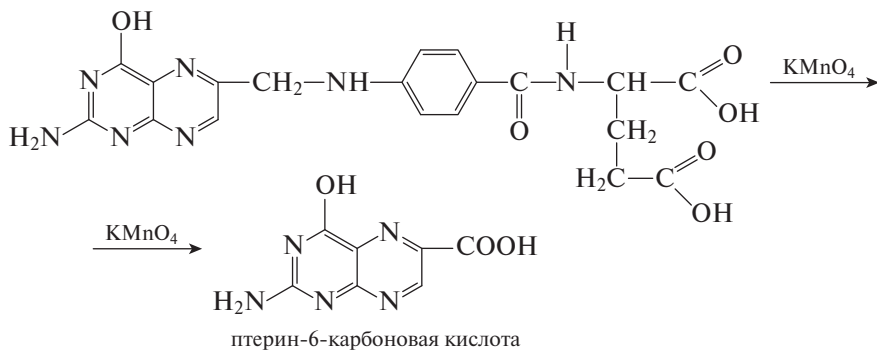
Методика. 0,01 г субстанции взбалтывают с 1—1,5 мл 0,1 М раствора натрия гидроксида в течение 2—3 мин и фильтруют: по 1—2 капли фильтрата переносят на часовое стекло и прибавляют 1 каплю раствора соли металла. При этом образуются окрашенные осадки: со свинца ацетатом — лимонно-желтый;

с меди (II) сульфатом — зеленый; серебра нитратом — желто-оранжевый; кобальта нитратом — темно-желтый; железа (III) хлоридом — красно-желтый.

При выполнении реакции важно не допускать избытка щелочи во избежание образования гидроксидов металлов.

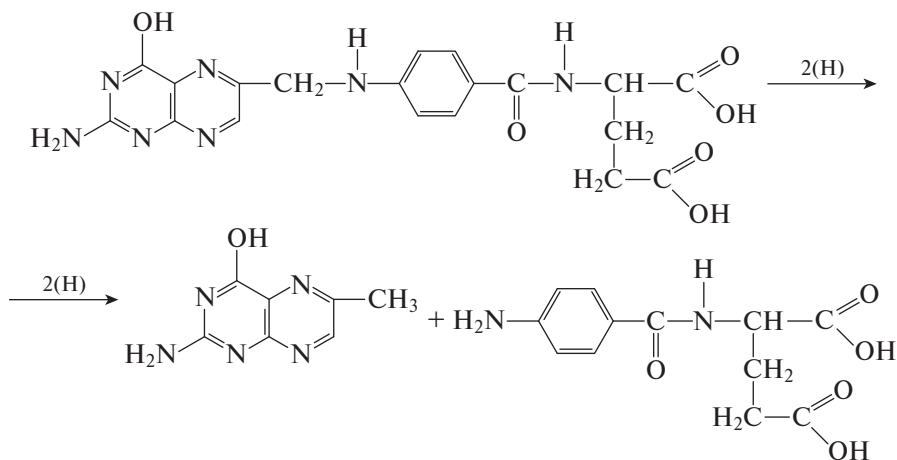
Способность к окислению

Для испытания подлинности фолиевой кислоты используют ее способность окисляться под действием калия перманганата с образованием птерин-6-карбоновой кислоты (2-амино-4-гидрокси-6-птеридилкарбоновая кислота), обладающей голубой флуоресценцией в УФ-свете:



Реакция образования азокрасителя

Эта реакция основана на предварительном восстановлении кислоты фолиевой цинком в щелочной или кислой среде до кислоты *para*-аминобензоилглутаминовой, последующем ее диазотировании и азосочетании:



Методика. 0,005—0,01 г субстанции растворяют в 1 мл разведенной хлороводородной кислоты, добавляют 0,02—0,03 г цинковой пыли, нагревают смесь в течение 10 мин на водяной бане, охлаждают, фильтруют. При прибавлении нескольких капель натрия нитрита получается соль диазония, образующая со щелочным раствором β-нафтола азокраситель красного цвета.

6.3.12. Производные изоаллоксазина

6.3.12.1. Рибофлавин

Физико-химические свойства

Рибофлавин имеет характерную ярко-желтую окраску, обусловленную наличием сопряженных двойных связей. Водные растворы (1 мг в 10 мл) его обладают зеленовато-желтой окраской и интенсивной желто-зеленой флуоресценцией в УФ-свете, которая исчезает при добавлении кислоты хлороводородной или щелочи. Это свойство используется для установления подлинности рибофлавина.

Рибофлавин способен поглощать излучение как в видимой, так и в УФ-областях спектра. Это свойство лежит в основе его идентификации и количественного анализа.

Для рибофлавина характерна оптическая активность, связанная с наличием оптических центров рибитильной цепочки.

Химические свойства и реакции подлинности

Кислотно-основные свойства и реакции комплексообразования

Рибофлавин имеет амфотерный характер. Кислотные свойства его связаны с подвижным атомом водорода имидной группы (N-3), а основные — с гетероциклическими атомами азота. Поэтому он растворим в растворах щелочей, хлороводородной и уксусной кислотах.

Как азотистое органическое основание, рибофлавин реагирует с общеалкалоидными осадительными реактивами, например реактивом Драгендорфа.

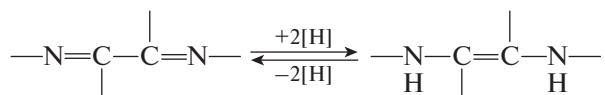
За счет кислотных свойств имидной группы рибофлавин образует нерастворимые интенсивно окрашенные комплексные соли с солями серебра, меди, кобальта и др.

Реакция комплексообразования с серебра нитратом

Методика. К 2 мл 0,1% раствора рибофлавина прибавляют 1 мл 2% раствора серебра нитрата — появляется оранжевое окрашивание, переходящее со временем в красное.

Окислительно-восстановительные свойства

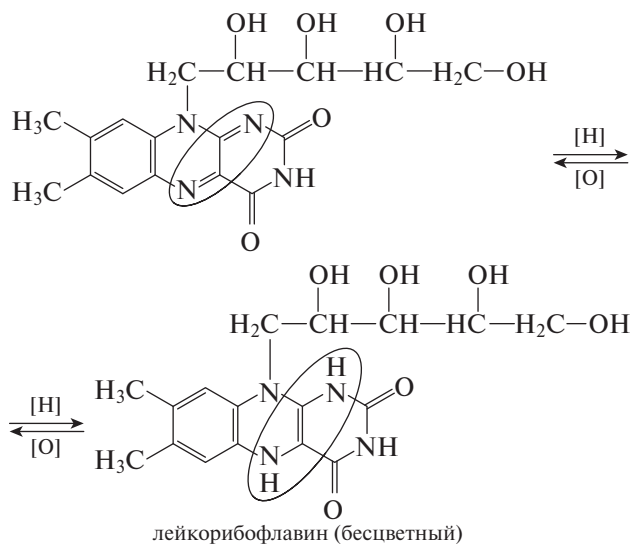
Рибофлавин обладает окислительно-восстановительными свойствами благодаря изоаллоксазиновой группировке:



Он восстанавливается с присоединением двух протонов и двух электронов в лейкорибофлавин (дигидрорибофлавин), теряя при этом свою желтую окраску. Дигидрорибофлавин легко вновь окисляется в рибофлавин уже при воздействии кислорода воздуха. Это свойство используется для его идентификации.

Идентификация рибофлавина

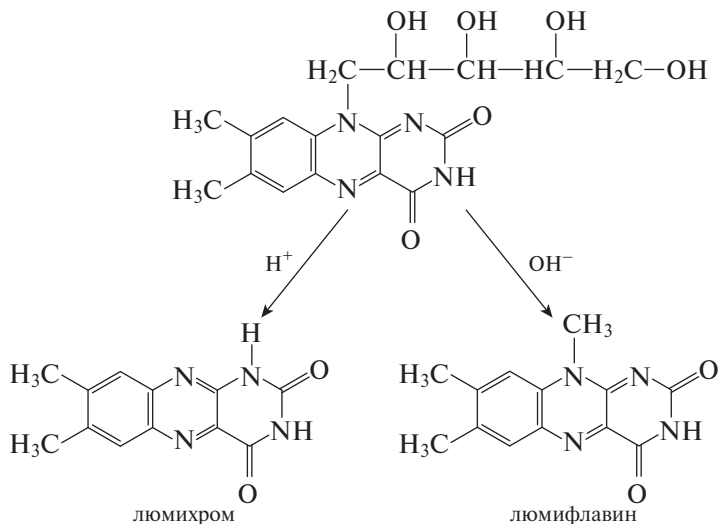
При добавлении к водному раствору рибофлавина (1 мг в 100 мл) натрия гидросульфита окраска и флуоресценция исчезают.



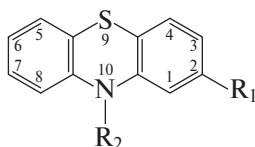
Взаимодействие с кислотой серной концентрированной

Крупинка рибофлавина, смоченная каплей серной кислоты концентрированной (в фарфоровой чашке), дает вишнево-красное окрашивание.

Характерной особенностью рибофлавина является большая светочувствительность. Под влиянием света происходят глубокие изменения в химической структуре рибофлавина, зависящие от pH среды, в результате чего образуются люмикром (практически бесцветное соединение) и люмифлавин (желтого цвета).



6.3.13. Производные фенотиазина



Вещества данной группы, являющиеся гидрохлоридами третичных аммониевых оснований, наряду с гетероатомом азота в цикле фенотиазина содержат гетероатом серы. Наличием гетероатома серы в первую очередь обусловлена легкая окисляемость производных фенотиазина.

Определение подлинности

Выделение оснований при действии растворов щелочей

Как гидрохлориды азотистых оснований, лекарственные вещества группы фенотиазина при действии на их водные растворы разведенными растворами щелочей выделяют основания.

Методика. 0,1 г субстанции растворяют в 5 мл воды и прибавляют 0,5 мл раствора натрия гидроксида; выпадает осадок, спустя 5 мин осадок отфильтровывают через плотный бумажный фильтр; фильтрат дает характерную реакцию на хлориды.

Образование пикратов

Лекарственные вещества группы фенотиазина, как и другие азотистые основания, образуют осадки с общеалкалоидными осадительными реактивами, например с пикриновой кислотой. Образующиеся пикраты имеют характерную температуру плавления.

Методика. 0,05 г аминазина (или другого лекарственного вещества группы фенотиазина) растворяют в 5 мл воды и прибавляют 3 мл 1% раствора пикриновой кислоты в 95% спирте; выпадает осадок желтого цвета.

Реакция окисления

В качестве окислителей применяют серную кислоту концентрированную, бромную воду и другие окислители. Цвет продуктов реакции, представляющих по строению свободные радикалы (при потере электронов атомом азота или серы), зависит от характера заместителя при С-2.

В качестве окислителей могут быть также применены растворы калия бромата или калия йодата в кислой среде.

Методика. К 1 мл 0,1% водного раствора лекарственного вещества прибавляют 3 капли 1% водного раствора калия бромата и 3 капли раствора хлороводородной кислоты разведенной. Аминазин и этаперазин образуют малиновое окрашивание; пропазин — красно-коричневое; дипразин — красное; трифтазин, фторфеназин — оранжевое; метеразин, динезин — бледно-розовое.

6.3.14. Производные 1,4-бензодиазепина

Лекарственные вещества этой группы, за исключением нитразепама и хлорзепада, представляют собой белые или белые со слегка желтоватым или кремоватым оттенком кристаллические порошки. Нитразепам — кристаллический порошок светло-желтого цвета; хлорзепид — белый или светло-желтый мелкокристаллический порошок. Все лекарственные средства данной группы практически нерастворимы в воде, трудно растворимы в 95% спирте, мало — в эфире и хлороформе (сибазон растворим в хлороформе).

Все лекарственные вещества характеризуются определенной температурой плавления.

Химические свойства и определение подлинности

Кислотно-основные свойства

1,4-Бензодиазепины проявляют свойства слабых оснований (гетероатом азота N-4). При введении в ядро 1,4-бензодиазепинов карбонильных и оксигрупп основность их снижается. Феназепам, например, в среде метилэтилкетона ведет себя как слабое однокислотное основание ($pK_b = 12,31 \pm 0,05$). Основность азота в азометиновой группе сильно снижается за счет сопряжения с кольцом бензола при C-5.

Присоединение протона при взаимодействии с кислотой происходит за счет гетероатома азота N-4. Исключение составляет хлорзепид, у которого положительный заряд при присоединении протона распределяется по триаде между гетероатомом азота N-1 и атомом азота метиламиногруппы N-2.

Слабоосновные свойства бензодиазепинов лежат в основе их количественного определения методом кислотно-основного титрования в неводных средах.

Бензодиазепины, как азотсодержащие основания, могут давать реакции с общеалкалоидными осадительными реактивами. Например, сибазон образует розовый осадок с аммония рейнекатом в кислой среде.

С концентрированными кислотами (серной, хлороводородной, хлорной) 1,4-бензодиазепины образуют окрашенные соли, которые флуоресцируют в УФ-свете. Это испытание используется для идентификации лекарственных веществ. С серной кислотой концентрированной сибазон дает в УФ-свете зеленовато-голубую флуоресценцию, нитразепам — голубую флуоресценцию, феназепам — ярко-зеленую флуоресценцию и желтую окраску.

Флуоресценция окрашенных солей 1,4-бензодиазепинов

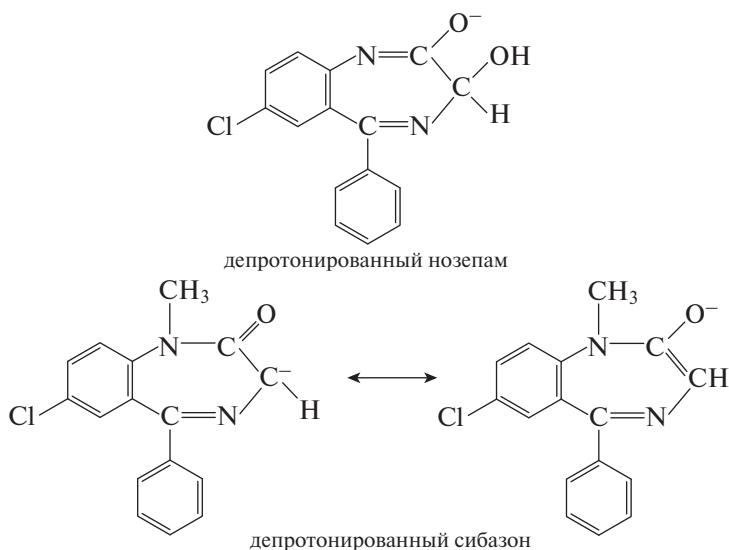
К 1 мл раствора феназепама 3% для инъекций прибавляют 3 капли серной кислоты концентрированной и перемешивают. Раствор окрашивается в желтый цвет. В УФ-свете раствор дает ярко-зеленую флуоресценцию.

Соединения с лактамной группой $\begin{array}{c} \text{H} \\ | \\ \text{—N—C—} \\ || \\ \text{O} \end{array}$ проявляют свойства слабых

кислот, образуя соли при действии сильных оснований.

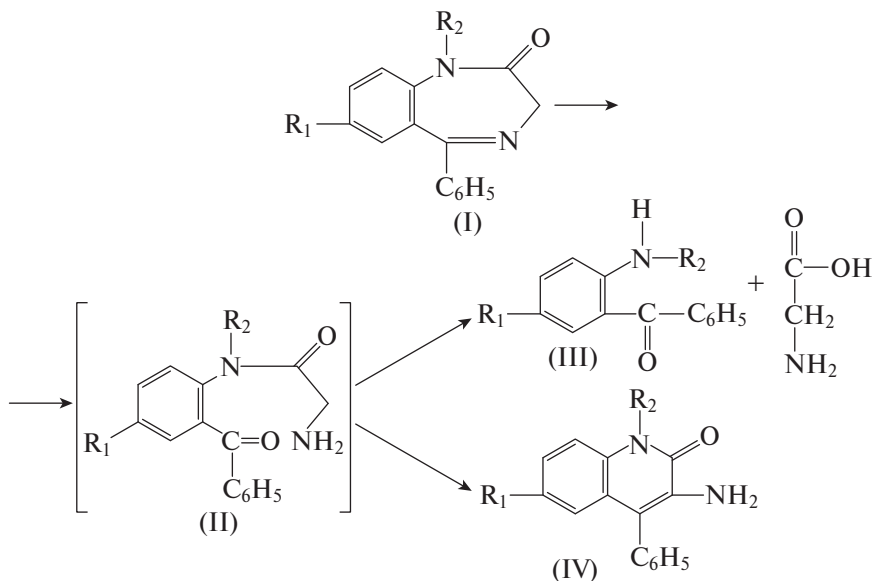
Наряду со слабоосновными свойствами, сибазон, нозепам и нитразепам проявляют и слабокислотные свойства; они реагируют с сильными основани-

ями, например с диметилформамидом, образуя соответствующие анионы. Так, сибазон (слабая СН-кислота) и нозепам (слабая NH-кислота) образуют соответствующие депротонированные соединения (анионы):



Гидролитическое расщепление

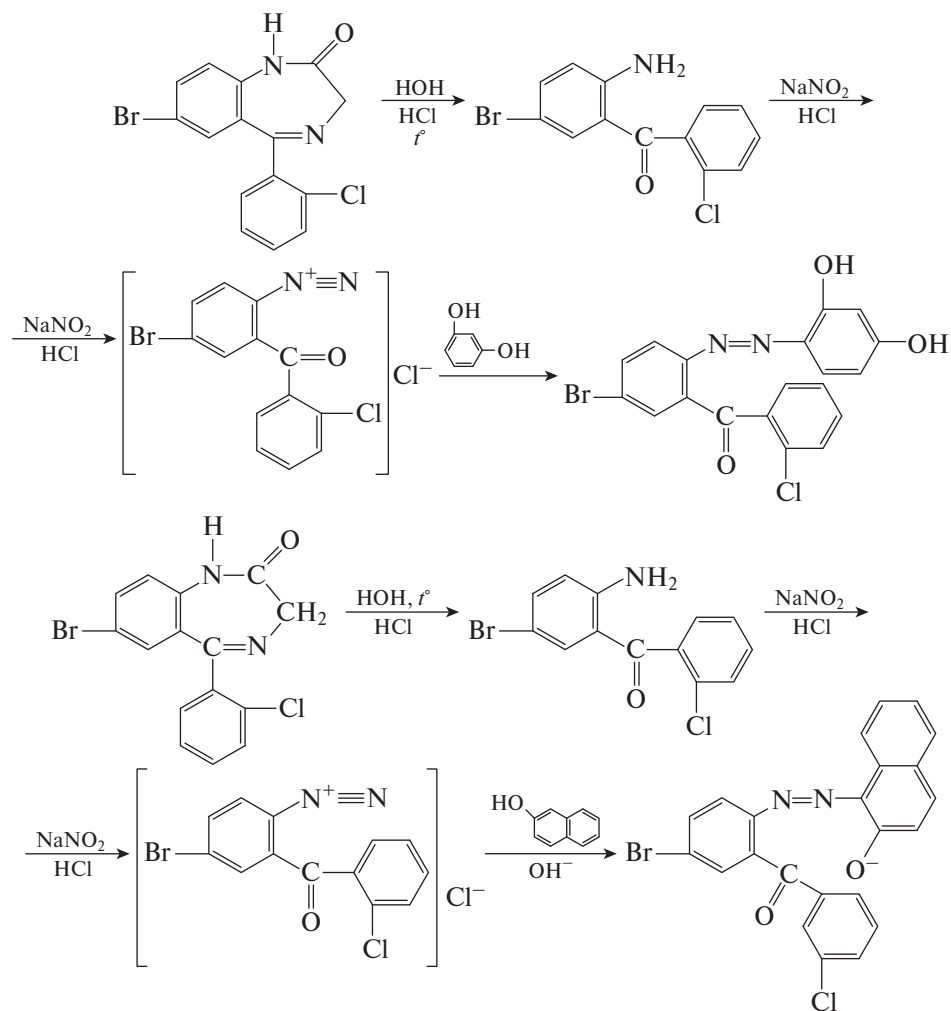
Гидролиз 1,2-дигидро-3Н-1,4-бензодиазепинов (I) протекает по амидной (лактамной) и азометиновой связям и катализируется как кислотами, так и щелочами. Продукты гидролиза — аминокетоны (III) и аминохинолоны (IV), образующиеся, вероятно, из промежуточного вещества (II):



Производные 2-аминобензофенона (III) являются полупродуктами синтеза и продуктами разложения веществ данной группы и поэтому могут присутствовать в них как примеси (открываются методом ТСХ).

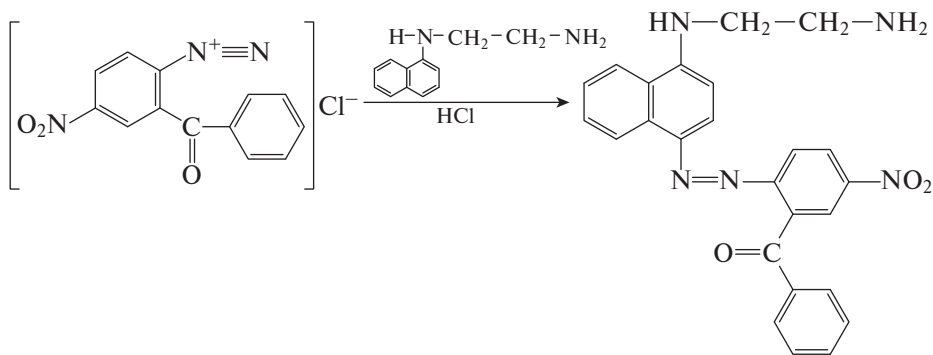
Образование азокрасителя после кислотного гидролиза

Лекарственные вещества, не имеющие заместителя у атома азота N-1 (феназепам, нозепам, нитразепам), после кислотного гидролиза за счет образовавшейся первичной ароматической аминогруппы образуют соль диазония и затем азокраситель. Реакция диазотирования лежит в основе нитритометрического метода количественного определения производных данной группы, образование азокрасителя используется для их идентификации и фотоколориметрического количественного определения. В качестве азосоставляющей применяют фенолы в щелочной среде: резорцин (красное окрашивание), β -нафтол (оранжево-красный осадок) или ароматические амины в кислой среде: N-(1-нафтил)-этилендиамин (красное окрашивание):

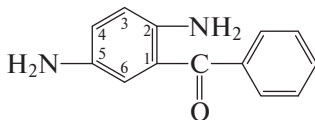


Методика. 0,02 г феназепама с 2 мл хлороводородной кислоты разведенной нагревают до кипения в течение 3 мин и охлаждают. Полученный раствор дает характерную реакцию на первичные ароматические амины с образованием оранжево-красного осадка (ГФ).

Примечание. Соль диазония, полученную из нитразепама, сочетают в кислой среде с N-(1-нафтил)-этилендиамином; образуется азокраситель красного цвета:



При нагревании нитразепама с цинковой пылью в кислой среде, кроме гидролитического разложения, происходит восстановление ароматической нитрогруппы до аминогруппы с образованием 2,5-диаминобензофенона, который дает реакции диазотирования и азосочетания по обеим аминогруппам:



Сибазон не дает реакции образования азокрасителя, так как при кислотном гидролизе образуется вторичная ароматическая аминогруппа.

Щелочной гидролиз

При щелочном гидролизе в жестких условиях (сплавнение с натрия гидроксидом или кипячение с раствором щелочи) из амидной группы бензодиазепинов образуется аммиак или метиламин (сибазон), окрашивающие влажную красную лакмусовую бумагу в синий цвет. При этом нозепам образует на стенках пробирки налет изумрудно-зеленого цвета. Реакция сплавления со щелочью используется для идентификации 1,2-дигидро-3Н-1,4-бензодиазепин-2-онов.

При взаимодействии со щелочью при нагревании галоген переходит в ионное состояние (галогенид). Для обнаружения галогенид-ионов проводят соответствующие реакции.

Методика. 0,2 г феназепама кипятят с 10 мл раствора натрия гидроксида в течение 10 мин; выделяющийся аммиак определяют по посинению влажной красной лакмусовой бумаги; раствор подкисляют хлороводородной кислотой и фильтруют. Полученный раствор дает характерную реакцию А на бромиды (ГФ XIII).

Реакции на галогены

Ковалентносвязанные атомы галогенов (хлор — в хлордиазепоксиде, сибазоне, нозепаме; хлор и бром — в феназепаме) определяют после минерализации, для чего можно использовать нагревание с раствором щелочи или метод сжигания в колбе с кислородом. Кроме того, наличие галогена определяют при сжигании крупинки вещества на медной проволоке в пламени горелки; пламя окрашивается в зеленый цвет (проба Бейльштейна).

Образование окрашенных плавов

Многие бензодиазепины образуют окрашенные плавы. При осторожном нагревании 10 мг феназепама в сухой пробирке над пламенем горелки препарат плавится с образованием плава фиолетового или красно-фиолетового цвета. Окраска плава феназепама изменяется в зависимости от значения pH среды. Так, при добавлении раствора натрия гидроксида красно-фиолетовая окраска раствора плава в 95% спирте переходит в сине-фиолетовую, а при добавлении кислоты серной разведенной — в сине-зеленую, а затем желтую. По-видимому, при плавлении феназепама образуется соединение, имеющее свойства кислотно-основного индикатора. У структурных аналогов феназепама (сибазона, нитразепама) при плавлении образуются плавы зеленого цвета, и окраска спиртовых растворов этих плавов не изменяется в зависимости от значения pH среды. Таким образом, эта реакция позволяет отличить феназепам от других лекарственных веществ.

6.3.15. Схема анализа неизвестного лекарственного вещества из класса гетероциклических соединений

Описание объекта анализа

Определение качественного состава анализируемого образца лекарственного вещества начинается с исследования его внешнего вида (цвет, запах, агрегатное состояние, форма и размер кристаллов). Кроме того, имеют значение форма выпуска лекарственного препарата, а также возможные изменения внешнего вида при хранении.

Большинство рассматриваемых в курсе фармацевтической химии лекарственных веществ из различных групп гетероциклов представляют собой белые кристаллические порошки без запаха. Аналигин, бутадиион, эуфиллин могут иметь желтоватый, а дибазол — слегка сероватый оттенок. Некоторые лекарственные вещества имеют характерную окраску: например рутин — зеленовато-желтую, хинозол, нитроксолин, кислота фолиевая, рибофлавин, производные 5-нитрофурана — различные оттенки желтого.

Некоторые лекарственные вещества могут быть не только в виде кристаллических порошков, но и в виде белых (или бесцветных) игольчатых кристаллов — кофеин, хинина гидрохлорид, хинина сульфат. По агрегатному состоянию исключения представляют диэтиламид никотиновой кислоты (слабо-желтоватая маслянистая жидкость) и токоферола ацетат (светло-желтая вязкая маслянистая жидкость).

Наличие запаха характерно для фтивазида (слабый запах ванилина), эуфиллина (слабый аммиачный запах), никотинамида, тиаминхлорида и бромиды.

Растворимость образца в воде

Исследование растворимости анализируемого вещества проводится по общей статье ГФ «Растворимость» и является важной характеристикой химического состава лекарственного препарата. Как правило, растворимые в воде вещества представляют собой соли:

а) органических оснований и минеральных кислот (например, хинозол, пиридоксина гидрохлорид, хинина гидрохлорид, тиамина хлорид и бромид);

б) органических кислот и минеральных оснований (например, натриевые соли барбитуратов);

в) комплексные соли (кофеин-бензоат натрия, эуфиллин).

Большинство этих солей легко растворимы в воде, кроме хинина сульфата (малорастворим) и дибазола (трудно растворим).

Некоторые вещества, не относящиеся к солям, также растворимы в воде: это изониазид, никотинамид (легко растворимы); кислота никотиновая, кофеин, теофиллин (растворимы в горячей воде). К веществам, очень малорастворимым или практически нерастворимым в воде, относятся производные 5-нитрофурана, бутадиион, рутин, фтивазид, барбитураты в кислотной форме, теобромин, рибофлавин, кислота фолиевая.

При растворении вещества в воде необходимо проверить реакцию среды раствора с помощью универсального индикатора. Это испытание важно для характеристики кислотно-основных свойств вещества. Например, водные растворы натриевых солей барбитуратов, эуфиллина имеют щелочную реакцию среды, а пиридоксина гидрохлорида, тиамина хлорида (бромиды), хинозола — кислоту.

Химические испытания кислотно-основного типа

В зависимости от кислотных или основных свойств эти испытания можно разделить на две группы:

а) реакции, обусловленные кислотными свойствами:

- образование растворимых солей со щелочами;
- осаждение кислотных форм из водного раствора солей;
- комплексобразование солей с ионами тяжелых металлов.

б) реакции, обусловленные основными свойствами:

- образование растворимых солей с кислотами;
- осаждение органических оснований из водного раствора солей;
- осадочные реакции с общеалкалоидными осадительными реактивами.

Этапы работы

Образование растворимых солей

После определения растворимости образца в воде исследуется его отношение к кислотам и щелочам. Для этого, если вещество не растворилось в воде, его растворяют последовательно в хлороводородной кислоте разведенной, затем в 10% растворе натрия гидроксида.

С раствором щелочи образуют растворимые в воде соли: никотиновая кислота, фолиевая кислота, бутадиион, рибофлавин, кислотные формы барбитуратов, производные 5-нитрофурана. При взаимодействии некоторых лекарственных веществ со щелочью наблюдается изменение окраски. Например, рутин при растворении в 1 М растворе натрия гидроксида дает желто-оранжевое окрашивание; при анализе фурацилина и фурадонина наблюдается изменение окраски от желтой до оранжево-красной.

Из исследуемых веществ кофеин является органическим основанием, растворимым в минеральных кислотах. Ряд лекарственных веществ (фтивазид, теofilлин, теобромин) проявляют амфотерные свойства и поэтому растворяются и в кислоте, и в щелочи. Причем теofilлин, в отличие от теобромина, как более сильная кислота, растворим также в растворе аммиака.

Выделение осадков органических кислот и оснований из их солей

Для растворимого в воде вещества исследуют отношение его водного раствора к кислотам и щелочам. Это испытание характеризует состав соли.

При действии минеральной кислоты на водный раствор солей органических кислот происходит выделение осадка кислотной формы за счет вытеснения ее более сильной кислотой. Например, из водного раствора эуфиллина осаждается теofilлин как органическая кислота; раствор барбитал-натрия дает осадок барбитала. Полученные осадки можно идентифицировать по температуре плавления.

При анализе солей органических оснований минеральных кислот образование осадка основания происходит под действием щелочных реагентов — растворов натрия гидроксида, аммиака, натрия карбоната. При применении этих реагентов появляется информация о силе основности анализируемого вещества. Так, из водного раствора дибазола можно вытеснить слабое основание действием раствора аммиака, а основание папаверина из его соли — даже натрия ацетатом. Для выделения основания (8-оксихинолина) из раствора хинозола целесообразно использовать не натрия гидроксид, а раствор натрия карбоната. При этом образуется осадок основания, растворимый затем в избытке реактива.

Образование солей и комплексов с ионами тяжелых металлов

Это свойство проявляют OH- и NH-кислоты. В качестве реагентов используют растворы железа (III) хлорида, меди (II) сульфата, соли кобальта (хлорид и нитрат), серебра нитрат. В результате реакций образуются окрашенные растворы или осадки. Так, железа (III) хлорид, как групповой реагент на фенолы, дает красное окрашивание с растворами пиридоксина гидрохлорида и синевато-зеленое — с хинозолом. Нерастворимые серебряные соли с раствором серебра нитрата образуют барбитураты, производные пурина (теofilлин и теобромин). Характерное окрашивание соли с раствором меди (II) сульфата дают лекарственные вещества: никотиновая кислота (синий осадок), бутадиион (сероватый, переходящий в бледно-голубой), барбитураты (осадки различной окраски), что позволяет дифференцировать эти препараты.

Общегрупповым реагентом для барбитуратов является также кобальта нитрат, с которым в спиртовой среде в присутствии кальция хлорида образуются

окрашенные в сине-фиолетовый цвет комплексные соли. Этот же реагент позволяет различить теofilлин, образующий белый осадок с розовым оттенком, и теобромин, который дает фиолетовое окрашивание, а затем осадок серовато-голубого цвета.

Особенность проведения данных реакций заключается в необходимости переведения кислотной формы (кроме фенолов) в хорошо ионизированное состояние, т. е. натриевую соль, для чего вещества растворяют в 0,1 М растворе натрия гидроксида. Но реакция среды должна быть при этом нейтральной, чтобы избежать выпадения осадков гидроксидов тяжелых металлов, поэтому щелочи берут в количестве, недостаточном для полного растворения вещества, тщательно встряхивают, фильтруют и проводят реакции с полученным раствором. Натриевые соли (например, барбитал-натрий) растворяют сразу в воде.

Примечание. Кроме веществ кислотного характера, в реакции комплексообразования могут участвовать некоторые органические основания. Так, эуфиллин за счет остатка этилендиамина (как производное аммиака) образует с раствором меди сульфата хелатный комплекс ярко-фиолетового цвета. За счет комплексообразующих группировок реакцию с меди (II) сульфатом дает также изониазид (см. ниже).

Осадочные реакции с общеалкалоидными осадительными реактивами

Эти реакции дают азотсодержащие органические основания и их соли. В качестве реагентов применяются растворы кислоты пикриновой, танина, кремнево-вольфрамовой кислоты, комплексные йодиды (реактивы Люголя, Драгендорфа).

За счет основных свойств лекарственные вещества образуют с этими реагентами нерастворимые комплексные соли, повторяющие цвет реактива. Некоторые вещества при этом проявляют характерные особенности. Например, при действии раствора йода на дибазол выпадает красно-серебристый осадок, что отличает его от других азотсодержащих оснований. Кофеин, как очень слабое органическое основание, образует с раствором йода осадок полийодида только в кислой среде, необходимой для его ионизации. С раствором танина он же дает белый осадок, но растворимый в избытке реактива.

В ряде случаев (изониазид, анальгин) наряду с реакцией осаждения идут также процессы окисления вследствие восстановительных свойств данных веществ. Поэтому сначала наблюдаются обесцвечивание раствора йода и окрашивание продуктами окисления анальгина, а при избытке реактива образуется осадок периодида бурого цвета.

Химические испытания окислительно-восстановительного типа

Эти испытания обусловлены соответствующими структурными фрагментами молекул лекарственных веществ. Например, изониазид проявляет восстанавливающую способность за счет остатка гидразина, поэтому он легко дает реакцию серебряного зеркала с аммиачным раствором серебра нитрата при нагревании. С раствором меди сульфата изониазид сначала образует хелатный комплекс голубого цвета, который при нагревании становится светло-зеленого, а затем желтого цвета при восстановлении меди (II) до меди (I). Одновременно выделяются пузырьки газа (азота) вследствие окисления гидразина.

Сильным восстановителем является анальгин, который при окислении железа (III) хлоридом или натрия нитритом дает окрашенные продукты окисления. При действии серебра нитрата анальгин, как натриевая соль, образует желтоватый осадок серебряной соли, который затем темнеет в результате восстановления Ag^+ до металлического серебра.

На способности к окислению основаны некоторые специфические реакции подлинности:

- таллейохинная проба (соли хинина);
- мурексидная проба (производные пурина);
- образование тioxрома (тиамина хлорид или бромид).

Способность к восстановлению проявляют рутин (цианидиновая проба) и рибофлавин (гашение флуоресценции и окраски).

Реакции гидролитического разложения

С помощью реакций данного типа можно идентифицировать некоторые лекарственные вещества по характерным продуктам разложения. Например, при нагревании анальгина с хлороводородной кислотой разведенной ощущается запах серы диоксида и формальдегида. При анализе фтивазида проявляется сильный запах ванилина. При нагревании никотинамида с сухим натрия карбонатом выделяется пиридин, а при нагревании с раствором натрия гидроксида — аммиак. Выделение последнего происходит также при гидролитическом разложении фурацилина в щелочной среде.

Реакция образования азокрасителя

Эта реакция, в частности, характерна для веществ, содержащих фенольный гидроксил (рутин, пиридоксина гидрохлорид, хинозол). Благодаря способности к электрофильному замещению они вступают в реакцию сочетания с солью диазония, образуя азокраситель.

Нитроксолин дает эту реакцию за счет ароматической нитрогруппы, которую предварительно восстанавливают до первичной ароматической аминогруппы, затем диазотируют действием раствора натрия нитрита в кислой среде. Полученную соль диазония сочетают со щелочным раствором β -нафтола.

Для фенобарбитала также можно получить азокраситель, но после предварительного нитрования. Далее поступают как при исследовании нитроксолина.

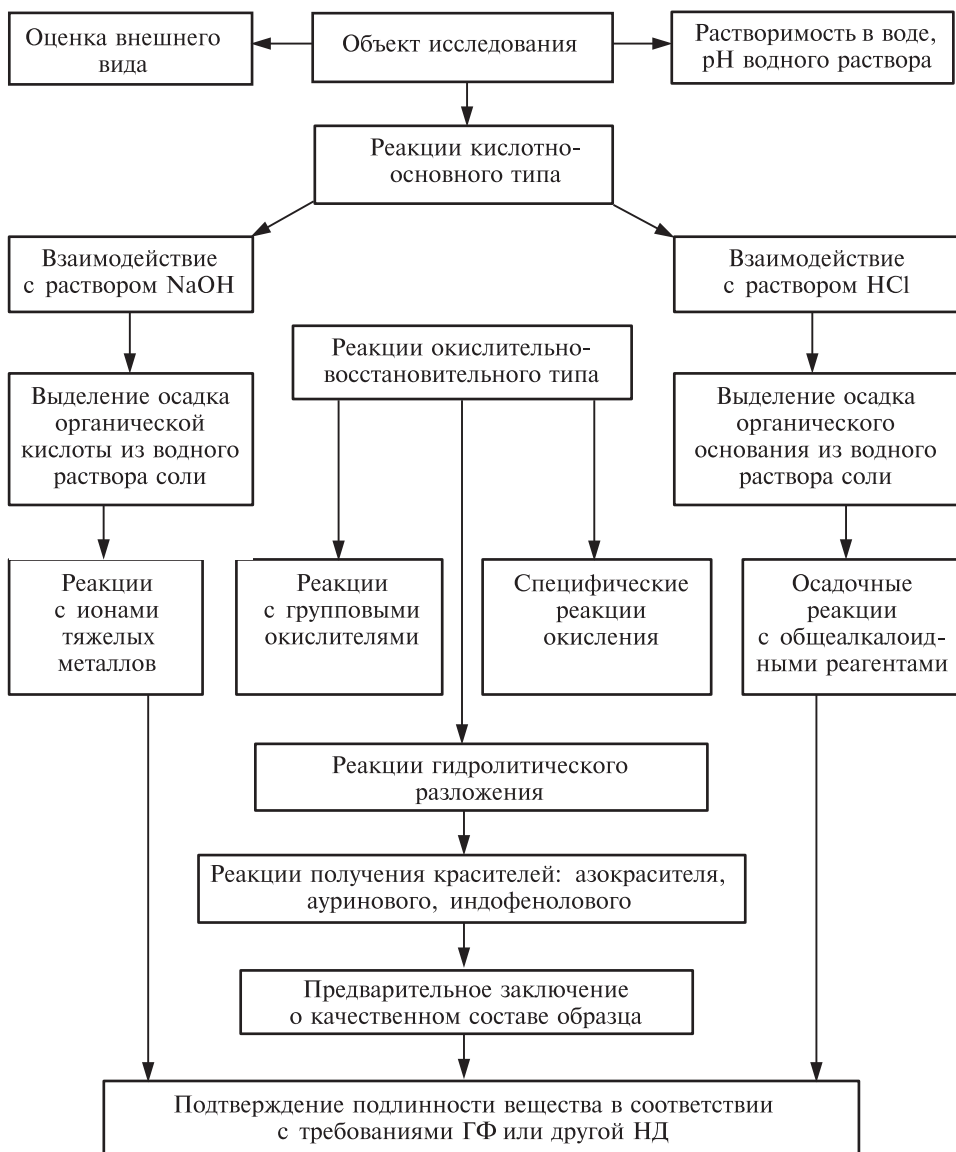
Реакции получения индофенолового и ауринового красителя

Эти реакции характерны для лекарственных веществ с фенольным гидроксидом (например, для пиридоксина гидрохлорида).

Реакцию образования ауринового красителя дает также анальгин за счет формальдегида, выделяющегося при гидролитическом разложении серной кислотой концентрированной. В качестве реагента в этой реакции можно использовать кристаллический резорцин или салициловую кислоту.

Вывод

На основании проведенных испытаний делается предварительное заключение о возможном химическом составе исследуемого лекарственного вещества, подлинность которого подтверждается в соответствии с требованиями частной статьи ГФ или другой НД.

Схема проведения анализа

Фармацевтический анализ лекарственных форм промышленного и внутриаптечного производства

7.1. Анализ лекарственных форм промышленного производства

Для лекарственных форм, помимо частных способов оценки качества, существуют общие принципы их анализа, изложенные в общих статьях ГФ. Исключения указываются в соответствующих частных статьях. В состав лекарственных форм входят лекарственные и вспомогательные вещества, отвечающие требованиям ГФ и другой НД.

7.1.1. Таблетки

Таблетки — твердые лекарственные формы, содержащие один активный ингредиент или более. Их получают в процессе однократного или многократного прессования (в определенных случаях формовкой), они могут быть в оболочке или без нее. Обычно таблетки предназначены для перорального приема, но, кроме того, существуют таблетки, такие как имплантаты, растворимые таблетки для инъекций, промываний или наружного использования, вагинальные таблетки и т. п. Эти лекарственные средства имеют иной состав, требуют особых методов производства и могут иметь разную форму в соответствии с конкретным назначением. По этой причине они могут не соответствовать некоторым общим положениям.

Различают категории таблеток, такие как растворимые, шипучие, для рассасывания и таблетки пролонгированного действия. Таблетки могут иметь насечки для разлома, различные символы и другую маркировку.

Таблетки могут содержать различные вспомогательные вещества, такие как наполнители, связывающие, разрыхлители, вещества, изменяющие поведение активных ингредиентов в желудочно-кишечном тракте, красители и ароматизаторы. Такие вспомогательные вещества не должны негативно влиять на стабильность, скорость растворения, биодоступность, безопасность и эффективность активного ингредиента (ингредиентов); все компоненты лекарственной формы должны быть совместимы между собой.

7.1.1.1. Общие требования к качеству таблеток по ГФ

Общие требования к качеству таблеток (внешний вид, определение средней массы таблеток, отклонение в массе отдельных таблеток, определение распадаемости, определение талька и др.) изложены в общей статье «Таблетки» ГФ.

Количество твина-80, кислоты стеариновой, кальция или магния стеарата не должно превышать 1%, талька — 3%, аэросила — 10% от массы таблетки, за исключением отдельных случаев, указанных в частных статьях.

Таблетки должны обладать достаточной прочностью при механических воздействиях в процессе упаковки, транспортировки и хранения. Испытание на прочность (на *истирание*) проводится на устройстве для истирания таблеток, она должна быть не менее 97%. Прочность таблеток, покрытых оболочкой, на истирание не проверяется.

Таблетки, предназначенные для внутреннего применения, должны распадаться или растворяться в желудочно-кишечном тракте. *Распадаемость* определяют на лабораторном идентификаторе процесса распадаемости. Время распадаемости должно быть указано в частных статьях. При отсутствии этих указаний таблетки должны распадаться в течение не более 15 мин; таблетки, покрытые оболочкой, — не более 30 мин. Кишечнорастворимые таблетки не должны распадаться в течение 1 ч в 0,1 М растворе хлороводородной кислоты и после промывания водой должны распадаться в растворе натрия гидрокарбоната ($\text{pH} = 7,5\text{—}8,0$) в течение не более 1 ч, если нет других указаний в частной статье.

Растворение определяют в приборах типа вращающаяся корзинка и лопастная мешалка. Количество растворенного за 45 мин в воде лекарственного вещества должно быть не менее 75%, если нет других указаний в частных статьях.

Средняя масса таблеток определяется при взвешивании 20 таблеток с точностью до 0,001 г. Массу отдельных таблеток определяют при взвешивании порознь 20 таблеток с точностью до 0,001 г. Отклонение в массе отдельных таблеток (за исключением таблеток, покрытых оболочкой методом наращивания) допускается в пределах:

- 1) для таблеток массой 0,1 г и менее $\pm 10\%$;
- 2) массой более 0,1 г и менее 0,3 г $\pm 7,5\%$;
- 3) массой 0,3 г и более $\pm 5\%$ от средней массы таблеток;
- 4) масса отдельных таблеток, покрытых оболочкой методом наращивания, не должна отличаться от средней массы более чем на $\pm 15\%$.

Только две таблетки могут иметь отклонения от средней массы, превышающие указанные пределы, но не более чем вдвое.

Определение количественного содержания лекарственных веществ в таблетках

Берут навеску растертых таблеток (не менее 20 штук); для испытания таблеток, покрытых оболочкой, определено число таблеток, указанное в частных статьях. Отклонения в содержании лекарственных веществ должны составлять при дозировке лекарственных веществ до 0,001 г $\pm 15\%$, от 0,001 до 0,01 г $\pm 10\%$; от 0,01 до 0,1 г $\pm 7,5\%$ и от 0,1 г и более $\pm 5\%$; если нет других указаний в частных статьях.

Испытание однородности дозирования

Проводят для таблеток без оболочки с содержанием 0,05 г и менее лекарственного вещества и для таблеток, покрытых оболочкой, с содержанием 0,01 г

и менее лекарственного вещества. От серии, подлежащей испытанию, отбирают пробу таблеток в количестве 30 штук. В каждой из 10 таблеток определяют содержание лекарственного вещества. Содержание лекарственного вещества в одной таблетке может отклоняться не более чем на $\pm 15\%$ от среднего содержания. Если из 10 таблеток, прошедших испытание, две имеют отклонение содержания лекарственного вещества более чем на 15% от среднего, определяют содержание лекарственного вещества в каждой из оставшихся 20 таблеток. Отклонение в содержании лекарственного вещества ни в одной из 20 таблеток не должно превышать более чем на $\pm 15\%$ среднее содержание. При изложении последующего материала на общих методах анализа таблеток мы останавливаться не будем.

7.1.1.2. Общие требования к качеству таблеток по Международной Фармакопее (МФ III, т. 4)

Визуальная проверка

Вынимают из упаковки и проверяют не менее 20 таблеток. Таблетки должны быть без повреждений, иметь гладкую поверхность и однородную окраску.

Признаки физических повреждений:

- 1) наличие большого количества порошка и/или кусочков таблеток на дне вместилища (от раздробленных или разбитых таблеток);
- 2) трещины или наросты, осколки на поверхности таблетки или ее оболочке, вздутия, пятна, обесцвечивание, слипание таблеток;
- 3) появление кристаллов на стенке вместилища или на поверхности таблетки.

Маркировка

Каждое лекарственное средство должно соответствовать требованиям к маркировке.

На вторичной упаковке с лекарственным средством этикетка должна содержать следующую информацию:

- 1) название лекарственного средства;
- 2) название активного ингредиента (ингредиентов) и его Международное непатентованное наименование (МНН);
- 3) количество активного ингредиента (ингредиентов) в каждой таблетке и число таблеток в упаковке;
- 4) номер партии (серии), установленный изготовителем;
- 5) дата окончания срока годности и, при необходимости, дата изготовления;
- 6) особые условия хранения или обращения с данным лекарственным средством;
- 7) инструкции по применению, предупреждению и предостережению, которые могут быть необходимы;
- 8) название и адрес изготовителя и лица, ответственного за распространение данного лекарственного средства;
- 9) предприятие-изготовитель, его адрес и логотип, штрихкод.

Хранение

Таблетки необходимо хранить в хорошо укупоренной таре, защищающей от действия света, влаги и механических повреждений; сведения об особых условиях хранения должны быть указаны на этикетке. Таблетки должны быть достаточно прочными и выдерживать без разрушения различные манипуляции в процессе упаковки и транспортировки. Лекарственные средства с повышенной чувствительностью к влаге, такие как шипучие таблетки, следует хранить в плотно укупоренной таре или во влагонепроницаемой упаковке, в ряде случаев необходимо использовать отдельную упаковку, содержащую влагопоглотитель, например силикагель.

Дополнительные рекомендации относительно условий хранения, упаковки и транспортировки изложены в частных статьях.

Требования к конкретным типам таблеток

Таблетки без оболочки

Большинство таблеток без оболочки изготовлены по такой технологии, которая не влияет на высвобождение активных ингредиентов. При исследовании под лупой разлома таких таблеток видна либо однородная структура (однослойные таблетки), либо послойная структура (многослойные таблетки), но никаких следов оболочки.

Испытание на распадаемость. Таблетки без оболочки, за исключением шипучих таблеток, таблеток, которые рассасываются во рту, и таблеток для разжевывания, должны соответствовать требованиям «Испытание на распадаемость таблеток». Прибор включают на 15 мин.

Растворимые таблетки (таблетки для приготовления растворов)

Растворимые таблетки — это таблетки без оболочки, которые растворяются в воде, образуя прозрачный раствор.

Испытание на распадаемость. Проводят испытание на распадаемость таблеток. Используют воду комнатной температуры и включают прибор на 5 мин, если в частной статье нет иных указаний.

Шипучие таблетки

Шипучие таблетки — таблетки без оболочки, обычно содержащие кислотные вещества и карбонаты или гидрокарбонаты, которые быстро реагируют между собой в присутствии воды, в результате чего высвобождается углекислый газ. Перед употреблением их растворяют или суспендируют в воде.

Указания на этикетке. На этикетке должно быть указано: «Не глотать без предварительного растворения».

Испытание на распадаемость. Проводят испытание на распадаемость таблеток. Помещают одну таблетку в химический стакан вместимостью 250 мл, содержащий 200 мл воды комнатной температуры. Выделяются многочисленные пузырьки газа. Когда прекращается образование газа вокруг таблетки или ее фрагментов, таблетка должна распасться, т. е. раствориться или суспендироваться в воде, так, чтобы не оставалось никаких фрагментов. Повторяют эту процедуру с пятью другими таблетками. Если в частной статье нет иных ука-

заний, испытание считается положительным, когда каждая из шести таблеток распадается в течение 5 мин.

Таблетки для использования в полости рта (подъязычные, защечные) и жевательные таблетки

Эти таблетки обычно не имеют оболочек. Они обеспечивают медленное высвобождение и местное действие активного ингредиента (например, таблетки от кашля), высвобождение и всасывание активного ингредиента (ингредиентов) под языком (подъязычные таблетки) или в других частях полости рта (защечные таблетки) системного действия.

Таблетки, покрытые оболочкой

Таблетки, покрытые оболочкой — одним или несколькими слоями смесей таких веществ, как натуральные или синтетические смолы, полимеры, клейкие вещества, наполнители, сахара, пластификаторы, полиолы (высокомолекулярные спирты), воски, красители, ароматизаторы, а иногда и активные ингредиенты. При исследовании под лупой разлома такой таблетки видна сердцевина, окруженная слоями с различной структурой.

Таблетки могут быть покрыты оболочкой для защиты активного ингредиента от воздействия воздуха, влаги или света, маскировки неприятного вкуса и запаха, улучшения внешнего вида. Вещество, используемое для покрытия таблетки, обычно применяют в виде раствора или суспензии.

Различают три основные категории таблеток, покрытых оболочкой: в сахарной оболочке, в пленочной оболочке и некоторые таблетки пролонгированного действия.

1) Таблетки в сахарной оболочке

Однородность массы. Испытание на однородность массы препаратов, содержащих одну дозу, не применяется к таблеткам в сахарной оболочке.

Испытание на распадаемость. Проводят испытание на распадаемость таблеток. Если в частной статье нет иных указаний, включают прибор на 60 мин, используя в качестве растворяющей среды воду, и проверяют состояние таблеток. Если хотя бы одна из таблеток не распалась, повторяют испытание с шестью новыми таблетками, используя в качестве среды 0,1 М раствор хлороводородной кислоты. Должны распасться все шесть таблеток.

2) Таблетки, покрытые пленочной оболочкой

Таблетки покрыты тонким слоем смолы, полимеров и/или пластификаторов, способных образовать пленку.

Испытание на распадаемость. Проводят испытание на распадаемость таблеток. Прибор включают на 30 мин и затем проверяют состояние таблеток.

3) Таблетки пролонгированного действия

Таблетки пролонгированного действия бывают в оболочке, без оболочки и в виде матричных таблеток, они содержат вспомогательные вещества или изготовлены по такой технологии, что сами по себе или в сочетании друг с другом изменяют скорость высвобождения активного ингредиента (ингредиентов) в желудочно-кишечном тракте.

Таблетки длительного действия

Таблетки длительного действия обеспечивают замедленное высвобождение активного ингредиента (ингредиентов) в желудочно-кишечном тракте. Все требования к этим лекарственным формам приводятся в частных статьях.

Таблетки с кишечнорастворимой оболочкой

Такие таблетки выдерживают действие желудочного сока, но распадаются под влиянием кишечных ферментов. Этот эффект достигается благодаря использованию для создания оболочки специальных веществ, таких как целлацефталат (фталат ацетата целлюлозы) и анионные сополимеры метакриловой кислоты и ее эфиры. Иногда при изготовлении такой оболочки необходимо наносить более одного слоя покрытия.

Испытание на распадаемость. Проводят испытание на распадаемость таблеток, используя 0,1 М раствор хлороводородной кислоты в качестве растворяющей среды. Если в частной статье нет иных указаний, прибор включают на 2 ч (но в любом случае не менее чем на 1 ч) и проверяют состояние таблеток. Ни одна из таблеток не должна иметь признаков распада (за исключением наличия фрагментов) и трещин, через которые может высвобождаться содержимое таблеток. Затем кислоту заменяют фосфатным буфером с $\text{pH} = 6,8$. Включают прибор на 60 мин и проверяют состояние таблеток.

7.1.1.3. Таблетки натрия *пара*-аминосалицилата по 0,5 г, покрытые оболочкой

Состав на одну таблетку:

Натрия *пара*-аминосалицилата 0,5 г

Вспомогательных веществ достаточное количество до получения таблетки массой 0,5235 г (без оболочки)

Состав изолирующего слоя:

Ацетилфталилцеллюлозы 0,0115 г

Вспомогательных веществ достаточное количество для получения оболочки методом наращивания (масса таблетки, покрытой оболочкой, 0,85 г)

Описание. Таблетки, покрытые оболочкой, светло-сиреневого или светло-сиреневого с розоватым оттенком цвета. На поперечном разрезе видны три слоя.

Для идентификации используют реакции комплексообразования с железом (III) хлоридом и образования азокрасителя на первичную ароматическую аминогруппу (см. разд. 6.2.4). Количественное определение проводят нитритометрическим методом (см. разд. 4.2.3).

Подлинность. 0,01 г порошка растертых таблеток растворяют в 10 мл воды, подкисляют 2—3 каплями хлороводородной кислоты разведенной и прибавляют 2—3 капли раствора железа (III) хлорида; жидкость окрашивается в фиолетово-красный цвет. Полученный раствор оставляют на 3 ч; не должно наблюдаться выделения осадка (фенольный гидроксил).

Лекарственное средство дает реакцию на ароматическую первичную аминогруппу и реакцию Б на натрий (ГФ).

Количественное определение. Около 0,4 г (точная навеска) порошка растертых таблеток растворяют в 40 мл воды и 20 мл разведенной кислоты хлороводородной, затем поступают, как указано в статье «Нитритометрия» (ГФ). В качестве внутреннего индикатора применяют тропеолин 00. 1 мл 0,1 М раствора натрия нитрита соответствует 0,02112 г $C_7H_6NNaO_3 \cdot 2H_2O$ (натрия *пара*-аминосалицилата), которого должно быть 0,475—0,525 г, считая на среднюю массу одной таблетки.

7.1.1.4. Таблетки дибазола по 0,002 г, 0,003 г, 0,004 г и 0,02 г

Состав на одну таблетку:

Дибазола	0,002 г, 0,003 г, 0,004 г и 0,02 г
Сахара	0,0318 г, 0,0477 г, 0,0636 г и 0,2 г
Вспомогательных веществ	до получения таблетки массой 0,04 г, 0,06 г, 0,08 г и 0,26 г

Описание. Таблетки белого цвета. По внешнему виду должны соответствовать требованиям ГФ.

Подлинность. Подлинность определяют методом УФ-спектрофотометрии и по образованию осадка периодида красновато-серебристого цвета.

УФ-спектр раствора лекарственного средства, приготовленного для количественного определения, в области от 225 до 300 нм имеет максимумы поглощения при 244 нм \pm 2 нм, 275 нм \pm 2 нм, 281 нм \pm 2 нм и минимумы при 230 нм \pm 2 нм, 259 нм \pm 2 нм и 279 нм \pm 2 нм.

0,5 г порошка растертых таблеток взбалтывают с 10 мл воды и фильтруют. К 5 мл фильтрата прибавляют 5 капель хлороводородной кислоты разведенной, 5 капель 0,1 М раствора йода и взбалтывают; образуется красновато-серебристый осадок за счет основного гетероциклического азота (см. разд. 6.3.4).

К 3 мл фильтрата прибавляют 1 мл раствора аммиака и образовавшийся осадок отфильтровывают. Фильтрат, подкисленный 2,5 мл азотной кислоты разведенной, дает характерную реакцию на хлориды (ГФ).

Определение средней массы, распадаемости, талька и другие требования (ГФ).

Количественное определение. Проводят методом УФ-спектрофотометрии.

Около 0,13 г (для таблеток 0,02 г) или 0,2 г (для таблеток 0,004 г, 0,003 г и 0,002 г) (точная навеска) порошка растертых таблеток помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, взбалтывают с 30 мл 95% спирта в течение 2 мин, доводят объем раствора 95% спиртом до метки и перемешивают. Раствор фильтруют через бумажный фильтр, отбрасывая первые 15 мл фильтрата.

5 мл фильтрата помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, прибавляют 30 мл 95% спирта, 1 мл 0,1 М раствора натрия гидроксида, доводят объем раствора 95% спиртом до метки и перемешивают. Измеряют оптическую плотность полученного раствора на спектрофотометре при длине волны 244 нм в кювете с толщиной слоя 1 см. В качестве раствора сравнения используют 95% спирт.

Параллельно измеряют оптическую плотность раствора рабочего стандартного образца (PCO) дибазола.

Содержание дибазола в одной таблетке в граммах (x) вычисляют по формуле:

$$x = \frac{A_1 \cdot a_0 \cdot 50 \cdot 2 \cdot b \cdot 50}{A_0 \cdot a \cdot 5 \cdot 100 \cdot 50} = \frac{A_1 \cdot a_0 \cdot b}{A_0 \cdot a \cdot 5}$$

где A_1 — оптическая плотность испытуемого раствора;
 A_0 — оптическая плотность раствора рабочего стандартного образца дибазола,
 a — масса навески лекарственного средства, г;
 a_0 — масса навески рабочего стандартного образца дибазола, г;
 b — средняя масса таблетки, г.

Содержание $C_{14}H_{12}N_2 \cdot HCl$ (дибазола) должно быть соответственно от 0,0018 до 0,0022 г, от 0,0027 до 0,0033 г, от 0,0036 до 0,0044 и от 0,018 до 0,022 г, считая на среднюю массу одной таблетки.

Приготовление раствора рабочего стандартного образца дибазола

Около 0,05 г (точная навеска) дибазола, высушенного до постоянной массы при температуре 80 °С, растворяют в мерной колбе вместимостью 100 мл в 95% спирте и перемешивают (раствор А). Срок годности раствора А — 1 мес. при хранении в защищенном от света месте.

2 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, прибавляют 30 мл 95% спирта, 1 мл 0,1 М раствора натрия гидроксида, доводят объем раствора 95% спиртом до метки и перемешивают (раствор Б).

Срок годности раствора Б — 24 ч.

7.1.1.5. Таблетки никотиновой кислоты по 0,05 г

Состав на одну таблетку:

Никотиновой кислоты	0,05 г
Вспомогательных веществ	до получения таблетки массой 0,2 г

Описание. Таблетки белого цвета, без запаха.

Подлинность. Подлинность никотиновой кислоты определяют по реакции образования никотината меди синего цвета при взаимодействии с меди (II) ацетатом и по реакции образования окрашенного в зеленый цвет комплекса с меди (II) сульфатом и аммония тиоцианатом (за счет кислотных свойств лекарственного вещества, см. разд. 6.3.5), а также методом УФ-спектрофотометрии.

Испытания на подлинность. 0,5 г порошка растертых таблеток растворяют в 10 мл воды, нагретой до 70—80 °С, и фильтруют. К 3 мл теплого фильтрата прибавляют 1 мл раствора меди ацетата; выпадает осадок синего цвета (карбоксильная группа).

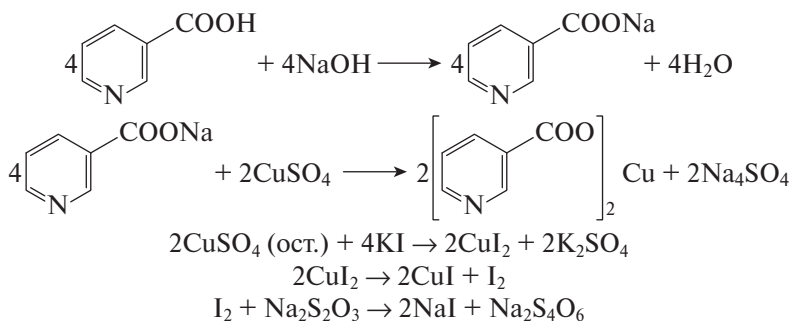
К 5 мл того же фильтрата прибавляют 0,5 мл раствора меди сульфата и 2 мл раствора аммония тиоцианата; появляется зеленое окрашивание (карбоксильная группа).

К 1 мл того же фильтрата прибавляют 5 мл воды, 1 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Значение оптической плотности при длине волны 262 нм должно быть не менее 0,35 и не более 0,39.

Количественное определение. Проводится йодометрическим методом. Вначале навеску растертых таблеток нейтрализуют раствором натрия гидроксида по фенолфталеину, а затем прибавляют пипеткой точный объем 5% раствора меди (II) сульфата. Осадок меди никотината отфильтровывают, а в части фильтрата определяют остаток меди сульфата. Для этого к аликвоте фильтрата прибавляют хлороводородную кислоту разведенную, калия йодид и выделившийся йод титруют 0,1 М раствором натрия тиосульфата.

Одновременно проводят контрольный опыт.

В основе количественного определения никотиновой кислоты лежат следующие реакции:



Около 2 г (точная навеска) порошка растертых таблеток растворяют в 25 мл горячей свежeproкипяченной воды в мерной колбе вместимостью 100 мл. Раствор охлаждают и нейтрализуют по фенолфталеину 0,5 М раствором натрия гидроксида (около 6 мл), а под конец 0,1 М раствором натрия гидроксида. Затем прибавляют 20 мл 5% раствора меди (II) сульфата, оставляют на 10 мин, после чего доводят объем раствора водой до метки, перемешивают и фильтруют, отбрасывая первые 25 мл фильтрата. 50 мл полученного фильтрата помещают в коническую колбу с притертой пробкой вместимостью 150 мл, прибавляют 10 мл хлороводородной кислоты разведенной, 2 г калия йодида, колбу закрывают пробкой и оставляют на 10 мин в защищенном от света месте. Выделившийся йод титруют 0,1 М раствором натрия тиосульфата (индикатор — крахмал).

Одновременно проводят контрольный опыт.

1 мл 0,1 М раствора натрия тиосульфата соответствует 0,02462 г никотиновой кислоты, которой в одной таблетке должно быть от 0,045 до 0,055 г, считая на среднюю массу одной таблетки.

Молярная масса эквивалента равна $\frac{4 \text{ Мол. м}}{2} = 2 \text{ М. м. никотиновой кислоты.}$

7.1.1.6. Таблетки фурадонина 0,05 г

Дополнительная информация. Количество фурадонина (нитрофурантоина) в таблетках в Примерном перечне основных лекарственных средств ВОЗ — 100 мг.

Таблетки фурадонина могут быть покрыты сахарной оболочкой, растворяющейся в кишечнике.

Требования. Таблетки фурадонина содержат не менее 90,0 и не более 110% количества $C_8H_6N_4O_5$ (фурадонина), указанного на этикетке.

Подлинность. Можно проводить только испытание 1 или испытания 2 и 3.

1) К количеству растертых в порошок таблеток, соответствующему 0,1 г фурадонина, добавляют 10 мл 30% раствора уксусной кислоты, кипятят в течение нескольких минут и фильтруют в горячем виде. Охлаждают до комнатной температуры, собирают осадок и высушивают при температуре 105 °С в течение 1 ч. ИК-спектр поглощения полученного остатка испытуемого вещества соответствует спектру стандартного образца фурадонина или спектру сравнения фурадонина.

2) Проводят испытание при слабом свете. Спектр поглощения конечного раствора, полученного в испытании «Количественное определение», при наблюдении между 220 и 400 нм дает два максимума при длинах волн 266 и 367 нм. Отношение величины поглощения при длине волны максимума поглощения 367 нм к величине поглощения при длине волны около 266 нм составляет 1,36—1,42.

3) К количеству растертых в порошок таблеток, соответствующих 25 мг фурадонина, добавляют смесь 25 мл воды и 1 мл 26% раствора аммиака, встряхивают и фильтруют; возникает желто-оранжевое окрашивание. К фильтрату добавляют 5 мл 4% раствора серебра нитрата, образуется желтый осадок. Происходит образование комплексной соли за счет кислотных свойств фурадонина (отличие от фуразолидона и фурацилина).

Количественное определение проводят спектрофотометрическим методом.

Примечание. Описанные ниже процедуры следует проводить при слабом свете.

Взвешивают и растирают в порошок 20 таблеток. Добавляют количество порошка, соответствующее 0,12 г фурадонина (точная навеска), к 50 мл диметилформамида, встряхивают в течение 5 мин и доводят водой до 1000 мл. Перемешивают и разводят 5 мл смеси до 100 мл водным раствором, содержащим 1,8 г натрия ацетата и 0,124 мл уксусной кислоты ледяной в 100 мл, и фильтруют.

Измеряют оптическую плотность фильтрата в кювете шириной 1 см при максимуме около 360 нм, используя в качестве раствора сравнения смесь натрия ацетата и уксусной кислоты ледяной. Рассчитывают содержание $C_8H_6N_4O_5$ (фурадонина). Удельный показатель поглощения $A_{1\text{ см}}^{1\%}$ равен 765.

7.1.1.7. Таблетки парацетамола 0,2 г

Категория. Неопиоидный анальгетик, лекарственное средство против мигрени.

Хранение. Таблетки парацетамола следует хранить в плотно закупоренной таре.

Дополнительная информация. Количество парацетамола в таблетках, включенных в Примерный перечень основных лекарственных средств ВОЗ: 100—500 мг.

Таблетки парацетамола не всегда имеют круглую форму.

Требования. Таблетки парацетамола содержат не менее 95,0% и не более 105,0% $C_8H_9NO_2$, указанного на этикетке.

Подлинность. Определение подлинности проводят методом ИК-спектроскопии, методом ТСХ и по реакции с калия дихроматом.

К количеству растертых в порошок таблеток, соответствующему 1 г парацетамола, добавляют 40 мл ацетона, фильтруют, выпаривают фильтрат досуха и используют остаток для реакции с калия дихроматом (см. разд. 6.2.3).

К 0,1 г остатка добавляют 2 мл 2,5% раствора хлороводородной кислоты и нагревают до кипения в течение 1 мин. Затем добавляют 10 мл воды и 1 каплю 10% раствора калия дихромата и встряхивают; медленно возникает фиолетовое окрашивание, которое затем не становится красным.

Количественное определение проводят методом УФ-спектрофотометрии.

Взвешивают и растирают в порошок 20 таблеток. Добавляют количество порошка, соответствующее 0,15 г парацетамола (точная навеска), к 50 мл 0,1 М раствора натрия гидроксида, разводят 100 мл воды, встряхивают 15 мин и разводят водой до 200 мл. Перемешивают, фильтруют и разводят 10 мл фильтрата до 100 мл воды. Добавляют 10 мл этого раствора к 10 мл 0,1 М раствора натрия гидроксида и разводят до 100 мл водой.

Измеряют оптическую плотность полученного раствора в кювете шириной 1 см при максимуме 257 нм и рассчитывают содержание $C_8H_9NO_2$ (парацетамола). Удельный показатель поглощения $A_{1\text{ см}}^{1\%}$ равен 715.

7.1.2. Парентеральные лекарственные формы

7.1.2.1. Общие требования по ГФ

Общие требования к инъекционным лекарственным формам изложены в общей статье ГФ «Парентеральные лекарственные формы» («Лекарственные средства для парентерального применения»).

К лекарственным средствам для парентерального применения относятся стерильные водные и неводные растворы, суспензии, эмульсии и сухие твердые вещества (порошки, пористые массы, таблетки), которые растворяют в стерильном растворителе непосредственно перед введением.

Для приготовления лекарственных средств для парентерального применения используют лекарственные, вспомогательные вещества и растворители, разрешенные к медицинскому применению.

Лекарственные средства для парентерального применения должны быть стерильными, практически свободными от видимых механических включений, выдерживать испытания на пирогенность и токсичность в соответствии с требованиями частных статей.

В качестве растворителей применяют воду для инъекций, жирные масла, этилолеат.

При изготовлении лекарственных средств для парентерального применения могут быть добавлены консерванты, антиоксиданты, стабилизаторы и другие вспомогательные вещества. Количество добавляемых вспомогательных веществ, если нет других указаний в частных статьях, не должно превышать следующих концентраций: для веществ, подобных хлорбутанолу, крезолу, фенолу, — до 0,5%; для сернистого ангидрида или эквивалентных количеств сульфита, бисульфита или метабисульфита калия или натрия — до 0,2%.

Лекарственные средства для внутримышечных, внутрисердечных, внутриглазных или других инъекций, имеющих доступ к спинномозговой жидкости, а также при разовой дозе, превышающей 15 мл, не должны содержать консервантов.

Растворы должны быть прозрачными по сравнению с водой для инъекций или соответствующим растворителем, если нет других указаний в частных статьях.

Окраску лекарственных средств для парентерального применения определяют путем сравнения с эталонами цветности в соответствии со статьей ГФ «Определение окраски жидкостей» или указаниями частных статей. Бесцветными считаются жидкости, которые по цвету не отличаются от воды или от соответствующего растворителя, применяемого для приготовления растворов.

Объем инъекционных растворов в сосудах должен быть больше номинального: например, для водных растворов при номинальном объеме 1 мл объем заполнения должен быть 1,1 мл, соответственно, при номинальном объеме 2 мл — объем заполнения 2,15 мл; при объеме 5,0 мл — 5,30 мл, при объеме 10 мл — 10,5 мл и т. д. (ГФ).

В сосудах вместимостью до 50 мл наполнение проверяют калиброванным шприцем, в сосудах вместимостью 50 мл и более — калиброванным цилиндром при температуре 20 ± 2 °С.

Стерильность, токсичность и пирогенность проверяют в соответствии со статьями ГФ «Испытание на стерильность», «Испытание на токсичность», «Испытание на пирогенность». Испытанию на пирогенность подлежат все лекарственные средства для парентерального применения при объеме одноразовой дозы 10 мл и более, а также при меньшей дозе, если есть указание в частной статье.

Испытания на механические включения лекарственных средств для парентерального применения проводят по соответствующим утвержденным инструкциям.

Определение средней массы сухих лекарственных средств для парентерального применения проводят путем взвешивания порознь 20 предварительно вскрытых сосудов с точностью до 0,001 г. Рассчитывают среднюю массу 20 сосудов и массу содержимого каждого сосуда.

Для стерильных сухих лекарственных средств для инъекций и суспензий при массе содержимого сосуда 0,05 г и менее проводят испытание **однородности дозирования**. Испытанию подвергают содержимое 10 сосудов порознь по методикам количественного определения, указанным в частных статьях. Содержание действующего вещества не должно отклоняться от номинального более чем на $\pm 15\%$. Если в одном сосуде отклонение превышает $\pm 15\%$, но не более $\pm 25\%$, то проводят дополнительное испытание в 20 сосудах. Отклонения содержания действующего вещества более $\pm 15\%$ не должно быть ни в одном из 20 сосудов.

Маркировка. На каждой ампуле (сосуде) указывают название лекарственного средства, его концентрацию или активность, объем или массу, номер серии.

7.1.2.2. Общие требования по МФ III, т. 4

Парентеральные лекарственные средства — это стерильные апиrogenные жидкости (растворы, эмульсии или суспензии) или твердые лекарственные формы, содержащие один или несколько активных ингредиентов, которые находятся

в упаковке, содержащей одну или несколько доз. Они предназначены для введения путем инъекции, инфузии или имплантации.

Такие лекарственные средства, как вакцины, человеческая кровь и продукты, полученные из человеческой крови, растворы для перитонеального диализа, радиоактивные лекарственные средства должны иметь определенный состав, изготавливаться по специальной технологии и выпускаться в виде особых лекарственных форм в соответствии с некоторыми общими требованиями.

Описаны четыре основные формы парентеральных лекарственных средств: для инъекций, для внутривенных вливаний (парентеральные лекарственные средства больших объемов), порошки для приготовления инъекционных растворов и имплантаты. Некоторые лекарственные средства для инъекций и внутривенных вливаний могут выпускаться в виде стерильных концентрированных растворов, которые непосредственно перед использованием соответствующим образом разводят.

Парентеральные лекарственные средства могут содержать различные вспомогательные вещества, такие как растворители, суспендирующие средства, буферные агенты, вещества, делающие лекарственные средства изотоничными крови человека, стабилизаторы и антимикробные консерванты. Содержание вспомогательных веществ в парентеральных лекарственных средствах должно быть минимальным. Такие вещества не должны неблагоприятно воздействовать на стабильность, биологическую доступность, безопасность и эффективность активного ингредиента (ингредиентов). Они не должны вызывать токсических реакций и чрезмерного местного раздражения. Все компоненты таких лекарственных форм должны быть совместимы друг с другом.

Вода для инъекций используется как растворитель в водных инъекционных лекарственных средствах. Она должна быть свежедистиллированной, не содержать углерода диоксида и соответствовать требованиям испытания на пирогенность. Стерилизацию на этой стадии можно не проводить, если раствор или лекарственное средство стерилизуют на конечной стадии изготовления. В неводных лекарственных формах для инъекций в качестве растворителя используют жидкие растительные масла.

Если в частной статье нет иных указаний, в водный раствор для инъекций можно добавлять натрия хлорид или другое подходящее вещество (вещества) для того, чтобы сделать лекарственное средство изотоничным.

Тара. Парентеральные лекарственные формы обычно выпускают в стеклянных ампулах, бутылках или флаконах, пластиковых бутылках или пакетах и в заполненных шприцах, которые имеют соответствующую окраску, если в них находятся светочувствительные вещества.

Если в частной статье нет иных указаний, эти упаковки изготавливают из материала, который достаточно прозрачен для визуальной проверки содержимого. Тара не должна вредно воздействовать на качество лекарственной формы, ингредиенты лекарственной формы не должны диффундировать в стенки тары или через нее, никакие посторонние вещества не должны проникать из тары в лекарственную форму.

Пробки. Пробки тары с парентеральными лекарственными формами должны быть герметичными, предотвращать проникновение микроорганизмов

и других загрязняющих веществ и вместе с тем давать возможность извлекать часть содержимого или все содержимое при вскрытии. Пробки и крышки должны быть сделаны из инертных веществ, не вступающих в реакцию с содержимым и не позволяющих проникать извне посторонним веществам.

Пластики и эластомеры, из которых изготавливаются крышки и пробки, должны быть достаточно прочными и эластичными, чтобы при проколе их иглой возникало минимальное количество частиц. Крышки и пробки для упаковок, содержащих несколько доз лекарственного средства, должны быть достаточно эластичными и обеспечивать полное закрытие прокола после извлечения иглы, защищая тем самым содержимое от загрязнения. Некоторые упаковки, содержащие несколько доз лекарственного средства, имеют особое приспособление, которое ясно показывает, была ли такая упаковка ранее открыта.

Визуальная проверка. Визуально проверяют готовые растворы, растворы, полученные из порошка, и лекарственные формы для внутривенных вливаний (за исключением дисперсий). Они должны быть прозрачными и свободными от видимых частиц.

Указания на этикетке. Каждое лекарственное средство должно соответствовать требованиям к маркировке.

Этикетка вторичной упаковки (флакона, бутылки) должна содержать следующие сведения:

- 1) название лекарственного средства;
- 2) название активного ингредиента (ингредиентов) по МНН;
- 3) количество активного ингредиента (ингредиентов) в единице объема и объем содержимого; применительно к порошкам для инъекций — количество активного ингредиента (ингредиентов);
- 4) номер партии (серии), установленный изготовителем;
- 5) дата окончания срока годности и при необходимости — дата изготовления;
- 6) указания об особых условиях хранения или мерах предосторожности при обращении с данным лекарственным средством;
- 7) инструкции по применению, необходимые предупреждения и предостережения;
- 8) название и адрес изготовителя.

Для парентеральных лекарственных средств, представляющих собой растворы или дисперсии, концентрацию активного ингредиента (ингредиентов) следует выражать в виде значений массы или биологической активности на единицу объема. На этикетках концентрированных растворов должны быть указаны состав разводящей жидкости и степень разведения перед использованием.

Испытание на стерильность. Парентеральные лекарственные средства должны быть стерильными.

Испытание на пирогенность. Все лекарственные средства для внутривенных вливаний и те инъекционные лекарственные средства и порошки для инъекций, объем одной вводимой дозы которых составляет 15 мл и более, должны быть апирогенными. Кроме того, при наличии соответствующего указания в частных статьях на лекарственные средства, в которых активные Ingredi-

енты имеют биологическое происхождение, порошки для инъекций и сами инъекционные лекарственные средства должны соответствовать требованиям «Испытания на пирогенность», независимо от объема разовой дозы.

Для инъекционных лекарственных средств испытуемое количество зависит от объема дозы и должно быть указано в частной статье. Это количество также зависит от дозы активного ингредиента (ингредиентов), переносимой животными.

Применительно к порошкам для инъекций количество, которое необходимо испытать, природа и объем жидкости, в которой его необходимо растворить или суспендировать, должны быть указаны в частной статье.

Требования к определенным категориям парентеральных лекарственных средств

1. Лекарственные средства для инъекций

Лекарственные средства для инъекций — это стерильные апиrogenные растворы или дисперсии (эмульсии или суспензии) одного или нескольких активных ингредиентов в подходящем носителе.

По возможности для приготовления таких лекарственных средств в качестве носителя следует использовать воду. В случае необходимости соответствующие неводные растворители указываются в частных статьях. Инъекционные лекарственные средства, являющиеся дисперсиями, должны оставаться достаточно стабильными, чтобы после встряхивания можно было сохранить однородную дозу.

Желательно применять тару, содержащую одну дозу, это особенно важно в тех случаях, когда лекарственные средства предназначены для введения такими путями, при которых по медицинским причинам недопустимо использование антимикробных консервантов, например, внутрь цистерны или в подоболочечное пространство.

Тара на одну дозу. В такой таре должно содержаться достаточное количество лекарственного средства, позволяющее легко набирать и вводить объем, указанный на этикетке.

Тара на несколько доз. Лекарственные средства в такой таре должны содержать подходящий антимикробный консервант в соответствующей концентрации, за исключением тех случаев, когда сами лекарственные средства обладают достаточными антимикробными свойствами. Эта тара должна обеспечивать соответствующую защиту оставшегося в ней содержимого после взятия части его для инъекции. Чтобы снизить до минимума риск загрязнения, связанный с многократным проколом пробки, объем содержимого тары на несколько доз не должен превышать 30 мл.

2. Лекарственные средства для внутривенного вливания

Лекарственные средства для внутривенного вливания — это стерильные апиrogenные водные растворы или эмульсии с водой в качестве дисперсионной фазы, обычно изотоничные плазме крови. Такие лекарственные средства вводятся в больших объемах (обычно 100 мл и более), и они не должны содержать каких-либо антимикробных консервантов.

При визуальной проверке эмульсий для внутривенных вливаний не должно быть признаков расслоения фаз. Величину частиц дисперсной фазы должен контролировать изготовитель.

3. Порошки для инъекций

Порошки для инъекций — это твердые вещества (включая лиофилизированные материалы), находящиеся в соответствующих флаконах и ампулах, которые при добавлении предписанного объема подходящей стерильной жидкости легко образуют прозрачные и практически свободные от нерастворившихся частиц растворы или однородные суспензии. Порошки для инъекций после растворения или суспендирования должны соответствовать требованиям, предъявляемым к лекарственным средствам для инъекций или для внутривенных вливаний.

Однородность массы. Порошки для инъекций (содержащие одну дозу) должны соответствовать требованиям испытания на однородность массы лекарственных средств, содержащих одну дозу, если в частной статье нет иных указаний.

Однородность содержания. Некоторые частные статьи предусматривают проведение испытания на однородность количества активных ингредиентов в лекарственных средствах, содержащих одну дозу, если количество активного ингредиента составляет менее 40 мг. В этих случаях испытание на однородность массы лекарственных средств, содержащих одну дозу не проводят.

7.1.2.3. Растворы для инъекций

Раствор изониазида 10% для инъекций

Состав:

Изониазида	100 г
Воды для инъекций	до 1 л

Описание. Прозрачная бесцветная жидкость без запаха. Лекарственное средство идентифицируют по реакциям с меди сульфатом (комплексобразование и окисление гидразина) и аммиачным раствором серебра нитрата (по восстановлению серебра).

Подлинность. К 1 мл раствора лекарственного средства прибавляют 4 мл воды и 5 капель раствора меди сульфата; выделяется осадок голубого цвета; при встряхивании раствор окрашивается также в голубой цвет. При нагревании до температуры 55 ± 2 °C раствор и осадок становятся светло-зеленого, а затем желто-зеленого цвета и выделяются пузырьки азота (гидразин).

К 0,1 мл лекарственного средства прибавляют 2 мл воды и 1 мл аммиачного раствора серебра нитрата; появляется осадок серого цвета, а на стенках пробирки образуется серебряное зеркало (гидразин).

Показатель кислотности 6,3—7,3 (потенциометрически; ГФ).

Количественное определение. Проводят методом УФ-спектрофотометрии при длине волны 259 нм.

1 мл лекарственной формы помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводят объем раствора водой до метки. Тщательно перемешивают и изме-

ряют оптическую плотность полученного раствора на спектрофотометре при длине волны 259 нм в кювете с толщиной слоя 1 см. В качестве раствора сравнения применяют воду. Параллельно измеряют оптическую плотность раствора РСО изониазида.

Содержание изониазида в 1 мл раствора в граммах (x) вычисляют по формуле:

$$x = \frac{A_1 \cdot 0,00002 \cdot 100 \cdot 100}{A_0 \cdot 2 \cdot 1} = \frac{A_1 \cdot 0,1}{A_0}$$

где A_1 — оптическая плотность испытуемого раствора;
 A_0 — оптическая плотность раствора РСО;
0,00002 — масса изониазида в 1 мл раствора РСО, г.

Содержание изониазида в 1 мл лекарственного средства должно быть от 0,095 до 0,105 г.

Приготовление раствора РСО изониазида. 0,1000 г (точная навеска) изониазида, отвечающего требованиям ФС, растворяют в воде в мерной колбе вместимостью 100 мл, доводят объем раствора водой до метки. 2 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводят объем раствора водой до метки.

1 мл раствора РСО содержит 0,00002 г изониазида.

Раствор применяют свежеприготовленным.

Раствор аналгина 25% и 50% для инъекций

Состав:

Аналгина для инъекций	250 или 500 г
Воды для инъекций	до 1 л

Лекарственное средство представляет собой прозрачную бесцветную или желтоватую жидкость. Для идентификации используют реакции окисления и гидролитического расщепления (см. разд. 6.3.3).

Подлинность. 0,2 мл 50% или 0,4 мл 25% раствора разбавляют водой до 1 мл, прибавляют 0,5 мл серной кислоты разведенной и 0,5 мл свежеприготовленного раствора хлорной извести; появляется голубое окрашивание, переходящее в зеленое, затем желтое.

0,1 мл 50% раствора или 0,2 мл 25% раствора разбавляют водой до 1 мл, прибавляют 2 мл хлороводородной кислоты разведенной и кипятят 2 мин на водяной бане; ощущается запах сернистого ангидрида. После охлаждения прибавляют 1 мл раствора железа (III) хлорида. Через 2 мин появляется темно-красное окрашивание.

0,2 мл 50% раствора или 0,4 мл 25% раствора разбавляют водой до 10 мл, прибавляют 1 мл раствора железа (III) хлорида; появляется темно-синее окрашивание, переходящее в темно-зеленое, затем в желтое (отличие от антипина).

Лекарственное средство дает характерную реакцию Б на натрий (ГФ).

Показатель кислотности 6,0—7,5. Определяется потенциометрически (ГФ).

Количественное определение. Проводят йодометрическим методом.

5 мл 25% или 2,5 мл 50% раствора лекарственного средства переносят в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводят объем раствора 95% спиртом до метки. Содержимое колбы тщательно перемешивают. К 5 мл полученного раствора прибавляют 5 мл хлороводородной кислоты разведенной, перемешивают и быстро при постоянном перемешивании титруют 0,1 М раствором йода. В конце титрования раствор йода прибавляют каплями до слабо-желтого окрашивания, не исчезающего в течение 1 мин. 1 мл 0,1 М раствора йода соответствует 0,001757 г $C_{13}H_{16}N_3NaO_4S \cdot H_2O$ (анальгина), которого в 1 мл лекарственного средства должно быть от 0,237 до 0,257 г или от 0,475 до 0,515 г.

Раствор никотиновой кислоты 1% для инъекций

Состав:

Никотиновой кислоты	10 г
Натрия гидрокарбоната	7 г
Воды для инъекций	до 1 л

Лекарственное средство представляет собой прозрачную бесцветную жидкость.

Для идентификации используют реакцию образования синего осадка никотината меди, а также УФ-спектрофотометрию.

Количественное определение проводится методом УФ-спектрофотометрии с использованием РСО кислоты никотиновой.

Подлинность. К 3 мл теплого раствора лекарственного средства прибавляют 1 мл раствора меди сульфата; выпадает осадок синего цвета (никотиновая кислота).

УФ-спектр 0,001% раствора, приготовленного для количественного определения, при длине волн от 230 до 300 нм имеет максимум поглощения при длине волн 261 нм.

Показатель кислотности 5,0—7,0 (потенциометрически; ГФ).

Количественное определение. 1 мл лекарственного средства помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора 0,1 М раствором кислоты хлороводородной до метки и перемешивают. 10 мл полученного раствора переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора 0,1 М раствором хлороводородной кислоты до метки, перемешивают и измеряют оптическую плотность на спектрофотометре при длине волны 261 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм.

Параллельно измеряют оптическую плотность раствора РСО никотиновой кислоты.

В качестве раствора сравнения используют 0,1 М раствор хлороводородной кислоты.

Содержание никотиновой кислоты в 1 мл лекарственного средства в граммах (x) вычисляют по формуле:

$$x = \frac{A_1 \cdot 0,00001 \cdot 100 \cdot 100}{A_0 \cdot 1 \cdot 10} = \frac{A_1 \cdot 0,01}{A_0}$$

где A_1 — оптическая плотность испытуемого раствора;
 A_0 — оптическая плотность раствора РСО.

Содержание $C_6H_5NO_2$ (никотиновой кислоты) в 1 мл лекарственного средства должно быть от 0,0097 до 0,0103 г.

Приготовление раствора РСО никотиновой кислоты. 0,1000 г (точная навеска) никотиновой кислоты растворяют в 0,1 М растворе хлороводородной кислоты в мерной колбе вместимостью 100 мл и доводят объем раствора 0,1 М раствором хлороводородной кислоты до метки. 1 мл полученного раствора переносят пипеткой в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора 0,1 М раствором хлороводородной кислоты до метки и перемешивают. 1 мл полученного раствора РСО содержит 0,00001 г никотиновой кислоты.

Раствор годен в течение 3 сут.

7.1.2.4. Порошки для инъекций

Бензилпенициллина калиевой соли порошок для инъекций

Описание. Белый или почти белый кристаллический порошок.

Категория. Антибактериальное средство.

Хранение. Бензилпенициллина калиевой соли порошок для инъекций следует хранить при температуре не выше 25 °С. Если иначе не рекомендовано изготовителем, приготовленную из порошка суспензию использовать в течение 24 ч в случае хранения при температуре не выше 20 °С или в течение 7 дней (14 дней при добавлении в порошок буферного агента) в случае хранения при температуре от 2 до 8 °С.

Указания на этикетке. На этикетке должны быть указаны природа буферного агента и дата окончания срока годности.

Дополнительная информация. Количество бензилпенициллина в порошке, включенном в примерный перечень основных лекарственных средств ВОЗ: 600 мг и 3 г.

Бензилпенициллина калиевой соли порошок для инъекций обычно содержит подходящий буферный агент. Порошок стерилизуют соответствующим методом.

Требования. Во флаконе с бензилпенициллина калиевой соли порошком для инъекций содержится не менее 90,0 и не более 110,0% количества $C_{16}H_{17}KN_2O_4S$, указанного на этикетке.

Подлинность. Можно проводить испытания 1 и 4 или испытания 2, 3 и 4.

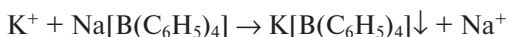
1) Проводят испытание методом **ИК-спектроскопии**. ИК-спектр поглощения испытуемого вещества соответствует спектру стандартного образца бензилпенициллина калиевой соли или спектру сравнения бензилпенициллина калиевой соли.

2) Определение основано на **образовании пенициллоиновой кислоты** при гидролитическом расщеплении бензилпенициллина калиевой соли под действием пенициллиназы. Затем пенициллоиновая кислота в тиольной форме при рН 4,6 (ацетатный буфер) гидролизует до пенальдиновой кислоты и пеницилламина, а при добавлении раствора йода происходит окисление продуктов гидролиза до дегидропенальдиновой кислоты и пеницилламиновой кислоты. Раствор остается бесцветным при добавлении к нему раствора крахмала, так как йод расходуется на окисление. Параллельно проводят реакцию в тех же условиях, но без пенициллиназы. Йод не окисляет бензилпенициллина калиевую соль, и при добавлении раствора крахмала появляется синее окрашивание.

а) Растворяют количество порошка для инъекций, соответствующее 0,1 г бензилпенициллина калиевой соли, в некотором количестве фосфатного буфера с pH 7,0 (0,067 моль/л) и доводят объем раствора этим же буфером до 100 мл. Разводят 10 мл раствора тем же буфером до 100 мл (раствор А). К 10 мл раствора А добавляют 0,5 мл раствора, приготовленного путем разведения 1 мл пенициллиназы до 10 мл водой, и оставляют при 30 °С на 10 мин (раствор Б). Помещают по 5 мл растворов А и Б в две отдельные пробирки и в каждую из них добавляют по 10 мл ацетатного буфера с pH 4,6 и по 5 мл 0,0005 М раствора йода. После перемешивания содержимого каждой пробирки добавляют по 0,1 мл раствора крахмала; смесь, полученная с раствором А, имеет синий цвет, а смесь с раствором Б остается бесцветной.

3) К количеству порошка для инъекций, соответствующему 2 мг бензилпенициллина калиевой соли, находящемуся в пробирке, добавляют 1 каплю воды и затем 2 мл серной кислоты концентрированной и перемешивают; раствор бесцветный. Помещают пробирку на 1 мин в водяную баню; раствор остается бесцветным. Помещают такое же количество порошка для инъекций во вторую пробирку, добавляют 1 каплю воды и 2 мл раствора формальдегида в кислоте серной и перемешивают; раствор имеет коричневато-желтый цвет. Помещают пробирку на 1 мин в водяную баню; возникает красновато-коричневое окрашивание (см. разд. 6.1.6.1).

4) Реакция на калий основана на образовании белого осадка тетрафенилбората калия при добавлении раствора тетрафенилбората натрия к щелочному раствору остатка после прокаливания порошка для инъекций.



б) Небольшое количество порошка для инъекций прокаливают, растворяют остаток в воде и фильтруют; при добавлении к фильтрату 2 мл 8% раствора натрия гидроксида и 3 мл 3% раствора натрия тетрафенилбората образуется белый осадок тетрафенилбората калия.

Прозрачность и цвет раствора. Раствор порошка для инъекций, содержащий 0,2 г бензилпенициллина калиевой соли в 10 мл свободной от углерода (IV) оксида воде, прозрачен и бесцветен (раствор сохраняют для испытания «рН раствора»).

Потеря при высушивании. Высушивают порошок для инъекций до постоянной массы при температуре 105 °С; потеря не более 10 мг/г.

Кислотность раствора. Раствор, приготовленный в испытании «Прозрачность и цветность раствора», имеет pH = 5,5—7,5.

Количественное определение. Проводят методом УФ-спектрофотометрии.

Смешивают содержимое 10 флаконов и проводят испытание, как указано ниже.

Растворяют количество порошка для инъекций, соответствующее 50 мг бензилпенициллина калиевой соли (точная навеска), в некотором количестве воды и доводят объем раствора водой до 1000 мл. Переносят две порции этого раствора, каждая по 2 мл, в две отдельные пробирки с притертыми пробками. В одну пробирку добавляют 10 мл раствора имидазола и ртути хлорида, перемешивают, закрывают пробирку пробкой и помещают на водяную баню темпера-

туры 60 °С ровно на 25 мин. Быстро охлаждают пробирку до 20 °С (раствор А). Во вторую пробирку добавляют 10 мл воды и перемешивают (раствор Б).

Сразу же измеряют поглощение в кювете шириной 1 см при максимуме около 325 нм против контрольной кюветы, содержащей смесь из 2 мл воды и 10 мл раствора имидазола и ртути хлорида (для раствора А) и 12 мл воды (для раствора Б).

По разнице между поглощением раствора А и Б рассчитывают количество $C_{16}H_{17}KN_2O_4S$ в порошке для инъекций путем сравнения с бензилпенициллина натриевой солью, исследованной таким же образом и одновременно. Исходят из того, что каждый миллиграмм бензилпенициллина натриевой соли ($C_{16}H_{17}N_2NaO_4S$) соответствует 1,045 мг бензилпенициллина калиевой соли ($C_{16}H_{17}KN_2O_4S$). При использовании соответственно прокалиброванного спектрофотометра оптическая плотность стандартного раствора должна составлять $0,62 \pm 0,03$.

Пирогенность. Проводят испытание, как описано в разделе «Испытание на пирогенность», вводя на 1 кг массы тела кролика 5 мл раствора в стерильной воде, содержащей количество порошка для инъекций, соответствующее 1,5 мг бензилпенициллина калиевой соли.

7.2. Анализ лекарственных средств внутриаптечного производства

Важными факторами, определяющими качество лекарственных средств, изготовляемых в аптеках, является постановка и выполнение внутриаптечного контроля.

Лекарственные формы, как правило, содержат 3—4 и более веществ из разных групп химических соединений, для разделения, идентификации и количественного определения которых необходимы быстро выполняемые и надежные методики анализа. Возросли требования к технологии изготовления и контролю качества растворов для инъекций, глазных капель, лекарственных форм для новорожденных и др.

В аптечных учреждениях применяются различные виды контроля. Самым надежным и эффективным на всех участках работы является химический контроль, позволяющий установить соответствие лекарственного средства выписанному рецепту и доброкачественность его изготовления, в соответствии с приказом Минздрава РФ № 214 от 16.07.97.

Внутриаптечный химический контроль заключается в определении подлинности лекарственных веществ при помощи специфических реакций осаждения, цветных, флуоресцентных, а также их количественного содержания в лекарственных формах с использованием различных титриметрических, рефрактометрических, фотоколориметрических и других методов.

Качественному анализу повергаются *обязательно*:

1) вода очищенная и вода для изготовления растворов для инъекций в соответствии с требованиями ГФ ежедневно (из каждого баллона и при подаче воды по трубопроводу — на каждом рабочем месте) на отсутствие хлоридов, сульфатов и солей кальция. Вода, предназначенная для изготовления стерильных растворов, кроме указанных выше испытаний, должна быть проверена

на отсутствие восстанавливающих веществ, углерода (IV) оксида; допустимой примеси солей аммония. Ежеквартально вода очищенная должна направляться в территориальную контрольно-аналитическую лабораторию для полного химического анализа;

2) все лекарственные средства, концентраты и полуфабрикаты, в том числе гомеопатические настойки, тритурации, растворы, разведения, поступающие из помещений хранения в ассистентскую, а также лекарственные средства, поступающие в аптеку со склада и вызывающие сомнения;

3) концентраты, полуфабрикаты и жидкие лекарственные средства в бюреточной установке и пипетках в ассистентской комнате — ежедневно;

4) лекарственные средства промышленного производства, расфасованные в аптеке (каждая серия).

Качественному анализу подвергаются *выборочно*:

1) лекарственные формы, изготовленные по индивидуальным рецептам и требованиям лечебно-профилактических учреждений, — выборочно в течение рабочего дня у каждого фармацевта;

2) все виды лекарственных форм;

3) лекарственные формы для детей (особенно для новорожденных), средства, применяемые в глазной практике, а также содержащие наркотические и ядовитые вещества.

Качественному и количественному анализу (полный химический контроль) подвергаются *обязательно*:

1) все растворы для инъекций до стерилизации, включая определение рН изотонирующих и стабилизирующих веществ. Растворы для инъекций после стерилизации проверяются на рН, подлинность и количественное содержание действующих веществ. Стабилизаторы в этих растворах после стерилизации проверяются в случаях, предусмотренных действующими инструкциями;

2) глазные капли и мази, содержащие наркотические и ядовитые вещества. При анализе глазных капель определяется также содержание изотонирующих и стабилизирующих веществ.

При отсутствии в штате аптеки провизора-аналитика заведующий аптекой обязан обеспечить полный химический анализ глазных капель, содержащих атропина сульфат, гоматропина гидробромид, дикаин, пилокарпина гидрохлорид, серебра нитрат, скополамина гидробромид, этилморфина гидрохлорид;

3) все лекарственные формы для новорожденных. При отсутствии методик количественного анализа лекарственных форм для новорожденных эти лекарственные формы должны быть проверены методом качественного анализа. Как исключение сложные лекарственные формы, для которых не существует методик качественного и количественного анализа, для новорожденных изготавливают в присутствии провизора-аналитика или провизора-технолога («под наблюдением»).

4) растворы хлористоводородной кислоты (для внутреннего употребления), атропина сульфата и серебра нитрата;

5) все концентраты и полуфабрикаты (в том числе тритурации), а также гомеопатические разведения неорганических и органических лекарственных веществ их тритураций до третьего десятичного разведения;

- 6) все внутриаптечные заготовки лекарственных средств (каждая серия);
- 7) стабилизаторы, применяемые при изготовлении растворов для инъекций, и буферные растворы, применяемые при изготовлении глазных капель;
- 8) спирт этиловый путем определения плотности спиртомером при разведении в аптеке, а в случае необходимости — при приемке со склада.

Качественному и количественному анализу (полный химический контроль) подвергаются *выборочно*:

1) лекарственные формы, изготовленные в аптеке по индивидуальным рецептам или требованиям лечебно-профилактических учреждений, проверяются провизором-аналитиком выборочно, но не менее восьми лекарственных форм при работе в одну смену с учетом всех видов лекарственных форм. Особое внимание следует обращать на контроль лекарственных форм для детей; средств, применяемых в глазной практике, а также содержащих наркотические и ядовитые вещества; растворов для лечебных клизм;

2) скоропортящиеся и нестойкие лекарственные средства (растворы аммиака, водорода пероксида, йода и формальдегида) проверяются периодически, но не реже одного раза в квартал.

При внутриаптечном контроле качества лекарственных средств применяется экспресс-метод анализа. Этот метод заключается в использовании приемов, обеспечивающих быстрое проведение контроля при минимальной затрате анализируемых веществ и реактивов, для исключения необходимости повторного изготовления проверенной лекарственной формы для больного.

Для определения подлинности лекарственных веществ обычно используют цветные, флуоресцентные реакции и реакции осаждения. Массу навески лекарственной формы берут с учетом предела обнаружения анализируемого вещества, т. е. минимальной концентрации, ниже которой реакция уже не дает положительного результата.

Для количественного определения веществ в лекарственных формах используют несложные методики, исключающие, как правило, длительную подготовку объектов анализа и применение сложных приборов.

Массу навески или объем лекарственной формы берут из такого расчета, чтобы на титрование каждого вещества, входящего в смесь, расходовалось не менее 1 мл и не более 3—5 мл титрованного раствора.

Для титрования применяют микробюретки, цена деления которых составляет 0,02 мл. Необходимые объемы жидких лекарственных форм отмеряют пипеткой с ценой деления 0,02 мл (1 и 2 мл); 0,05 мл (5 мл); 0,1 мл (10 мл); массы навесок порошков, суппозиторий и мазей — отвешивают на ручных аптечных весах (с точностью 0,01 г); массу навески мази или суппозиторий откладывают на заранее тарированной пергаментной бумаге и используют для анализа вместе с ней.

В зависимости от выписанной дозы вещества и массы навески, взятой для анализа, применяют титрованные растворы различной нормальности и молярности: 0,01 н.; 0,02 н.; 0,1 н.; 0,01 М; 0,05 М; 0,1 М.

Расчет объема титрованного раствора, затраченного на титрование массы навески или объема лекарственной формы, взятых для анализа, проводят следующим образом: если анализируется жидкая лекарственная форма, то удоб-

нее сначала рассчитать содержание определяемого вещества в 1 мл или в 1 г лекарственной формы и, разделив найденное количество на титр, определить объем (мл) раствора, который будет израсходован на титрование. Например, анализируется кислота салициловая в лекарственной форме:

салициловой кислоты — 0,25;
спирта этилового 70% — 50 мл.

В 1 мл данной смеси содержится 0,005 г салициловой кислоты. При титровании салициловой кислоты 0,02 н. раствором натрия гидроксида эквивалент салициловой кислоты равен М. М. (138,12), а титр = $\frac{0,02 \cdot 138,12}{1000} = \frac{2,7624}{1000} = 0,002762$ г.

Таким образом, на титрование 1 мл данной лекарственной формы будет израсходовано: $\frac{0,005}{0,002762} = 1,8$ мл 0,02 н. раствора натрия гидроксида.

При анализе порошковых лекарственных форм удобнее рассчитывать, сколько титрованного раствора будет израсходовано на титрование того или иного компонента, содержащегося в одном порошке. Например, анализируются порошки:

дибазола — 0,03;
сахара — 0,25.

Эквивалент дибазола при титровании 0,1 н. раствором натрия гидроксида равен М. М. (244,73), а титр = $\frac{0,1 \cdot 244,73}{1000} = 0,024473$ г.

Следовательно, на титрование дибазола в одном порошке будет израсходовано: $\frac{0,03}{0,024473} = 1,23$ мл 0,1 н. раствора натрия гидроксида.

Для анализа можно взять часть порошка, например 0,1 г, и титровать 0,02 М раствором натрия гидроксида.

Если в лекарственных формах выписано несколько ингредиентов, которые титруют одним титрованным раствором, то для них навеску лекарственной формы на суммарное титрование рассчитывают таким образом:

калия бромид — 3,0;
калия йодида — 2,0;
воды очищенной — 100,0.

В 1 мл микстуры содержится 0,03 г калия бромид и 0,02 г калия йодида. Титр 0,1 н. раствора серебра нитрата по калия бромиду равен 0,0119, на титрование будет затрачено:

$\frac{0,03}{0,0119} = 2,52$ мл 0,1 н. раствора серебра нитрата на 1 мл микстуры; титр

0,1 н. раствора серебра нитрата по калия йодиду равен 0,0166 г. Расход титрованного раствора:

$\frac{0,02}{0,0166} = 1,21$ мл. Всего на 1 мл микстуры будет израсходовано $2,52 + 1,21 = 3,73$ мл титрованного раствора.

Расчет содержания препаратов в лекарственных формах производят по формулам.

Жидкие лекарственные формы

а) концентрация препарата, %:

$$x = \frac{V \cdot K \cdot T \cdot 100\%}{a}$$

где V — количество титрованного раствора, израсходованного на титрование, мл;
 T — титр, количество испытуемого препарата, соответствующего 1 мл титрованного раствора, г;
 a — объем лекарственной формы, взятой для анализа, мл;
 K — коэффициент поправки на титрованный раствор.

б) содержание препарата, г:

$$x = \frac{V \cdot K \cdot T \cdot V_1}{a}$$

где V_1 — объем испытуемой лекарственной формы, мл.

Порошки

Содержание препарата в одном порошке, г:

$$x = \frac{V \cdot K \cdot T \cdot P}{a},$$

где a — масса навески порошка, взятая для анализа, г;
 P — масса порошка по прописи рецепта, г.

Мази

а) концентрация препарата, %:

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

где a — навеска мази, взятая для анализа, г.

б) содержание препарата, г:

$$x = \frac{V \cdot K \cdot T \cdot P}{a},$$

где P — масса мази по прописи, г;
 a — масса навески мази, взятая для анализа, г.

Часто при анализе лекарственных смесей проводится контрольный опыт с теми же количествами реактивов и в тех же условиях, но без анализируемого вещества. Расчет содержания вещества в процентах (C) или граммах (x) вычисляют с учетом контрольного опыта по формулам.

При прямом титровании:

$$C = \frac{(V - V_k) \cdot K \cdot T \cdot 100}{a} \quad \text{или} \quad x = \frac{(V - V_k) \cdot K \cdot T \cdot P}{a}$$

где V — объем титрованного раствора, израсходованного на титрование определяемого вещества, мл;
 V_k — объем титрованного раствора, израсходованного при проведении контрольного опыта, мл;
 a — масса навески (г) или объем (мл) лекарственной формы, взятые для анализа;
 P — масса порошка или мази по прописи (г) или общий объем жидкой лекарственной формы (мл).

При обратном титровании:

$$C = \frac{(V_k - V) \cdot K \cdot T \cdot 100}{a} \quad \text{или} \quad x = \frac{(V_k - V) \cdot K \cdot T \cdot P}{a}$$

При анализе двух- и трехкомпонентных лекарственных смесей часто используют метод рефрактометрии, причем один или два ингредиента определяют титриметрическими методами. Содержание компонента, титриметрическое определение которого затруднено, устанавливают рефрактометрически, т. е. определяют показатель преломления раствора (n) и показатель преломления растворителя (n_0), а концентрацию компонента в процентах рассчитывают по формуле (см. разд. 1.2).

При количественном суммарном определении галогенидов, например в растворе Рингера, проводят вычисление среднего титра.

Средний титр (T_{cp}) — это количество смеси определяемых веществ (г), соответствующее 1 мл титранта. Его величина зависит от титров анализируемых веществ и соотношения этих веществ в лекарственной форме. Средний титр вычисляется из отношения суммы масс навески (a), взятой для анализа (г), к суммарному теоретическому объему (V) титрованного раствора, необходимому для их титрования (мл), т. е. $T_{\text{cp}} = a / V$. При расчете среднего титра можно исходить из любой массы навески или объема лекарственной формы. Например, при суммарном титровании хлоридов натрия, калия и кальция 0,1 н. раствором серебра нитрата в растворе Рингера средний титр (T_{cp}) вычисляется следующим образом: в 1 мл раствора, взятого для анализа, содержится натрия хлорида 0,009 г, калия и кальция хлоридов — по 0,0002 г. Титр натрия хлорида — 0,005844 г, калия хлорида — 0,007456 г, кальция хлорида — 0,01095 г. На титрование натрия хлорида потребуется $0,009 / 0,005844 = 1,54$ мл титранта; калия хлорида $0,0002 / 0,007456 = 0,027$ мл; кальция хлорида $0,0002 / 0,01095 = 0,018$ мл. С использованием этих данных получим:

$$T_{\text{cp}} = \frac{0,0096 + 0,0002 + 0,0002}{1,54 + 0,027 + 0,018} = 0,00593 \text{ г}$$

Оценка качества анализируемой лекарственной формы проводится в соответствии с приказом Минздрава РФ № 305 от 16.10.97 по нормам допустимых отклонений при изготовлении лекарств в аптеках. Для оценки качества изго-

товленных лекарственных средств применяются два термина: «удовлетворяет» или «не удовлетворяет» требованиям действующей фармакопеи и инструкции, утвержденной приказом Минздрава (табл. 7.1).

Таблица 7.1

Отклонения, допустимые в массе навески отдельных лекарственных веществ

Порошки, суппозитории		Жидкие лекарственные формы при изготовлении			
прописанная масса, г	отклонение, %	Массообъемным способом		Способом по массе	
		прописанная масса, г	отклонение, %	прописанная масса, г	отклонение, %
До 0,02	± 20	До 0,02	± 20	До 0,1	± 20
Свыше 0,02 до 0,05	± 15	Свыше 0,02 до 0,1	± 15	Свыше 0,1 до 0,2	± 15
Свыше 0,05 до 0,2	± 10	—	—	Свыше 0,2 до 0,3	± 12
Свыше 0,2 до 0,3	± 8	Свыше 0,1 до 0,2	± 10	Свыше 0,3 до 0,5	± 10
Свыше 0,3 до 0,5	± 6	Свыше 0,2 до 0,5	± 8	Свыше 0,5 до 0,8	± 8
Свыше 0,5 до 1	± 5	Свыше 0,5 до 0,8	± 7	Свыше 0,8 до 1	± 7
Свыше 1 до 2	± 4	Свыше 0,8 до 1	± 6	Свыше 1 до 2	± 6
Свыше 2 до 5	± 3	Свыше 1 до 2	± 5	Свыше 2 до 10	± 5
Свыше 5 до 10	± 2	Свыше 2 до 5	± 4	Свыше 10	± 4
Свыше 10	± 1	Свыше 5	± 3	—	—

Нормы отклонений для мазей такие же, как и для жидких лекарственных форм, изготовленных способом по массе или массообъемным способом: до 10 г — $\pm 10\%$; от 10 до 20 г — $\pm 8\%$; от 20 до 50 г — $\pm 5\%$; от 50 до 150 г — $\pm 3\%$; от 150 до 200 г — $\pm 2\%$; свыше 200 г — $\pm 1\%$.

Для решения вопроса о доброкачественности анализируемого лекарственного средства необходимо сопоставить данные анализа с допустимыми нормами отклонений. Удобнее всего рассчитать отклонение от прописанной массы в процентах. Например, в жидкой лекарственной форме, приготовленной массообъемным методом, прописано 4 г калия бромида, а при количественном определении найдено 3,85 г. Отклонения от прописанной массы в процентах можно рассчитать двумя способами:

$$\begin{aligned} \text{а) } 4,0 & \text{ — } 100\% \\ 3,85 & \text{ — } x \\ x & = 96,25\% \end{aligned}$$

т. е. отклонение составляет: $100 - 96,26 = 3,75\%$;

$$\begin{aligned} \text{б) вычисляют отклонение, г: } 4 - 3,85 & = 0,15, \text{ а затем в процентах:} \\ 4,0 & \text{ — } 100\% \\ 0,15 & \text{ — } x \\ x & = 3,75\% \end{aligned}$$

Для массы от 2 до 5 г допускается отклонение $\pm 4\%$, следовательно, данная лекарственная форма приготовлена удовлетворительно. Аналогичный расчет проводится в отношении других лекарственных форм.

7.2.1. Анализ однокомпонентных жидких лекарственных форм (концентраты, микстуры, скоропортящиеся и нестойкие лекарственные формы)

Концентрированные растворы — это рабочие растворы лекарственных веществ определено большей концентрации, чем эти вещества прописываются в рецептах. Они применяются в аптеках при приготовлении жидких лекарственных форм массообъемным способом.

При изменении внешнего вида концентрированных растворов (цвет, прозрачность, появление мути, хлопьев, налетов, плесени) они не допускаются к применению.

Все приготовленные концентрированные растворы проверяют на идентичность, прозрачность и количественное содержание.

Для количественного анализа в большинстве случаев используют рефрактометрию, но применяются и объемные методы.

Раствор аммония хлорида 20%

Подлинность

Аммоний-ион. К 5—6 каплям раствора прибавляют 0,5—1 мл раствора натрия гидроксида и нагревают; выделяется аммиак, обнаруживаемый по запаху и посинению влажной красной лакмусовой бумаги.

Хлорид-ион. К 2—3 каплям раствора прибавляют по 2—3 капли хлороводородной кислоты разведенной и раствора серебра нитрата; образуется белый творожистый осадок, растворимый в растворе аммиака (см. разд. 2.3).

Количественное определение. 5 мл раствора помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводят объем раствора водой до метки. К 0,5 мл разведенного раствора прибавляют 2 мл воды, 1 каплю раствора калия хромата и титруют 0,1 М раствором серебра нитрата до оранжево-желтого окрашивания осадка.

1 мл 0,1 М раствора серебра нитрата соответствует 0,005349 г аммония хлорида.

Раствор гексаметиленetetрамина 10%; 2%

Подлинность. 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 серной кислоты концентрированной; 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 метиленового синего и титруют 0,1 М раствором хлороводородной кислоты до фиолетового окрашивания.

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

Для анализа 2% раствора берут 1 мл раствора гексаметилентетрамина, прибавляют 2 капли раствора метилового оранжевого.

Растворы калия бромиды 20%; 3%

Подлинность

Ион калия. 1) К 4—5 каплям раствора прибавляют 4—5 капель воды, 2—3 капли уксусной кислоты разведенной и 1—2 капли раствора натрия гексанитрокобальтата (III); образуется желтый кристаллический осадок (см. разд. 2.3).

2) К 4—5 каплям раствора прибавляют 2 мл воды и по 1 мл раствора натрия ацетата и винной кислоты; медленно образуется белый кристаллический осадок (см. разд. 2.3).

Бромид-ион. К 2—3 каплям раствора прибавляют 0,5 мл воды, 2—3 капли хлороводородной кислоты разведенной, 3—5 капель раствора хлорамина, 1 мл хлороформа и взбалтывают; хлороформный слой окрашивается в желтый цвет (см. разд. 2.3).

Количественное определение. 5 мл 20% раствора помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводят объем раствора водой до метки. К 1 мл полученного раствора прибавляют 2 мл воды, 1 каплю раствора калия хромата и титруют 0,1 М раствором серебра нитрата до оранжево-желтого окрашивания осадка.

1 мл 0,1 М раствора серебра нитрата соответствует 0,0119 г калия бромида.

Для анализа 3% раствора калия бромида берут 1 мл раствора, прибавляют 1 каплю калия хромата (далее см. выше).

Растворы калия йодида 20%; 3%; 2%

Подлинность

Ион калия. См. «Растворы калия бромида».

Йодид-ион. К 2—3 каплям раствора прибавляют 0,5 мл воды, 2—3 капли хлороводородной кислоты разведенной, 3—5 капель раствора хлорамина, 1 мл хлороформа и взбалтывают; хлороформный слой окрашивается в фиолетовый цвет (см. разд. 2.3).

Количественное определение. 5 мл 20% раствора помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводят объем раствора водой до метки. К 2 мл полученного раствора прибавляют 2 мл воды, 0,5 мл кислоты уксусной разведенной, 3—5 капель раствора натрия эозината и титруют 0,1 М раствором серебра нитрата до ярко-розового окрашивания осадка.

1 мл 0,1 М раствора серебра нитрата соответствует 0,0166 г калия йодида.

Для анализа 2% или 3% раствора калия йодида берут 1 мл раствора, прибавляют 0,5 мл уксусной кислоты разведенной (далее см. выше).

Раствор калия хлорида 10%

Подлинность

Ион калия. См. «Растворы калия бромида».

Хлорид-ион. См. «Раствор аммония хлорида».

Количественное определение. 5 мл раствора помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводят объем раствора водой до метки. 5 мл полученного раствора разбавляют водой до объема 10 мл и титруют 0,1 М раствором серебра нитрата до оранжево-желтого окрашивания осадка (индикатор — калия хромат).

1 мл 0,1 М раствора серебра нитрата соответствует 0,007456 г калия хлорида.

Растворы кальция хлорида 50%; 10%**Подлинность**

Ион кальция. К 3—4 каплям раствора прибавляют 1 мл уксусной кислоты разведенной, 3—4 капли раствора аммония оксалата; образуется белый осадок, нерастворимый в уксусной кислоте и растворе аммиака, но растворимый в разведенных неорганических кислотах (см. разд. 2.3).

Хлорид-ион. См. «Раствор аммония хлорида».

Количественное определение. 5 мл 50% раствора помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводят объем раствора водой до метки. К 1 мл полученного раствора прибавляют 2 мл воды (далее см. «Раствор аммония хлорида 20%»). 1 мл 0,1 М раствора серебра нитрата соответствует 0,01095 г кальция хлорида.

Для анализа 10% раствора кальция хлорида

1) 1 мл раствора разбавляют водой очищенной до объема 10 мл. К 2 мл полученного раствора прибавляют 1 каплю калия хромата и титруют 0,1 М раствором серебра нитрата до появления оранжево-желтого окрашивания. 1 мл 0,1 М раствора серебра нитрата соответствует 0,01095 г кальция хлорида.

2) 1 мл раствора разбавляют водой очищенной до объема 10 мл. К 2 мл полученного раствора прибавляют 2 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 (ЭДТА) соответствует 0,01095 г кальция хлорида.

Раствор натрия хлорида изотонический 0,9%**Подлинность**

Ион натрия. Графитовую палочку, смоченную раствором, вносят в бесцветное пламя; пламя окрашивается в желтый цвет (см. разд. 2.3).

Хлорид-ион. См. «Раствор аммония хлорида», разд. 2.3.

Количественное определение. К 1 мл раствора прибавляют 1 каплю раствора калия хромата и титруют 0,1 М раствором серебра нитрата до оранжево-желтого окрашивания.

1 мл 0,1 М раствора серебра нитрата соответствует 0,005844 г натрия хлорида.

Растворы натрия бромиды 20%; 3%

Подлинность. *Бромид-ион.* См. «Растворы калия бромиды».

Количественное определение. Для анализа берут 5 мл 20% раствора калия бромиды. См. «Раствор калия бромиды 20%».

1 мл 0,1 М раствора серебра нитрата соответствует 0,01029 г натрия бромиды.

Для анализа 3% раствора натрия бромиды берут 1 мл раствора, прибавляют 1 каплю калия хромата и титруют 0,1 М раствором серебра нитрата до оранжево-желтого окрашивания.

1 мл 0,1 М раствора серебра нитрата соответствует 0,01029 г натрия бромиды.

Растворы натрия йодида 2%; 3%**Подлинность**

Ион натрия. См. «Раствор натрия хлорида изотонический 0,9%».

Йодид-ион. См. «Растворы калия йодида».

Количественное определение. К 1 мл раствора прибавляют 0,5 мл уксусной кислоты разведенной, 1 каплю раствора натрия эозината и титруют 0,1 М раствором серебра нитрата при взбалтывании до изменения окраски осадка от желтой до розовой.

1 мл 0,1 М раствора серебра нитрата соответствует 0,01499 г натрия йодида.

Раствор натрия бензоата 10%

Подлинность

Ион натрия. См. «Раствор натрия хлорида изотонический 0,9%».

Бензоат-ион. К 2—3 каплям раствора прибавляют 1 мл воды и 1—2 капли раствора железа (III) хлорида; образуется розовато-желтый осадок (см. разд. 2.3).

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—3 капли смешанного индикатора и титруют 0,1 М раствором хлороводородной кислоты.

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

Смешанный индикатор (1 мл раствора метилового оранжевого и 1 мл раствора метиленового синего).

Раствор натрия гидрокарбоната 5%

Подлинность

Ион натрия. См. «Раствор натрия хлорида изотонический 0,9%».

Гидрокарбонат-ион. К 4—5 каплям раствора прибавляют 2—3 капли хлороводородной кислоты разведенной — выделяются пузырьки углерода (IV) оксида.

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 1 каплю раствора метилового оранжевого и титруют 0,1 М раствором хлороводородной кислоты до розового окрашивания.

1 мл 0,1 М раствора хлороводородной кислоты соответствует 0,0084 г натрия гидрокарбоната.

Раствор натрия салицилата 10%

Подлинность

Натрий-ион (см. «Раствор натрия хлорида изотонический 0,9%»).

Салицилат-ион. К 2—3 каплям раствора прибавляют 1 мл воды и 2—3 капли раствора железа (III) хлорида; появляется фиолетовое окрашивание.

Количественное определение. 5 мл раствора помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл (далее см. «Раствор натрия бензоата 10%»).

1 мл 0,1 М раствора хлороводородной кислоты соответствует 0,0160 г натрия салицилата.

Раствор натрия тиосульфата 60%; 30%

Подлинность

Ион натрия. См. «Раствор натрия хлорида изотонический 0,9%».

Тиосульфат-ион. К 3—4 каплям раствора прибавляют 1 мл воды и 3—4 капли хлороводородной кислоты разведенной; постепенно раствор мутнеет и выделяется серы (IV) оксид, обнаруживаемый по запаху.

Количественное определение. 5 мл 60% или 10 мл 30% раствора помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводят объем раствора водой до метки. К 2 мл полученного раствора прибавляют 2 мл воды, 5—7 капель раствора крахмала и титруют 0,05 М раствором йода до синего окрашивания.

1 мл 0,05 М раствора йода соответствует 0,02482 г натрия тиосульфата.

Раствор хлористоводородной кислоты 10%; 2%

Подлинность. См. разд. 5.2.3.

Количественное определение. К 5 мл 10% и 2 мл 2% раствора прибавляют 1 каплю метилового оранжевого и титруют 0,1 М раствором натрия гидроксида до желтого окрашивания.

1 мл 0,1 М раствора натрия гидроксида соответствует 0,04393 г хлороводородной кислоты.

Раствор аскорбиновой кислоты 5%; 2%

Подлинность. К 4—5 каплям раствора прибавляют 2—3 капли раствора серебра нитрата; образуется металлическое серебро в виде серого осадка.

К 4—5 каплям раствора прибавляют по 1—2 капли раствора железа (III) хлорида и калия гексацианоферрата (III); появляется синее окрашивание.

К 4—5 каплям раствора прибавляют 0,5 мл воды и 1—2 капли 0,05 М раствора йода; раствор йода обесцвечивается.

Количественное определение. К 0,5 мл 5% раствора прибавляют 2 мл воды (для 2% раствора берут 1 мл раствора) и титруют 0,05 М раствором йода до слабо-желтого окрашивания. 1 мл 0,05 М раствора йода соответствует 0,0088 г аскорбиновой кислоты.

К 1 мл 5% раствора прибавляют 2 мл воды (для 2% раствора берут 1 мл раствора), добавляют 6—7 капель раствора фенолфталеина и титруют 0,1 М раствором натрия гидроксида до розового окрашивания.

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

Раствор кофеин-бензоата натрия 10%

Подлинность

Кофеин. 3—4 капли раствора выпаривают в фарфоровой чашке на водяной бане досуха. К остатку прибавляют по 10 капель хлороводородной кислоты разведенной и раствора водорода пероксида и опять выпаривают на водяной бане досуха. После охлаждения к остатку прибавляют 3—5 капель раствора аммиака; появляется пурпурно-красное окрашивание.

Бензоат-ион. К 3—4 каплям раствора прибавляют 1—2 мл воды и 1—2 капли раствора железа (III) хлорида; образуется розовато-желтый осадок (см. разд. 2.3).

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

1 мл 0,1 М раствора хлороводородной кислоты соответствует 0,02322 г кофеин-бензоата натрия.

Раствор магния сульфата 50%

Подлинность

Ион магния. К 2—3 каплям раствора прибавляют 1 мл воды, по 0,5 мл раствора аммония хлорида, натрия фосфата и аммиака; образуется белый кристаллический осадок, растворимый в уксусной кислоте разведенной и нерастворимый в избытке раствора аммиака (см. разд. 2.3).

Сульфат-ион. К 2—3 каплям раствора прибавляют 3—5 капель воды и 2—3 капли раствора бария хлорида; образуется осадок, нерастворимый в разведенных неорганических кислотах (см. разд. 2.3).

Количественное определение. 5 мл раствора помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводят объем раствора водой до метки. К 1 мл полученного раствора прибавляют 2 мл воды, 2 мл аммиачного буферного раствора, 0,1 г индикаторной смеси кислотного хром черного специального и титруют 0,05 М раствором ЭДТА (трилон Б) до синего окрашивания. Одновременно проводят контрольный опыт.

1 мл 0,05 М раствора ЭДТА соответствует 0,01232 г магния сульфата.

Раствор глюкозы 5%

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

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

Количественное определение. 1 мл раствора разводят водой очищенной до объема 10 мл. К 2 мл полученного раствора, помещенного в пробирку, прибавляют 2 мл 0,05 М раствора йода, 4 капли 10% раствора натрия гидроксида, закрывают пробирку пробкой и реакцию смесь оставляют стоять в темном месте 5 мин. Далее прибавляют 0,5 мл хлороводородной кислоты разведенной и титруют выделившийся йод 0,1 М раствором натрия тиосульфата. Одновременно проводят контрольный опыт.

1 мл 0,05 М раствора йода соответствует 0,009006 г глюкозы безводной.

Раствор протаргола 2%

Подлинность. К 3—4 каплям раствора прибавляют 4—5 капель 33% раствора азотной кислоты и слегка нагревают. К обесцвеченной жидкости прибавляют 2—3 капли хлороводородной кислоты разведенной; появляется белая опалесценция.

Количественное определение. К 1 мл раствора прибавляют 10 капель смеси, состоящей из равных частей раствора железомонийевых квасцов и азотной кислоты разведенной. После обесцвечивания жидкость титруют 0,02 М раствором аммония роданида до желтовато-розового окрашивания.

1 мл 0,02 М раствора аммония роданида соответствует 0,0268 г протаргола.

Раствор новокаина гидрохлорида 2%; 1%; 0,5%; 0,25%

Подлинность

Новокаина гидрохлорид. К 3—5 каплям раствора прибавляют по 2—3 капли кислоты хлороводородной разведенной и реактива, состоящего из трех частей

щелочного раствора β -нафтола и одной части 10% раствора натрия нитрита; образуется оранжево-красный осадок. При добавлении 1—2 мл 96% спирта осадок растворяется и появляется вишнево-красное окрашивание.

К 0,5 мл раствора прибавляют 2—3 капли серной кислоты разведенной и 2—3 капли 0,02 М раствора калия перманганата; фиолетовая окраска исчезает.

Хлорид-ион. См. «Раствор аммония хлорида 20%».

Количественное определение. К 2 мл 0,25% или 1 мл 0,5%, 1% и 2% раствора препарата прибавляют 6—7 капель раствора фенолфталеина, 2 мл хлороформа и титруют 0,1 М раствором натрия гидроксида при взбалтывании до розового окрашивания водного слоя. 1 мл 0,1 М раствора натрия гидроксида соответствует 0,02728 г новокаина.

К 2 мл 0,25% и 0,5%, или к 1 мл 1% и 2% раствора препарата прибавляют 1—2 капли раствора бромфенолового синего, по каплям уксусную кислоту разведенную до зеленовато-желтого окрашивания и титруют 0,1 М раствором серебра нитрата до фиолетового окрашивания.

1 мл 0,1 М раствора серебра нитрата соответствует 0,02728 г новокаина.

К 2 мл 0,25%, 1 мл 0,5% или к 2 мл 1% или 2% раствора препарата прибавляют 2—3 мл воды, 1 мл хлороводородной кислоты разведенной, 0,2 г калия бромида, 2 капли раствора тропеолина 00, 1 каплю метиленового синего и при 18—20 °С титруют 0,02 М (0,25% и 0,5%) или 0,1 М (1% и 2%) раствором натрия нитрита, добавляя его вначале по 0,2—0,3 мл через 1 мин, а в конце титрования (за 0,1—0,2 мл до эквивалентного количества) по 1—2 капли через 1 мин до перехода красно-фиолетовой окраски в голубую. Проводят контрольный опыт.

1 мл 0,02 М раствора натрия нитрита соответствует 0,005456 г, а 0,1 М — 0,02728 г новокаина.

Раствор хлоралгидрата 10%

Подлинность. К 0,5 мл раствора прибавляют 1 мл раствора натрия гидроксида и взбалтывают. Выделяется хлороформ, обнаруживаемый по запаху. Затем добавляют несколько кристаллов резорцина и нагревают. Появляется розовое окрашивание.

Количественное определение. 10 мл раствора помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводят объем раствора водой до метки. К 10 мл полученного раствора прибавляют 12 мл 0,1 М раствора натрия гидроксида, перемешивают и через 2 мин оттитровывают избыток натрия гидроксида 0,1 М раствором хлороводородной кислоты (индикатор — фенолфталеин). Одновременно проводят контрольный опыт.

1 мл 0,1 М раствора натрия гидроксида соответствует 0,01654 г хлоралгидрата.

5 мл раствора помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, и объем раствора доводят водой до метки. К 25 мл 0,05 М раствора йода в склянке с притертой пробкой прибавляют 10 мл 2,5% раствора натрия карбоната безводного, затем 10 мл приготовленного раствора хлоралгидрата и оставляют на 1 ч. Далее раствор подкисляют 12 мл хлороводородной кислоты разведенной, взбалтывают до прекращения выделения пузырьков углерода (IV) оксида и титруют 0,1 М раствором натрия тиосульфата (индикатор — крахмал).

1 мл 0,25 М раствора йода соответствует 0,008271 г хлоралгидрата.

Раствор водорода пероксида 3%

Подлинность. К 1 мл препарата прибавляют 0,2 мл серной кислоты разведенной, 2 мл эфира, 0,2 мл раствора калия бихромата и взбалтывают. Эфирный слой окрашивается в синий цвет.

Количественное определение. 1 мл препарата разводят водой очищенной до объема 10 мл. К 1 мл полученного раствора прибавляют 2 мл серной кислоты разведенной и титруют 0,02 М раствором калия перманганата до слабо-розового окрашивания.

1 мл 0,02 М раствора калия перманганата соответствует 0,001701 г водорода пероксида. Содержание водорода пероксида должно быть 2,7—3,3%.

Раствор йода спиртовой 5%

Подлинность

Йод. К 1—2 каплям раствора прибавляют 1—2 мл воды и 2—3 капли раствора крахмала. Появляется синее окрашивание.

Калия йодид и йод. К 1—2 мл раствора прибавляют 2—3 капли уксусной кислоты разведенной, 1—2 капли раствора натрия гексанитрокобальтата (III), 1—2 мл хлороформа и взбалтывают. Хлороформный слой окрашивается в фиолетовый цвет, в водном слое наблюдается желтый кристаллический осадок.

Количественное определение. К 1 мл раствора прибавляют пипеткой точно 9 мл воды очищенной. Титруют 2 мл полученного раствора 0,1 М раствором натрия тиосульфата до обесцвечивания (A , мл).

1 мл 0,1 М раствора натрия тиосульфата соответствует 0,01269 г йода.

Калия йодид и йод. К оттитрованной жидкости прибавляют 1—2 мл воды, 0,5 мл уксусной кислоты разведенной, 2 капли 0,1% раствора натрия эозината и титруют 0,1 М раствором серебра нитрата до ярко-розового осадка (B , мл).

Количество 0,1 М раствора серебра нитрата (x , мл), израсходованное на титрование калия йодида, вычисляют по разности: $x = B - A$.

1 мл 0,1 М раствора серебра нитрата соответствует 0,0166 г калия йодида.

Раствор формальдегида

Подлинность. 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.

К 0,5 мл серной кислоты концентрированной прибавляют 0,01—0,02 г салициловой кислоты, 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. Помещают 1 мл полученного раствора в колбу с притертой пробкой, прибавляют 4 мл 0,05 М раствора йода, 2 мл 0,1 М раствора натрия гидроксида, взбалтывают и оставляют в темном месте на 10 мин. Затем добавляют 2,5 мл 0,25 М раствора серной кислоты и выделившийся йод титруют 0,1 М раствором натрия тиосульфата до обесцвечивания (индикатор — крахмал).

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

7.2.2. Анализ лекарственных смесей. Общие положения

Анализ лекарственной формы, состоящей из одного ингредиента, как видно из предыдущего раздела, прост и сводится к проведению специфической реакции на данный ингредиент. В состав многокомпонентных лекарственных форм входит несколько компонентов, что создает определенные трудности при их анализе. Анализ лекарственных смесей зависит в каждом отдельном случае от состава этих смесей и от физических и химических свойств входящих в них ингредиентов.

Для того чтобы легче ориентироваться в выборе схемы анализа смеси, все лекарственные средства можно распределить на следующие *основные группы*:

1) органические кислоты (карбоновые кислоты, барбитураты, фенолы и др.) большей частью растворимы в органических растворителях, плохо или почти нерастворимы в воде;

2) соли органических кислот (соли карбоновых кислот, натриевые производные барбитуратов, сульфаниламидов и др.) растворимы в воде и нерастворимы в органических растворителях;

3) органические основания (антипирин, кофеин, кодеин, гексаметиленetetрамин) растворимы в органических растворителях, многие трудно растворимы в воде (гексаметилентетрамин и кофеин растворимы в хлороформе и практически нерастворимы в эфире);

4) соли оснований с органическими и неорганическими кислотами (атропина сульфат, гидрохлориды папаверина, пилокарпина, хинина, тиамин и др.) хорошо растворимы в воде и в большинстве случаев нерастворимы в органических растворителях;

5) органические вещества, не образующие солей ни с кислотами, ни со щелочами (ментол, камфора, бромкамфора), большая часть которых растворима в органических растворителях и трудно растворима в воде;

6) вещества неорганической природы можно разделить на две группы: легко растворимые в воде (все натриевые, калиевые, аммонийные соли; кристаллогидраты: кальция хлорид, магния сульфат, цинка сульфат и др.); и малорастворимые или практически нерастворимые в воде (оксиды металлов, карбонаты кальция, магния, висмута нитрат основной и др.).

Для анализа ингредиентов смеси чаще всего используют *общие приемы*: различия в растворимости в воде, органических растворителях, кислотах, щелочах, а также кислотно-основных и окислительно-восстановительных свойствах.

Анализ лекарственных веществ в смесях может быть проведен без разделения и с использованием разделения на компоненты.

Для *анализа без разделения* используют следующие приемы:

1) проводят химические реакции, в результате которых один из компонентов превращается в производное, обладающее иными свойствами. С этой целью используют реакции окисления, осаждения, комплексообразования и др.

2) определяют суммарное содержание компонентов, используя метод анализа, общий для компонентов смеси, затем с помощью другого возможного метода определяют отдельные компоненты. Расчет количественного содержания проводят по разности объемов титрования с учетом различия эквивалент-

ных объемов, навесок, концентраций титрованных растворов. Такие приемы часто используют для анализа лекарственных средств в условиях аптеки;

3) если в состав смеси входят вещества, различающиеся по своим кислотным или основным свойствам, то их количественное определение возможно в одной навеске методом нейтрализации путем последовательного титрования с различными индикаторами. Таким образом определяют смеси кислот, оснований и солей, образованных сильными основаниями и слабыми кислотами.

Для *анализа* смесей лекарственных веществ *с использованием разделения* на компоненты часто используют следующие приемы.

1) Проводят разделение смеси веществ, основанное на различной растворимости, причем твердые лекарственные формы (порошки) обрабатывают подходящим растворителем и фильтруют, а при анализе жидких лекарственных форм разделение веществ проводят методом экстракции органическим растворителем, не смешивающимся с водой. При подборе растворителя необходимо тщательно учитывать растворимость веществ. Для количественного разделения необходимо проверять полноту экстракции с помощью качественных реакций.

2) Для разделения смеси веществ, растворимых в одних и тех же растворителях, но имеющих различные кислотно-основные свойства, используют химические реакции, в результате которых один из компонентов превращается в производное, обладающее иными химическими свойствами и иной растворимостью. Для этой цели проводят реакции нейтрализации и гидролиза. Так, лекарственные вещества групп 1 и 3 при взаимодействии с растворами щелочей и кислот переходят в соответствующие соли и изменяют растворимость в органических растворителях. В связи с этим для разделения смесей веществ, содержащих лекарственные средства групп 1 и 3; 1 и 4; 3 и 5, используют экстракцию органическими растворителями из кислотного или щелочного раствора. Для анализа лекарственных веществ групп 1 и 3 часто используют методы кислотно-основного титрования.

7.2.3. Анализ многокомпонентных жидких лекарственных форм

**Раствора кальция хлорида 10,0—200,0,
калия йодида
калия бромиды по 4,0**

Подлинность

Ион кальция. См. «Раствор кальция хлорида 50%; 10%».

Галогены. К 1—2 каплям раствора прибавляют 2—3 капли серной кислоты разведенной, 2—3 капли раствора натрия нитрита, 1 мл хлороформа и взбалтывают; хлороформный слой окрашивается в фиолетовый цвет, быстро переходящий в ярко-розовый (йодид-ион). К этому же раствору осторожно при встряхивании прибавляют по каплям 1% раствор калия перманганата до остающегося розового окрашивания водного слоя; хлороформный слой окрашивается в желто-бурый цвет (бромид-ион). Водный слой пипеткой переносят в другую пробирку, к нему прибавляют 1 мл хлороформа, взбалтывают 1 мин,

после отстаивания водный слой вновь отделяют. Обработку водного слоя хлороформом порциями по 1 мл, взбалтывая каждый раз по 1 мин, продолжают до получения бесцветного хлороформного слоя. К водному слою прибавляют каплями раствор водорода пероксида до обесцвечивания, затем по 2—3 капли азотной кислоты разведенной и раствора серебра нитрата; образуется белый осадок или муть (хлорид-ион).

Количественное определение

Калия йодид. К 1 мл раствора добавляют 5—6 капель серной кислоты разведенной, 0,04 г мочевины, затем медленно по каплям при частом взбалтывании 2 мл 0,1 М раствора натрия нитрита и оставляют стоять на 5—10 мин до полного удаления пузырьков газа, часто взбалтывая. Затем прибавляют 0,1 г калия йодида для растворения выделившегося йода и титруют 0,1 М раствором натрия тиосульфата до обесцвечивания. В конце титрования прибавляют 2—3 капли раствора крахмала (А, мл).

1 мл 0,1 М раствора натрия тиосульфата соответствует 0,0166 г калия йодида.

Кальция хлорид. 1 мл раствора разбавляют водой очищенной до объема 10 мл. К 2 мл полученного раствора прибавляют 2 мл аммиачного буферного раствора, 0,02 г индикаторной смеси кислотного хром темно-синего и титруют 0,05 М раствором ЭДТА до сине-фиолетового окрашивания (Б мл 0,05 М раствора ЭДТА).

1 мл 0,05 М раствора ЭДТА соответствует 0,01095 г кальция хлорида.

Кальция хлорид, калия йодид и калия бромид. К 2 мл раствора А прибавляют 3 мл 0,1 М раствора серебра нитрата, 1 мл азотной кислоты разведенной, 6—7 капель раствора квасцов железоаммониевых, взбалтывают и избыток раствора серебра нитрата оттитровывают 0,1 М раствором аммония роданида до желтовато-розового окрашивания (В мл).

Параллельно проводят контрольный опыт (В₁ мл).

Расчет содержания калия бромида в граммах (х) проводят по формуле:

$$x = \frac{\left[(B_1 - B) - \left(B + \frac{A \cdot 2}{10} \right) \right] \cdot 0,0119 \cdot 200 \cdot 10}{1 \cdot 2}$$

где $\left[(B_1 - B) - \left(B + \frac{A \cdot 2}{10} \right) \right]$ — количество 0,1 М раствора серебра нитрата, израсходованное на титрование калия бромида, мл;

$\frac{A \cdot 2}{10}$ — количество 0,1 М раствора серебра нитрата, эквивалентное количеству 0,1 М раствора натрия тиосульфата, израсходованному при титровании калия йодида в 2 мл раствора А, мл.

1 мл 0,1 М раствора серебра нитрата соответствует 0,0119 г калия бромида.

Раствора фурацилина 0,02% — 10,0

натрия хлорида 0,09

Подлинность

Фурацилин. К 0,5 мл раствора прибавляют 2—3 капли раствора натрия гидроксида; появляется оранжево-красное окрашивание.

Натрия хлорид. См. «Раствор натрия хлорида изотонический 0,9%».

Количественное определение

Фурацилин. 2 мл 0,005 М раствора йода помещают в пробирку, прибавляют 2 капли раствора натрия гидроксида (до обесцвечивания йода), 2 мл испытуемого раствора, перемешивают, закрывают пробирку пробкой и оставляют на 2—3 мин в темном месте. Затем к раствору прибавляют 2 мл серной кислоты разведенной и выделившийся йод оттитровывают 0,01 М раствором натрия тиосульфата (индикатор — раствор крахмала — добавляют к концу титрования). Параллельно проводят контрольный опыт. 1 мл 0,005 М раствора йода соответствует 0,0004954 г фурацилина.

Натрия хлорид. К 1 мл раствора прибавляют 1 каплю раствора калия хромата и титруют 0,1 М раствора серебра нитрата до оранжево-желтого окрашивания. 1 мл 0,1 М раствора серебра нитрата соответствует 0,005844 г натрия хлорида.

Раствора цинка сульфата 0,25% — 10,0 борной кислоты 0,2

Подлинность

Ион цинка. К 2—3 каплям раствора прибавляют 2—3 капли раствора калия гексацианоферрата (II). Образуется белый осадок, нерастворимый в хлороводородной кислоте разведенной (см. разд. 2.3).

Сульфат-ион. К 1—2 каплям раствора прибавляют 1—2 капли раствора бария хлорида. Образуется белый осадок, нерастворимый в разведенных минеральных кислотах.

Борная кислота. 1) Выпаривают 5—6 капель раствора на водяной бане. К сухому остатку прибавляют 1—2 мл 96% спирта и поджигают. Спиртовой раствор горит пламенем с зеленой каймой.

2) К 2—3 каплям раствора прибавляют 0,5 мл воды, 2—3 капли раствора пирокатехинового фиолетового и 1—2 капли аммиачного буферного раствора. Появляется красное окрашивание (в контрольном растворе — сине-фиолетовое).

3) К 2—3 каплям раствора прибавляют 1—2 капли раствора фенолфталеина и 4—5 капель 0,1 М раствора натрия гидроксида. Появляется ярко-розовое окрашивание, исчезающее после добавления 0,5—1 мл глицерина или 40—50% раствора глюкозы.

Количественное определение

Цинка сульфат. К 1 мл раствора прибавляют 5 мл аммиачного буферного раствора, 0,02 г индикаторной смеси кислотного хром черного специального и титруют 0,01 М раствором трилона Б до синего окрашивания. Параллельно проводят контрольный опыт. 1 мл 0,01 М раствора трилона Б соответствует 0,002876 г цинка сульфата.

Борная кислота. К 0,5 мл раствора прибавляют 2 мл свежеприготовленной охлажденной воды, 8 капель раствора калия гексацианоферрата (II), 5—6 мл глицерина, нейтрализованного по фенолфталеину, и титруют 0,1 М раствором натрия гидроксида до розового окрашивания. 1 мл 0,1 М раствора натрия гидроксида соответствует 0,006183 г кислоты борной.

Раствора цинка сульфата 0,25% — 10,0**борной кислоты 0,2****резорцина 0,05****Подлинность***Цинка сульфат.* См. «Раствора цинка сульфата».*Борная кислота.* См. «Раствора цинка сульфата».

Резорцин. К 2—3 каплям раствора прибавляют по 2—3 капли раствора натрия гидроксида и хлороформа, нагревают до кипения. Появляется красное окрашивание.

К 3—4 каплям раствора прибавляют 1 каплю раствора железа (III) хлорида. Появляется фиолетовое окрашивание.

Количественное определение*Цинка сульфат.* См. «Раствора цинка сульфата».*Борная кислота.* См. «Раствора цинка сульфата».

Резорцин. Помещают 0,5 мл раствора в колбу с притертой пробкой, прибавляют 2 мл воды, 2,5 мл 0,1 М раствора калия бромата, 0,2 г калия бромида, 2 мл хлороводородной кислоты разведенной, перемешивают и оставляют в темном месте на 10 мин. Затем добавляют 0,2 г калия йодида, 2 мл хлороформа и выделившийся йод титруют 0,1 М раствором натрия тиосульфата при взбалтывании до обесцвечивания. Одновременно проводят контрольный опыт. 1 мл 0,01 М раствора калия бромата соответствует 0,001835 г резорцина.

Хлористоводородной кислоты разведенной 4,4 — 100,0**натрия хлорида 5,2****Подлинность***Ион натрия.* Обнаруживается по окрашиванию пламени в желтый цвет.

Хлорид-ион. К 2—3 каплям раствора прибавляют 2—3 капли азотной кислоты разведенной, 2—3 капли раствора серебра нитрата; выпадает белый творожистый осадок.

Хлористоводородная кислота. Синяя лакмусовая бумажка, смоченная исследуемым раствором, краснеет.

К 2—3 каплям раствора прибавляют 1—2 капли раствора метилового оранжевого. Появляется розовое окрашивание.

Количественное определение

Хлористоводородная кислота. К 2 мл раствора прибавляют 2—3 капли бромфенолового синего и титруют 0,1 М раствором натрия гидроксида от желтой до фиолетово-синей окраски раствора (V , мл). Содержание хлористоводородной кислоты разведенной в процентах (x) рассчитывают по формуле:

$$x = \frac{V \cdot K \cdot 0,003646 \cdot 100 \cdot 100}{8,3 \cdot 2}$$

где 0,003646 — титр 0,1 М раствора хлористоводородной кислоты;

8,3 — содержание хлористого водорода в хлористоводородной кислоте разведенной, %.

В расчетах можно использовать коэффициент для пересчета непосредственно на хлористоводородную кислоту разведенную, равный: $\frac{0,003646 \cdot 100}{8,3} = 0,04393$, тогда

$$x = \frac{V \cdot K \cdot 0,04393 \cdot 100}{2}$$

Натрия хлорид и хлористоводородная кислота. Оттитрованный раствор переносят в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводят объем раствора водой до метки. К 10 мл полученного раствора прибавляют еще 1 каплю раствора бромфенолового синего и титруют 0,1 М раствором серебра нитрата сумму хлоридов (V_1 , мл). Содержание натрия хлорида в процентах (x_1) рассчитывают по формуле:

$$x_1 = \frac{\left[\frac{V_1 \cdot K \cdot 50}{10} - V \right] \cdot 0,00585 \cdot 100}{2}$$

Раствора хлористоводородной кислоты 1% — 200,0 аскорбиновой кислоты 1,0

Подлинность

Хлористоводородная кислота. См. «Раствор хлористоводородной кислоты разведенной 10%; 2%».

Аскорбиновая кислота. К 1 мл раствора прибавляют 1 мл раствора серебра нитрата; образуется темный осадок.

Количественное определение

Аскорбиновая и хлористоводородная кислоты. К 2 мл раствора прибавляют 6—7 капель раствора фенолфталеина и титруют 0,1 М раствором натрия гидроксида до розового окрашивания (A мл).

Аскорбиновая кислота. Оттитрованную жидкость титруют 0,05 М раствором йода до не исчезающего слабо-желтого окрашивания (B мл). 1 мл 0,05 М раствора йода соответствует 0,0088 г аскорбиновой кислоты. Разность между количеством миллилитров 0,1 М раствора натрия гидроксида и количеством миллилитров 0,05 М раствора йода, деленным на 2, т. е. $(A - B/2)$ мл, пересчитывают на хлористоводородную кислоту разведенную.

1 мл 0,1 М раствора натрия гидроксида соответствует 0,04393 г хлористоводородной кислоты разведенной.

Натрия гидрокарбоната 0,2 натрия тетрабората 0,1 воды очищенной 10,0

Подлинность

Натрия гидрокарбонат. К 3—5 каплям раствора прибавляют 2—3 капли хлороводородной кислоты разведенной. Выделяются пузырьки углерода (IV) оксида.

Натрия тетраборат. Помещают 1—2 мл раствора препарата в фарфоровую чашку и выпаривают на водяной бане. К сухому остатку прибавляют 5—6 капель серной кислоты концентрированной, 1—2 мл 96% спирта и поджигают. Спиртовой раствор горит пламенем с зеленой каймой.

Количественное определение. *Натрия гидрокарбонат и натрия тетраборат.* К 1 мл раствора прибавляют 2—3 мл воды и титруют 0,1 М раствором хлороводородной кислоты до розового окрашивания (индикатор — метиловый оранжевый) (А мл).

Оттитрованный раствор нагревают на водяной бане 10 мин (удаление угольного ангидрида). После охлаждения прибавляют 5—6 капель глицерина, нейтрализованного по фенолфталеину, и титруют 0,1 М раствором натрия гидроксида до розового окрашивания (Б мл) (натрия тетраборат).

1 мл 0,1 М раствора натрия гидроксида соответствует 0,00954 г натрия тетрабората.

Количество 0,1 М раствора хлороводородной кислоты (х) в миллилитрах, израсходованное на титрование раствора натрия гидрокарбоната, вычисляют по разности: $x = A - B/2$.

1 мл 0,1 М раствора хлороводородной кислоты соответствует 0,0084 г натрия гидрокарбоната.

7.2.4. Анализ порошков

Дибазол 0,03

сахара 0,25

Подлинность

Дибазол. К 0,03 г порошка прибавляют 1—2 капли 3% спиртового раствора кобальта нитрата; появляется голубое окрашивание.

0,03 г порошка растворяют в 2 мл воды, прибавляют 2—3 капли хлороводородной кислоты разведенной, 3—4 капли 0,05 М раствора йода и взбалтывают; образуется красновато-серебристый осадок.

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

Количественное определение

Вариант 1. 0,1 г порошка растворяют в 1—2 мл воды, прибавляют 2 мл хлороформа, 6—7 капель фенолфталеина и титруют при взбалтывании 0,02 М раствором натрия гидроксида до розового окрашивания водного слоя. 1 мл 0,02 М раствора натрия гидроксида соответствует 0,004894 г дибазола.

Вариант 2. 0,1 г порошка растворяют в 2 мл 95% спирта, нейтрализованного по фенолфталеину, и титруют при взбалтывании 0,02 М раствором натрия гидроксида до розового окрашивания.

1 мл 0,02 М раствора натрия гидроксида соответствует 0,004894 г дибазола.

Папаверина гидрохлорида 0,02

сахара 0,25

Подлинность

Папаверина гидрохлорид. К 0,03 г порошка прибавляют 1—2 капли раствора аммония молибдата в серной кислоте концентрированной; появляется зеленое окрашивание.

К 0,03 г порошка прибавляют 3—5 капель раствора аммония нитрата в серной кислоте концентрированной и 1—2 капли воды; появляется оранжевое окрашивание.

Сахар. См. «Порошок дибазола 0,03; сахара 0,25».

Количественное определение. 0,05 г порошка растворяют в 2 мл воды, прибавляют 2 мл 95% спирта, нейтрализованного по фенолфталеину, и титруют 0,02 М раствором натрия гидроксида до розового окрашивания.

1 мл 0,02 М раствора натрия гидроксида соответствует 0,007517 г папаверина гидрохлорида.

Глутаминовой кислоты и сахара по 0,2

Подлинность

Глутаминовая кислота. 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.

Сахар. См. «Порошок дибазола 0,03; сахара 0,25».

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 М раствором натрия гидроксида до голубовато-зеленого окрашивания.

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

Бутадиона 0,1 сахара 0,2

Подлинность

Бутадион. К 0,03 г порошка прибавляют 1 мл серной кислоты концентрированной и несколько кристалликов натрия нитрита и нагревают на водяной бане в течение 1 мин; появляется темно-красное окрашивание.

Сахар. См. «Порошок дибазола 0,03; сахара 0,25».

Количественное определение. 0,05 г порошка растворяют в 2—3 мл 95% спирта, нейтрализованного по фенолфталеину, и титруют 0,1 М раствором натрия гидроксида до розового окрашивания.

1 мл 0,1 М раствора натрия гидроксида соответствует 0,03084 г бутадиона.

Аскорбиновой кислоты 0,1 глюкозы 0,5

Подлинность

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

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

Количественное определение

Вариант 1. Аскорбиновая кислота. 0,1 г порошка растворяют в 5 мл воды в склянке с притертой пробкой и титруют 0,05 М раствором йода до слабо-желтого окрашивания (V, мл). 1 мл 0,05 М раствора йода соответствует 0,0088 г кислоты аскорбиновой.

К оттитрованной жидкости прибавляют 20 мл (двойной избыток) 0,05 М раствора йода, 10—15 мл 1% (или 30—40 мл 0,1 М) раствора натрия гидроксида и оставляют на 10—15 мин. Затем добавляют 10 мл серной кислоты разведенной и выделившийся йод титруют 0,1 М раствором натрия тиосульфата в присутствии крахмала (V_1 , мл); 1 мл 0,05 М раствора йода соответствует 0,0099 г глюкозы. Содержание глюкозы в одном порошке в граммах (x) рассчитывают по формуле:

$$x = \frac{[(20 - V_1) - V] \cdot 0,0099 \cdot 0,6}{a}$$

Вариант 2. Аскорбиновая кислота. 0,05 г порошка растворяют в 1—2 мл воды и титруют 0,1 М раствором натрия гидроксида до розового окрашивания (индикатор — фенолфталеин); 1 мл 0,1 М раствора натрия гидроксида соответствует 0,0176 г аскорбиновой кислоты.

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. Содержание глюкозы (x) в граммах вычисляют по формуле:

$$x = \frac{n - (n_0 + 0,00160 \cdot C) \cdot P \cdot 2 \cdot 1,11}{0,00142 \cdot a \cdot 100}$$

где 0,00160 и 0,00142 — факторы показателей преломления растворов аскорбиновой кислоты и глюкозы безводной соответственно;

P — средняя масса порошка, г;

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

a — масса навески порошка, взятая для анализа, г;

C — концентрация аскорбиновой кислоты в анализируемом растворе, вычисляемая по формуле, %:

$$C = \frac{a \cdot b \cdot 100}{P \cdot 2}$$

где b — масса аскорбиновой кислоты, определенная химическим методом, г.

7.2.5. Анализ мазей

Мазь борная 2%

Подлинность. 0,05 г мази помещают в фарфоровую чашку, растирают с 2 мл 95% спирта и поджигают; спиртовой раствор горит, образуя пламя с зеленой каймой.

Количественное определение. 0,5 г мази взбалтывают с 2—3 мл эфира до растворения основы, прибавляют 2 мл воды и вновь взбалтывают до растворения препарата. Затем прибавляют 2 мл глицерина, нейтрализованного по фенолфталеину, и титруют 0,1 М раствором натрия гидроксида до розового окрашивания водного слоя, после чего добавляют еще 1—2 мл нейтрализованного глицерина, и если при этом окраска исчезает, то снова титруют до розовой окраски. Добавление глицерина и титрование 0,1 М раствором натрия гидроксида продолжают до не исчезающего розового окрашивания.

1 мл 0,1 М раствора натрия гидроксида соответствует 0,006183 г кислоты борной.

Вопросы и задачи

1. Рассчитайте удельный показатель поглощения $A_{1\text{ см}}^{1\%}$ норадреналина гидротартрата, если оптическая плотность 0,005% водного раствора при длине волны 279 нм в кювете с толщиной слоя 1 см равна 0,450. Сравните полученный показатель с требованиями ГФ и сделайте заключение о качестве лекарственного средства.

2. Рассчитайте количественное содержание преднизолона в таблетках по 0,005 г, если известно, что на анализ взята навеска 0,0650 г, средняя масса таблетки 0,25 г, оптическая плотность раствора в метиловом спирте при длине волны 242 нм равна 0,538; удельный показатель поглощения равен 415, разведение равно 100. Сделайте заключение о качестве лекарственной формы; содержание преднизолона должно быть 0,0045—0,0055 г, считая на среднюю массу одной таблетки.

3. Как может измениться внешний вид калия йодида при хранении? С какими свойствами этого лекарственного вещества связана возможность его изменения? Каким образом эти изменения учитываются в ГФ?

4. Изменяется ли и как внешний вид меди сульфата, натрия йодида, кальция хлорида, натрия тетрабората при хранении в неплотно закрытых склянках?

5. Каким одним реагентом можно дифференцировать натрия нитрит, натрия тиосульфат, натрия гидрокарбонат? Напишите уравнения химических реакций и укажите их результат.

6. Укажите реагент, позволяющий обнаружить примесь броматов, ионов бария и кальция в лекарственном средстве «Калия бромид». Напишите уравнения химических реакций.

7. Объясните, почему в унифицированной методике ГФ для определения примеси солей железа отдано преимущество кислоте сульфосалициловой среди ряда других реактивов, также образующих окрашенные соединения с ионами железа.

8. Какая унифицированная методика ГФ позволяет установить визуально количество примесей в лекарственных средствах «Резорцин» и «Сульфацил-натрий», изменяющих окраску этих веществ? С какими химическими реакциями связано появление этих примесей при хранении лекарственных средств?

9. Объясните избирательное действие реактива железа (III) хлорида при определении примесей йодидов в лекарственном средстве «Калия бромид».

10. Объясните, почему при определении в лекарственных средствах примесей хлоридов по реакции с серебра нитратом необходимо добавлять азотную кислоту.

11. Объясните, наличие каких химических свойств требует относить раствор водорода пероксида и спиртовой раствор йода к группе нестойких и скоропортящихся лекарственных средств, количественное содержание которых в аптеках проверяется не реже 1 раза в квартал. Напишите уравнения реакций возможных изменений этого лекарственного средства при хранении.

12. Чем объясняется требование к определению в анализе чистоты натрия бромида потеря массы при высушивании? Может ли повлиять несоответствие требованию к чистоте лекарственного средства по этому показателю на его количественное содержание?

13. При добавлении к раствору калия йодида серной кислоты образовался белый осадок и появилось бурое окрашивание. О наличии каких примесей это говорит? Допускаются ли эти примеси в данном лекарственном средстве? Напишите уравнения реакций.

14. Обоснуйте возможность использования калия йодида для идентификации и количественного определения висмута нитрата основного, меди сульфата, серебра нитрата, водорода пероксида. Напишите уравнения реакций.

15. Какие примеси в лекарственных средствах обнаруживают с помощью раствора аммиака, а какие с помощью натрия сульфида? Напишите уравнения реакций при наличии данных примесей в указанных лекарственных средствах.

16. Дайте обоснование способа обнаружения калия йодида и калия бромида при совместном присутствии на основе их окислительно-восстановительных свойств. Напишите уравнения химических реакций.

17. Предложите методы количественного определения кальция хлорида и калия йодида при совместном присутствии в водном растворе. Напишите уравнения химических реакций.

18. При количественном определении борной кислоты методом ацидиметрии в глазных каплях состава: цинка сульфата — 0,03; 2% борной кислоты — 10,0 для осаждения цинка сульфата добавляют раствор калия гексацианоферрата (II). Обоснуйте использование данного реактива и напишите уравнения реакций.

19. На титрование 0,2015 г кальция хлорида израсходовано 19,5 мл 0,05 М раствора трилона Б, $K = 1,000$. Рассчитайте количественное содержание кальция хлорида. Обоснуйте методику количественного определения и напишите уравнения реакций; сделайте заключение о качестве лекарственного средства; содержание $\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ должно быть не менее 98%; $M. M. = 219,08$.

20. Какие соединения могут реагировать с гексаметилентетрамином в среде серной кислоты концентрированной: бензойная кислота, салициловая кислота, ацетилсалициловая кислота? Дайте обоснование реакций и напишите уравнения.

21. Укажите структурные элементы в молекулах аскорбиновой и глутаминовой кислот, обуславливающие их оптическую активность. Как используется этот показатель в контроле качества?

22. Количественное определение глутаминовой кислоты методом кислотно-основного титрования может проводиться по одной или по двум карбок-

сильным группам. Напишите соответствующие уравнения реакций и рассчитайте титр глутаминовой кислоты в первом и во втором случае.

23. Как объяснить, что рН водных растворов аминокислот близок к нейтральному и растворимость в органических растворителях очень мала?

24. Объясните, почему при действии на аскорбиновую кислоту раствора железа (III) хлорида наблюдается его обесцвечивание, а при последующем добавлении аммиака появляется темно-фиолетовое окрашивание. Напишите уравнения реакций.

25. Укажите общие реагенты, применяемые для определения подлинности аскорбиновой кислоты и глюкозы. Есть ли различие в условиях проведения реакций?

26. Рассчитайте титр аскорбиновой кислоты при количественном определении методом йодометрии и методом алкалиметрии.

27. Какие реакции являются общими для лекарственных средств из группы β -лактамидов? С какими особенностями химической структуры они связаны? Как используются в анализе лекарственных средств данной группы? Напишите уравнения реакций. Какие группы лекарственных средств дают аналогичные реакции? Приведите примеры.

28. Назовите общие реакции для определения ампициллина, цефалексина, глутаминовой кислоты. Чем они обусловлены? Напишите уравнения реакций.

29. Найдено, что в бензилпенициллина калиевой соли сумма пенициллинов соответствует 94,5%. Рассчитайте количество 0,01 М раствора йода (разность между контрольным и основным титрованием), израсходованного на титрование 0,0602 г лекарственного средства. $K = 1,000$, $t = 20^\circ\text{C}$. Дайте обоснование методики. Напишите уравнения реакций.

30. Дайте характеристику кислотно-основных свойств ампициллина, цефалексина, феноксиметилпенициллина. Подтвердите свои выводы уравнениями химических реакций. Как используются кислотно-основные свойства в анализе этих лекарственных средств?

31. Перечислите все реакции для определения остатка L-стрептозы в молекуле стрептомицина. В каких условиях можно открыть остаток L-стрептозы и остаток N-метил-L-глюкозамина как производного глюкозы с реактивами, характерными для альдегидной группы? Напишите уравнения реакций.

32. Рассчитайте концентрацию ментола в спиртовом растворе, если удельное вращение составляет -50° , а угол вращения -5° , толщина слоя 1 дм.

33. Гликозидная связь в сердечных гликозидах образуется при взаимодействии полуацетального гидроксила сахара и вторичного спиртового гидроксила агликона. Назовите условия, при которых происходит гидролиз гликозидной связи. С какими веществами (обладающими кислотными или основными свойствами) следует избегать прописывания сердечных гликозидов?

34. Приведите примеры лекарственных средств группы стероидных гормонов, которые взаимодействуют с реактивом Фелинга, с аммиачным раствором серебра. Укажите тип реакций и структурные элементы, обуславливающие взаимодействие с перечисленными реактивами. Напишите схему реакций.

35. При использовании УФ-спектрофотометрической методики количественного определения метилтестостерона в таблетках 0,005 г установлено, что

оптическая плотность раствора при длине волны 241 нм (навеска 0,0527 г) равна 0,486; $A_{1\text{см}}^{1\%}$ — 540; разведение — 50, средняя масса таблетки — 0,25 г. Рассчитайте содержание метилтестостерона в таблетках. Является ли данный метод специфичным? Какими дополнительными методами можно повысить специфичность методики?

36. Взаимодействуют ли с раствором щелочи бутадиион, теобромин, резорцин? Приведите примеры других реакций, которые подтверждали бы кислотные свойства соединений, и назовите условия их проведения.

37. Приведите примеры использования реакций электрофильного замещения (бromирование, образование арилметановых красителей, азокрасителей) в анализе фенола и резорцина. Напишите схемы реакций и укажите условия их проведения.

38. Объясните, почему при действии серной кислоты на порошок, содержащий стрептоцид и гексаметиленetetрамин, и последующем нагревании возникает желтое окрашивание. Напишите схему реакций.

39. Какие реакции применяются для обнаружения примеси: а) фенола в тимоле; б) пирокатехина в резорцине; в) *para*-аминофенола в парацетамоле? Дайте обоснование выбора реакций.

40. Дайте обоснование условий хранения викасола, парацетамола, тетрациклина гидрохлорида на основании их химической структуры. Укажите возможные химические превращения этих соединений при доступе влаги, кислорода воздуха, изменении pH среды.

41. Рассчитайте содержание парацетамола при определении его нитритометрическим методом на основании следующих данных: масса навески 0,2511 г, объем 0,1 М раствора натрия нитрита 16,5 мл, $K = 0,9901$. Рассчитайте титр парацетамола. $M. M. = 151,17$.

42. Приведите примеры лекарственных средств группы производных ароматических аминокислот, дающих гидроксамовую реакцию. Напишите уравнения реакции. Укажите применение ее в анализе. Специфична ли данная реакция?

43. Назовите условия проведения реакции сочетания фенолов и аминов с солью диазония. Можно ли получить азокраситель в щелочной среде, действуя солью диазония на анестезин или натрия *para*-аминосалицилат? Напишите уравнения реакций.

44. Одним из показателей, нормирующих качество лекарственных средств (новокаина гидрохлорид, натрия *para*-аминосалицилат), является цветность раствора. Обоснуйте требования ГФ к определению этого показателя. Укажите возможные химические превращения данных соединений.

45. Рассчитайте молярную массу эквивалента и титр ацетилсалициловой кислоты ($M. M. = 180,6$) по реакции нейтрализации карбоксильной группы 0,1 М раствором натрия гидроксида; по реакции нейтрализации 0,1 М раствором серной кислоты после щелочного гидролиза сложноэфирной группы. Назовите условия их проведения.

46. Изменяются ли результаты количественного определения натрия *para*-аминосалицилата, если для титрования использовали 0,05 М раствор натрия

нитрита вместо 0,1 М раствора при одной и той же навеске массой 0,3982 г и $M. M. = 211,15$? Рассчитайте объем титранта.

47. Чем объяснить большую реакционную способность к окислению норадреналина и адреналина гидротартратов по сравнению с одноатомными фенолами? Можно ли по окислительно-восстановительным реакциям дифференцировать данные вещества? Напишите схему реакций.

48. Влияет ли щелочность стекла на стабильность раствора для инъекций адреналина гидротартрата? Укажите возможные химические процессы, происходящие при хранении этой лекарственной формы.

49. Укажите состав растворов для инъекций адреналина гидрохлорида и адреналина гидротартрата и условия приготовления их стерильных растворов.

50. Какие инъекционные растворы глюкозы, гексенала, аскорбиновой кислоты, адреналина гидрохлорида, гексаметилентетрамина не подвергают термической стерилизации? Дайте обоснование и напишите схемы реакций.

51. Какой поглощающий раствор необходим при количественном определении тиреоидина методом сжигания в колбе с кислородом? Объясните суть метода и напишите схемы химических реакций.

52. При количественном определении фталазола нитритометрическим методом после гидролиза был получен результат, отвечающий требованиям ГФ. Можно ли сделать вывод о качестве лекарственного средства? Почему ГФ использует метод кислотно-основного титрования в неводной среде?

53. Можно ли провести количественное определение сульфацил-натрия ацидиметрическим методом? Напишите уравнение реакции. Предложите стандартный раствор. Рассчитайте титр. Сравните методику с представленной в фармакопее.

54. С помощью какого реагента можно идентифицировать одновременно оба ингредиента лекарственной смеси следующего состава: кодеина фосфата — 0,015; натрия гидрокарбоната — 0,3? Напишите уравнения реакций.

55. Предложите способ одновременного обнаружения новокаина гидрохлорида и резорцина в лекарственной прописи с помощью одной химической реакции. Напишите схему реакции.

56. На основании химических свойств фурацилина и фтивазида объясните, почему наблюдается углубление окраски (появление красного или оранжевого окрашивания) при их растворении в растворе натрия гидроксида. Напишите уравнения химических реакций.

57. Объясните, почему при испытании на подлинность лекарственных средств — дибазола, морфина гидрохлорида, атропина сульфата — ГФ рекомендует проводить осаждение оснований из их солей раствором аммиака, а не натрия гидроксида.

58. Рассчитайте титр атропина сульфата при количественном определении его:

а) алкалиметрическим методом (титрант — 0,05 М раствор натрия гидроксида);

б) методом кислотно-основного титрования в неводной среде (титрант — 0,1 М раствор хлорной кислоты, $M. M. = 694,8$).

Напишите схемы реакций.

59. Обоснуйте количественное определение аскорбиновой кислоты, аналгина и изониазида методом йодометрии. На основании уравнений химических реакций рассчитайте значения молярной массы эквивалента.

60. На основании химической структуры, свойств аскорбиновой кислоты и рутина обоснуйте реакцию их взаимодействия с реактивом Фелинга, указав условия ее проведения.

61. Можно ли дифференцировать по реакции с меди (II) сульфатом лекарственные средства: никотиновую кислоту, изониазид, бутадиион? В возможных случаях напишите уравнения химических реакций.

62. Какие лекарственные средства — аналгин, бутадиион, дибазол, дихлотиазид — дают окрашивание при нагревании с салициловой кислотой в присутствии серной кислоты концентрированной? В возможных случаях напишите уравнения реакций.

63. Объясните возможность применения гидроксатовой реакции для идентификации лекарственных средств: неодикумарина, бензонала, кортизона ацетата. Укажите условия протекания реакции. Напишите уравнения реакций.

64. Объясните, почему при действии на аналгин калия йодата в кислой среде сначала возникает окрашивание, а при дальнейшем добавлении реактива выделяется бурый осадок.

65. Чем отличается взаимодействие антипирина с раствором железа (III) хлорида и натрия нитритом в кислой среде от реакции аналгина с этими реагентами? Напишите схемы реакций.

66. На основании химической структуры неодикумарина объясните возможность его взаимодействия со щелочью в реакциях разных типов. Укажите значение данных реакций в фармацевтическом анализе. Напишите схемы реакций.

67. Обоснуйте возможность и условия реакции образования азокрасителя для лекарственных веществ: пиридоксина гидрохлорида, неодикумарина и фолиевой кислоты. Напишите схемы реакций.

68. На основании особенностей строения рутина, бутадииона, рибофлавина, фолиевой кислоты объясните их способность растворяться в растворе натрия гидроксида.

69. Можно ли дифференцировать по наблюдаемому эффекту реакции с раствором йода лекарственные средства: антипирин, дибазол, аскорбиновую кислоту?

70. Приведите и обоснуйте способы отличия эуфиллина от теофиллина. Напишите уравнения химических реакций.

71. Укажите структурные элементы (или функциональные группы) аналгина, аскорбиновой кислоты, новокаина гидрохлорида, которые обуславливают восстановительные свойства этих лекарственных средств. Напишите уравнения реакций окислительно-восстановительного типа для данных лекарственных средств, рекомендованных ГФ.

72. Обоснуйте условия проведения реакции комплексообразования с общеалкалоидными осадительными реактивами для кофеина и с солями тяжелых металлов для теобромона.

73. Предложите реакции подлинности и методы количественного определения лекарственных средств, входящих в микстуру состава: раствора натрия бромида — 2,0—200,0; барбитал-натрия — 1,0. Назовите условия проведения реакции и напишите уравнения реакций.

74. При длительном хранении растворов барбитал-натрия 1 : 10 изменяется реакция среды раствора и появляется осадок. Дайте обоснование происходящему процессу. Напишите уравнения реакций.

75. Объясните возможность взаимодействия лекарственных средств (барбитала, кофеина, гексамидина, фурацилина) со щелочью при различных условиях: без нагревания и при нагревании. Напишите уравнения реакций и укажите их практическое значение.

76. Для количественного определения каких лекарственных средств — анальгин, неодикумарин, кофеин, ментол — применим метод ацетилирования? Напишите схемы реакций.

77. Дайте обоснование возможности применения метода нитритометрии для количественного определения лекарственных средств: нитроксолина, дикаина, парацетамола. Укажите условия анализа и напишите уравнения реакций.

78. Предложите реакции подлинности и методы количественного определения лекарственных средств, входящих в порошки состава: фенобарбитала — 0,05; кофеин-бензоата натрия — 0,1. Назовите условия анализа и напишите уравнения реакций.

79. При определении примеси свободной щелочи в этаминал-натрия по методике ГФ на титрование навески 0,5 г лекарственного средства затрачено 1,8 мл 0,005 М раствора хлороводородной кислоты ($K = 1,000$). Рассчитайте содержание примеси и сделайте вывод о соответствии содержания примеси требованию ГФ.

80. Напишите реакции гидролитического расщепления феназепама в кислой и щелочной средах. Какими испытаниями можно доказать образование продуктов гидролиза? Напишите уравнения реакций.

81. Одна из реакций проверки подлинности феназепама следующая: 0,05 г лекарственного средства нагревают до кипения с хлороводородной кислотой разведенной в течение 2 мин и охлаждают. Полученный раствор дает характерную реакцию на первичные ароматические амины с образованием оранжево-красного осадка (ГФ XIII). Объясните данную методику и подтвердите свои объяснения уравнениями химических реакций.

82. Какими испытаниями можно подтвердить наличие галогенов в лекарственных средствах, производных бензодиазепина? Напишите, при возможности, уравнения реакций.

83. Дайте характеристику кислотно-основных свойств нозепама, сибазона, феназепама и приведите примеры их использования в количественном определении методом кислотно-основного титрования в неводных средах. Напишите уравнения реакций.

84. Предложите способы количественной оценки аскорбиновой и никотиновой кислот при их совместном присутствии и дайте их обоснование. Напишите уравнения реакций.

85. На основании уравнений химических реакций рассчитайте молярную массу эквивалента при титровании хинина гидрохлорида и хинина сульфата методом кислотно-основного титрования в неводной среде.

86. На титрование 0,1506 г дибазола (М. М. = 244,73) израсходовано 5,86 мл 0,1 М раствора хлорной кислоты, $K = 1,000$. Рассчитайте количественное содержание дибазола и дайте заключение о его соответствии требованиям НД. Обоснуйте методику количественного определения и напишите уравнения реакций.

87. Обоснуйте методику количественного определения бензонала (см. разд. 4.2.1) и рассчитайте процентное содержание, если на титрование 0,2063 г лекарственного средства израсходовано 5,54 мл 0,1 М раствора натрия гидроксид, $K = 1,000$. Напишите уравнения реакций. Молекулярная масса бензонала равна 336,24.

88. Рассчитайте молярную массу эквивалента, титр и объем титранта при количественном определении хинина сульфата методом кислотно-основного титрования в неводных средах: титрант — 0,1 М раствор хлорной кислоты; $K = 1,000$; масса навески — 0,2045 г, процентное содержание — 100%. М. М. = 783,0. Напишите уравнения реакций.

89. Обоснуйте методику количественного определения фурадонина методом кислотно-основного титрования в неводных средах. Рассчитайте объем титранта 0,1 М раствором метоксида лития (масса навески = 0,4040 г, $K = 1,000$, содержание фурадонина — 99%, М. М. = 238,2).

90. Какие испытания необходимо проводить на таблетки и растворы для инъекций, исходя из требований общих статей ГФ «Таблетки» и «Инъекционные лекарственные формы»?

91. При количественном определении раствора изониазида 10% для инъекций получили следующие данные: оптическая плотность испытуемого раствора = 0,402, оптическая плотность раствора стандартного образца = 0,443. Рассчитайте количественное содержание изониазида и дайте заключение о его соответствии требованиям НД.

92. При анализе 30% раствора натрия сульфацила рефрактометрическим методом определен показатель преломления $n = 1,3854$ ($F = 0,00193$). Рассчитайте концентрацию натрия сульфацила в растворе и дайте заключение о возможности отпуска данных глазных капель больному.

93. Предложите методику количественного определения аскорбиновой кислоты и борной кислоты в глазных каплях состава: рибофлавина — 0,002; аскорбиновой кислоты — 0,02; 2% раствора борной кислоты — 10,0.

Напишите уравнения реакций, рассчитайте значения молярных масс эквивалентов и титров. Приведите формулы для расчета количественного содержания в глазных каплях борной кислоты и аскорбиновой кислоты.

94. Можно ли отпустить пациенту глазные капли — раствор пилокарпина гидрохлорида 2%, если на титрование 0,5 мл указанных глазных капель израсходовано 0,4 мл 0,1 М раствора натрия гидроксида и 0,7 мл 0,1 М раствора серебра нитрата? Напишите состав глазных капель пилокарпина гидрохлорида и уравнения реакций количественного определения ингредиентов. Титр пилокарпина гидрохлорида по 0,1 М раствору серебра нитрата и 0,1 М раствору на-

трия гидроксида равен 0,02447. Титр натрия хлорида по 0,1 М раствору серебра нитрата равен 0,005844.

95. Напишите уравнения реакций, которые протекают при получении таблеток ацетилсалициловой кислоты и при их хранении. Приведите показатели НД, регламентирующие эти процессы. Поясните различие в допустимом количестве свободной кислоты салициловой в таблетках и субстанции.

96. По ГФ при испытании на доброкачественность левомицетина определяют примеси хлоридов (0,3 г лекарственного средства взбалтывают 1 мин с 15 мл воды и фильтруют). Фильтрат объемом 10 мл должен выдерживать испытание на хлориды, которых в левомицетине должно быть менее 0,001%. Приведите соответствующие расчеты для подтверждения указанного содержания хлоридов.

Приложения

ПРИЛОЖЕНИЕ 1

Рефрактометрические таблицы

Показатели преломления¹ и факторы показателей преломления растворов лекарственных веществ с массо-объемной концентрацией

Концен- трация, %	Глюкоза безводная		Каляя йодид		Аминока- проновая кислота		Аскорбино- вая кислота		Борная кислота	
	n^{20}_D	F	n^{20}_D	F	n^{20}_D	F	n^{20}_D	F	n^{20}_D	F
1	1,3344	Для всех концентраций 0,00142	1,3343	Для всех концентраций 0,00130	1,3349	Для всех концентраций 0,00185	1,3346	0,00160	1,3337	Для всех концентраций 0,00067
2	1,3358		1,3356		1,3367		1,3362	0,00160	1,3343	
3	1,3373		1,3369		1,3386		1,3378	0,00160	1,3350	
4	1,3387		1,3382		1,3404		1,3394	0,00159	1,3357	
5	1,3401		1,3395		1,3423		1,3409	0,00159		
6	1,3415		1,3408		1,3441		1,3425	0,00158		
7	1,3429		1,3421		1,3460		1,3441	0,00158		
8	1,3444		1,3434		1,3478		1,3456	0,00158		
9	1,3458		1,3447				1,3471	0,00157		
10	1,3472		1,3460				1,3487	0,00157		
15	1,3543		1,3525							
20	1,3614		1,3590							
25	1,3685									

¹ Показатели преломления обычно определяются с точностью до четвертого знака после запятой, а факторы показателей преломления приведены с пятью знаками. Расхождения при этом незначительные и существенно не отражаются на результатах определения.

Показатели преломления водных растворов лекарственных веществ с массо-объемной концентрацией

Показатель преломления, n_D^{20}	Концентрация растворов, %			
	аммония хлорид	гексамети-лентетрамин	глюкоза безводная	калия бромид
1,3340	0,50	0,60	0,70	0,83
1,3350	1,00	1,19	1,40	1,67
1,3360	1,50	1,78	2,10	2,51
1,3370	2,00	2,40	2,80	3,35
1,3380	2,50	3,00	3,50	4,19
1,3390	3,00	3,60	4,20	5,04
1,3400	3,50	4,20	4,90	5,89
1,3410	4,00	4,78	5,60	6,74
1,3420	4,50	5,36	6,30	7,60
1,3430	5,00	5,96	7,00	8,45
1,3440	5,50	6,55	7,70	9,31
1,3450	6,00	7,15	8,40	10,17
1,3460	6,50	7,75	9,10	11,04
1,3470	7,00	8,35	9,80	11,90
1,3480	8,00	8,94	10,50	12,77
1,3490	8,50	9,52	11,20	13,64
1,3500	9,00	10,10	11,90	14,52
1,3510	9,50	10,67	12,60	15,40
1,3520	10,00	11,26	13,30	16,28
1,3530	10,50	11,85	14,00	17,16
1,3540	11,00	12,45	14,70	18,04
1,3550	11,50	13,05	15,40	18,93
1,3560	12,00	13,64	16,10	19,82
1,3570	13,00	14,21	16,80	20,71
1,3580	13,50	14,77	17,50	21,61
1,3590	14,00	15,36	18,20	22,51
1,3600	14,50	15,94	18,90	23,41
1,3610	15,00	16,53	19,60	24,32
1,3620	15,50	17,11	20,30	
1,3630	16,00	17,69	21,00	
1,3640	17,00	18,26	21,70	
1,3650	17,50	18,85	22,40	
1,3660	18,00	19,43	23,10	
1,3670	19,00	20,02	23,80	
1,3680	19,50	20,60	24,50	
1,3690	20,00	21,17	25,30	

Показатель преломле- ния, n^{20}_D	Концентрация растворов, %				
	калия йодид	калия хлорид	кальция хло- рид · 6H ₂ O	аскорбино- вая кислота	кофеин-бен- зоат натрия
1,3340	0,75	0,77	0,85	0,62	0,60
1,3350	1,53	1,54	1,71	1,24	1,20
1,3360	2,30	2,31	2,56	1,88	1,70
1,3370	3,05	3,08	3,42	2,52	2,20
1,3380	3,80	3,85	4,28	3,16	2,70
1,3390	4,58	4,67	5,15	3,80	3,20
1,3400	5,35	5,46	6,00	4,44	3,70
1,3410	6,10	6,24	6,90	5,08	4,20
1,3420	6,85	7,04	7,79	5,72	4,70
1,3430	7,60	7,84	8,65	6,36	5,56
1,3440	8,40	8,64	9,50	7,00	5,70
1,3450	9,15	9,44	10,40	7,64	6,67
1,3460	9,93	10,24	11,20	8,28	6,70
1,3470	10,70	11,05	12,10	8,92	7,20
1,3480	11,75	11,87	13,00	9,56	7,70
1,3490	12,25	12,68	13,90	10,20	8,20
1,3500	13,00	13,50	14,78		8,70
1,3510	13,78	14,32	15,67		9,20
1,3520	14,55	15,14	16,57		9,70
1,3530	15,35	15,97	17,45		10,20
1,3540	16,13		18,36		10,70
1,3550	16,88		19,28		11,20
1,3560	17,65		20,19		11,70
1,3570	18,43		21,09		12,20
1,3580	19,20		22,00		12,70
1,3590	20,00		22,91		13,20
1,3600	20,75		23,81		13,70
1,3610			24,79		14,20
1,3620			25,78		14,70
1,3630			26,69		15,20

Показатель преломле- ния, n^{20}_D	Концентрация растворов, %					
	магния суль- фат · 7H ₂ O	меди суль- фат · 5H ₂ O	натрия бензоат	натрия бромид	натрия гид- рокарбонат	натрия йодид
1,3340	1,05	0,91	0,45	0,75	0,80	0,71
1,3350	2,09	1,68	0,92	1,50	1,60	1,41
1,3360	3,10	2,61	1,39	2,26	2,40	2,10
1,3370	4,13	3,51	1,86	3,00	3,20	2,80
1,3380	5,15	4,39	2,35	3,74	4,00	3,49
1,3390	6,20	5,31	2,81	4,50	4,80	4,20
1,3400	7,35	6,19	3,26	5,24	5,60	4,88
1,3410	8,45	7,14	3,72	6,00	6,40	5,58
1,3420	9,65	8,04	4,18	6,76	7,20	6,27
1,3430	10,75	8,89	4,63	7,54	8,00	6,96
1,3440	11,80	9,82	5,07	8,32	8,80	7,65
1,3450	12,95	10,71	5,53	9,06	9,60	8,35
1,3460	14,05	11,61	6,00	9,81	10,40	9,04
1,3470	15,22	12,50	6,48	10,57		9,74
1,3480	16,34	13,40	6,95	11,32		10,44
1,3490	17,50	14,30	7,41	12,09		11,15
1,3500	18,70		7,88	12,88		11,85
1,3510	19,90		8,35	13,67		12,55
1,3520	21,10		8,83	14,46		13,26
1,3530	22,20		9,30	15,25		13,97
1,3540	23,45		9,77	16,03		14,67
1,3550	24,70		10,24	16,81		15,37
1,3560	25,85		10,71	17,60		16,05
1,3570	27,10		11,19	18,38		16,75
1,3580	28,40		11,66	19,16		17,45
1,3590	29,50		12,14	19,96		18,15
1,3600	30,75		12,63	20,77		18,85
1,3610	32,00		13,10	21,55		19,58
1,3620	33,35		13,58	22,35		20,28
1,3630	34,66		14,06	23,15		
1,3640	35,90		14,53	23,96		
1,3650	37,24		15,01	24,76		
1,3660	38,60		15,50	25,42		

Показатель преломления, n_D^{20}	Концентрация растворов, %				
	натрия салицилат	натрия тиосуль- фат · 5H ₂ O	натрия хлорид	натрия цитрат · · 5,5H ₂ O	ново- каин
1,3340	0,50	1,00	0,60	0,50	0,45
1,3350	0,98	1,80	1,20	1,00	0,90
1,3360	1,48	2,20	1,76	2,00	1,35
1,3370	1,98	3,00	2,32	2,50	1,80
1,3380	2,50	4,00	2,91	3,00	2,25
1,3390	3,00	5,00	3,52	4,00	2,70
1,3400	3,48	6,00	4,15	4,50	3,15
1,3410	3,98	6,80	4,77	5,00	3,60
1,3420	4,47	7,20	5,37	6,00	4,05
1,3430	4,97	8,00	6,00	6,50	4,50
1,3440	5,45	9,00	6,63	7,00	4,95
1,3450	5,95	10,00	7,20	7,50	5,40
1,3460	6,45	11,00	7,82	8,00	5,85
1,3470	6,95	11,80	8,45	9,00	6,30
1,3480	7,45	12,20	9,10	10,00	6,80
1,3490	7,95	13,00	9,67		7,25
1,3500	8,45	14,00	10,30		7,70
1,3510	8,97	15,00	11,00		8,15
1,3520	9,45	15,80	11,65		8,65
1,3530	9,98	16,20	12,30		9,15
1,3540	10,45	17,20	13,00		9,55
1,3550	10,95	18,00	13,65		10,00
1,3560	11,47	19,00	14,30		10,45
1,3570	11,95	20,00	14,95		10,90
1,3580	12,45	21,00	15,65		11,35
1,3590	12,95	22,00	16,33		11,80
1,3600	13,48	22,80	17,03		12,25
1,3610	13,97	23,20	17,70		12,70
1,3620	14,50	24,00	18,40		13,15
1,3630	15,00	25,00	19,10		13,60
1,3640	15,52	26,00	19,76		14,05
1,3650	16,05	27,00	20,42		14,50
1,3660	16,57	27,80	21,15		14,95
1,3670	17,10	28,20	21,82		
1,3680	17,62	29,00	22,50		
1,3690	18,15	30,00	23,20		
1,3700	18,65	31,00	23,93		
1,3710	19,20	32,00	24,63		
1,3720	19,70	33,00	25,32		
1,3730	20,25	34,00			

Примечание. Концентрации растворов глюкозы по таблице рассчитаны на глюкозу безводную. Для окончательного подсчета концентрации растворов глюкозы, предназначенных для внутреннего употребления, учитывая влагу, прибавляют 10% к полученной концентрации.

Показатели преломления растворов борной кислоты с массо-объемной концентрацией

Показатель преломления растворов, n^{20}_D	Концентрация растворов, %
1,334	1,49
1,335	2,99
1,336	4,48

Факторы показателей преломления водных растворов лекарственных веществ с массо-объемной концентрацией

Концен- трация, %	Факторы показателей преломления				
	натрия гид- рокарбонат	натрия тетраборат $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10\text{H}_2\text{O}$	натрия тиосульфат $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	ново- каин	резор- цин
1	Для всех концентра- ций 0,00125	0,00110	0,00100	0,00222	0,00200
2		0,00110	0,00124	0,00222	0,00200
3		0,00110	0,00133	0,00222	0,00200
4		0,00107	0,00125	0,00222	0,00200
5		0,00106	0,00120	0,00222	0,00200
6		0,00103	0,00117	0,00222	
7		0,00100	0,00121	0,00221	
8		0,00100	0,00125	0,00221	
9		0,00100	0,00122	0,00219	
10		0,00100	0,00120	0,00220	
15			0,00120	0,00221	
20			0,00120		
25			0,00120		
30			0,00120		
40			0,00115		
50			0,00112		
60			0,00110		

Меры предосторожности при работе в лаборатории и оказание первой медицинской помощи

При выполнении практических работ в химической лаборатории необходимо знать инструкции по технике безопасности, имеющиеся в каждой химической лаборатории, и меры оказания первой медицинской помощи при несчастных случаях.

При порезе стеклом надо удалить пинцетом кусочки стекла из раны; смазать края раны спиртовым (или раствором Люголя) или водным раствором йода, прикрыть стерильной марлевой салфеткой и наложить повязку; обратиться к врачу. При неглубоком ранении после обработки рану можно закрыть лейкопластырем. Если кровотечение сразу не прекращается, следует приложить гемостатическую губку или вату (в лаборатории ее приготовят, пропитав гигроскопическую вату 10% раствором железа хлорида или 3% раствором водорода пероксида). При сильном кровотечении, связанном с ранением более крупных кровеносных сосудов, надо временно перетянуть руку эластичным жгутом из резиновой трубки, отправить больного в травматологический пункт или вызывать скорую помощь.

При термических ожогах необходимо сразу смочить обожженное место 5% раствором танина в 40% спирте этиловом. Лучше наложить компресс с этим раствором.

При химических ожогах кислотами промывают пораженный участок водой, а затем 1—2% раствором натрия гидрокарбоната. Можно наложить компресс с 1% раствором натрия гидрокарбоната.

При ожогах концентрированными щелочами рану промывают водой, а затем 1% раствором уксусной или лимонной кислот, можно также наложить компресс с указанными кислотами.

При попадании кислоты или щелочи в глаза необходимо тщательно промыть их водой, а затем соответственно 2% раствором натрия гидрокарбоната или 2% раствором борной кислоты.

При ожогах кожи бромом следует быстро смыть его большим количеством спирта этилового и смазать пораженное место мазью от ожогов.

При ожогах жидким фенолом следует растереть побелевший участок кожи глицерином, пока не восстановится нормальный цвет кожи. Затем промыть пораженный участок водой и наложить компресс из ваты, смоченной глицерином. Если своевременно не принять указанных мер, могут образоваться долго не заживающие раны.

При ожогах горячими органическими растворителями необходимо промыть обожженное место, чаще всего этиловым спиртом (но не водой).

В случае отравления хлором, бромом, оксидами азота следует длительно вдыхать раствор аммиака, затем выйти на свежий воздух и выпить молока.

При сильных ожогах, ранениях и отравлениях после оказания первой медицинской помощи пострадавшему следует немедленно обратиться за помощью к врачу/в поликлинику по месту жительства или вызвать скорую помощь.

Перевязочный материал и лекарственные средства всегда должны находиться в аптечке.

Оглавление

Авторский коллектив	5
ОБЩИЕ МЕТОДЫ И ПРИЕМЫ ИССЛЕДОВАНИЯ КАЧЕСТВА ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ	7
Глава 1. Физические и физико-химические методы исследования лекарственных средств	7
1.1. Рефрактометрия	7
Общие положения	7
Анализ жидких лекарственных форм, содержащих одно растворенное вещество	8
Анализ многокомпонентных лекарственных форм.	10
1.2. Поляриметрия	11
Анализ таблеток валидола	11
1.3. Спектрофотометрия в инфракрасной области спектра	12
1.4. Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях спектра	16
1.4.1. Спектрофотометрия в ультрафиолетовой области спектра	21
1.4.1.1. Определение стероидных гормонов и синтетических аналогов	21
Определение преднизолона в таблетках по 0,001 г и 0,005 г	21
Определение преднизолона и преднизолона ацетата в мази	21
Определение метилтестостерона в таблетках по 0,005 г	22
Определение диэтилстильбэстрола и синэстрола	
в таблетках по 0,001 г	22
1.4.1.2. Определение производных бензодиазепина	23
Определение феназепама в таблетках по 0,0005 г и 0,001 г . .	23
1.4.1.3. Определение фенолов	24
Определение резорцина в растворе резорцина спиртового	
1% и 2%	24
1.4.2. Спектрофотометрия в видимой области спектра.	24
1.4.2.1. Определение стероидных гормонов	24
Определение преднизолона в мази	24
Определение метилтестостерона и прегнина в таблетках	
по 0,005 г и 0,01 г соответственно	26
1.4.2.2. Определение производных индола	27
Определение резерпина	27

1.5. Фотоэлектроколориметрия	28
Определение новокаина гидрохлорида	28
Определение левомицетина	29
Определение фурацилина	29
Определение рибофлавина	30
1.6. Хроматография	30
1.6.1. Распределительная хроматография	30
1.6.2. Адсорбционная хроматография	31
1.6.3. Ионообменная хроматография	31
Определение натрия цитрата для инъекций	31
1.6.4. Хроматография на бумаге	32
1.6.5. Хроматография в тонком слое	32
Определение подлинности пармидина в таблетках	33
Определение подлинности компонентов таблеток «Пенталгин ICN».	34
Определение посторонних примесей и продуктов разложения нитразепама	34
Определение посторонних примесей в фуразолидоне	35
1.6.6. Газовая хроматография	35
Определение компонентов аэрозоля «Каметон»	36
1.6.7. Высокоэффективная жидкостная хроматография	38
1.7. Потенциометрия	43
1.7.1. Потенциометрическое измерение pH	43
1.7.2. Потенциометрическое титрование	44
Количественное определение феназепама	44
Глава 2. Определение подлинности лекарственных средств	45
2.1. Характеристика внешнего вида	45
2.2. Растворимость	46
2.3. Реакции на азотсодержащие органические основания с общеалкалоидными осадительными реактивами	46
Определение посторонних примесей в кофеине	49
Количественное определение тиамина бромид	51
Глава 3. Анализ чистоты лекарственных средств	52
3.1. Прозрачность, степень мутности, бесцветность, степень окраски жидкостей	53
3.2. Кислотность, щелочность, pH	54
3.3. Определение примесей ионов	54
МЕТОДЫ КОЛИЧЕСТВЕННОГО АНАЛИЗА ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ	56
Глава 4. Количественное определение лекарственных средств	56
4.1. Гравиметрический метод	56
Определение хинина гидрохлорида	57
Определение тиопентала натрия	58
Определение прогестерона	58

4.2. Титриметрические методы	59
4.2.1. Кислотно-основное титрование в водных и неводных средах	60
4.2.1.1. Титрование в водной среде	63
4.2.1.1.1. Титрование кислот и солей слабых оснований и сильных кислот	63
Определение хлороводородной кислоты	64
Определение аскорбиновой кислоты	64
Определение ацетилсалициловой кислоты	64
Определение фенобарбитала	65
Определение борной кислоты	65
Определение аминокислот алифатического ряда	66
Определение глутаминовой кислоты	67
Определение некоторых лекарственных средств методом косвенной нейтрализации	67
Определение теофиллина	67
Определение этинилэстрадиола	67
Определение фенолов, енолов и спиртов методом ацетилирования	68
Определение диэтилстильбэстрола	68
Определение солей органических оснований	69
Определение пиридоксина гидрохлорида	69
Определение хинозола	69
4.2.1.1.2. Титрование оснований и солей сильных оснований и слабых кислот	70
Определение кодеина	70
Определение гексаметилентетрамина	70
Определение натрия бензоата и натрия салицилата	70
Определение барбитал-натрия	71
Определение сложных эфиров	71
Определение ацетилсалициловой кислоты	71
4.2.1.2. Титрование в неводных растворителях	72
4.2.1.2.1. Титрование оснований и их солей	74
Титрование оснований в уксусной ледяной и муравьиной кислотах	75
Определение леводопы	75
Определение пармидина	77
Определение метронидазола	77
Определение изониазида	78
Титрование оснований в уксусном ангидриде	79
Определение кофеина	80
Определение нитразепама	81
Определение солей органических оснований	81
Определение адrenalина гидротартрата	82
Определение кодеина фосфата	83
Определение солей галогенводородных кислот	84
Определение эфедрина гидрохлорида	85
Определение эмоксипина	85
Определение хинина гидрохлорида	85
Определение сульфатов органических солей	87
Определение атропина сульфата	87
Определение хинина сульфата	88

Определение лекарственных веществ в таблетках.	91
Определение лекарственных веществ в растворах для инъекций	91
4.2.1.2.2. Титрование кислот	91
Определение фенобарбитала	93
Определение фурадонина	94
Определение метилурацила	95
Определение тиопентал-натрия	96
4.2.2. Методы окисления-восстановления	97
4.2.2.1. Йодометрия	97
Определение йода	99
Определение натрия тиосульфата	99
Определение анальгина	99
Определение аскорбиновой кислоты	100
Определение кофеина в кофеин-бензоате натрия	100
Определение меди сульфата	101
Определение формальдегида и глюкозы	102
Определение раствора формальдегида	102
Определение глюкозы	102
Определение изониазида	103
4.2.2.2. Броматометрия	103
Определение резорцина	104
Определение натрия салицилата	104
Определение изониазида	105
4.2.2.3. Перманганатометрия	105
Определение раствора пероксида водорода	106
4.2.2.4. Цериметрия	106
Определение викасола	107
Определение токоферола ацетата	108
4.2.3. Нитритометрия	109
Титрование с натрия нитритом	110
Определение сульфадиметоксина	110
Определение парацетамола	111
Определение левомецитина	111
Определение новокаина гидрохлорида	112
Определение ниаламида	112
4.2.4. Метод осаждения (аргентометрия)	113
Метод Мора	113
Определение натрия хлорида и калия хлорида	113
Определение калия бромида и натрия бромида	114
Метод Фольгарда	114
Определение теofilлина в эуфиллине	114
Метод Фаянса	115
Определение калия йодида и натрия йодида	116
4.2.5. Комплексонометрия	116
4.2.5.1. Методы титрования растворами ЭДТА	118
Определение катионов магния	120
Определение катионов висмута	121
Определение катиона цинка	121
Определение катиона кальция	121
Определение кальция хлорида	122
Определение кальция глюконата	123
Определение магния сульфата	123

4.2.6. Определение азота в органических соединениях методом Кьельдаля	123
4.2.6.1. Общая статья «Определение азота в органических соединениях методом Кьельдаля» по ГФ	124
1. Метод Кьельдаля	124
2. Микрометод Кьельдаля	125
3. Метод Кьельдаля (обратное титрование)	126
Определение дипрофиллина	126
Определение никотинамида	127
4.2.7. Метод сжигания веществ в колбе с кислородом	128
Определение йода	129
Определение тиреоидина	129
4.2.8. Определение воды методом титрования реактивом К. Фишера	130
Определение воды реактивом К. Фишера	131
Определение воды в бензилпеницилина новокаиновой соли	132
Определение воды в оксациллина натриевой соли	133

АНАЛИЗ КАЧЕСТВА ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ И ИХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМ. 134

Глава 5. Неорганические лекарственные средства. 134

5.1. Соединения кислорода	134
5.1.1. Водорода пероксид	134
Кислотные свойства водорода пероксида	134
Окислительные свойства водорода пероксида.	134
Восстановительные свойства водорода пероксида	134
Образование надхромовых кислот.	134
5.2. Галогены и их соединения	135
5.2.1. Йод.	135
5.2.2. Спиртовые растворы йода	136
5.2.3. Хлороводородная кислота	137
Восстановительные свойства хлороводородной кислоты	137
5.2.4. Натрия и калия хлориды	137
Реакции на ион натрия	137
Реакция на ион натрия с гексагидроксостибат-ионом.	138
5.2.5. Натрия и калия бромиды.	138
5.2.6. Натрия и калия йодиды.	138
Образование йодида свинца	139
5.3. Соединения углерода	139
5.3.1. Натрия гидрокарбонат	139
5.4. Соединения бария, кальция, магния	140
5.4.1. Бария сульфат	140
Определение подлинности бария сульфата	140
5.4.2. Кальция хлорид. Кальция сульфат жженный. Магния сульфат. Магния оксид	140
Качественные реакции кальция хлорида и магния сульфата	140
Реакции определения подлинности ионов кальция, магния, хлорид- и сульфат-ионов	141
5.5. Соединения бора	141
Определение подлинности соединений бора	141

5.6. Соединения висмута, цинка, меди, серебра и железа.	142
5.6.1. Висмута нитрат основной	142
Реакция с раствором аммиака	142
Реакция осаждения сульфидами.	142
Реакция комплексообразования с калия йодидом	142
Специфическая реакция на висмута нитрат основной.	143
5.6.2. Цинка оксид. Цинка сульфат	143
Реакция с раствором аммиака	143
Реакция осаждения сульфидами.	143
Реакция осаждения калия гексацианоферратом (II)	144
5.6.3. Серебра нитрат.	144
Реакция с раствором аммиака	144
Реакции осаждения	144
Реакция восстановления (серебряного зеркала).	144
Реакция серебряного зеркала	145
5.6.4. Коллоидные препараты серебра. Колларгол. Протаргол	145
Реакции коллоидных препаратов серебра	145
5.6.5. Меди сульфат.	145
Реакция с раствором аммиака	145
Реакция осаждения сульфидами	146
Реакция осаждения калия гексацианоферратом (II)	146
Реакция восстановления металлами.	146
Окрашивание пламени	146
5.6.6. Железа (II) сульфат	146
Реакция с раствором аммиака	147
Реакция осаждения с калия гексацианоферратом (III).	147
Реакция осаждения сульфидами	147
5.7. Схема анализа неизвестного лекарственного вещества неорганической природы.	147
Физические свойства	147
Химические свойства	149
Глава 6. Органические лекарственные средства	150
6.1. Алифатические и алициклические соединения	150
6.1.1. Альдегиды.	150
6.1.1.1. Реакции нуклеофильного присоединения	150
6.1.1.2. Реакции окисления	151
Реакции окисления альдегидов	152
6.1.1.3. Реакции нуклеофильного присоединения и конденсации	153
Реакция с хромотроповой кислотой.	153
Определение атропина сульфата.	154
6.1.2. Углеводы	154
6.1.2.1. Глюкоза	154
Особенности определения удельного вращения.	155
Химические свойства	155
Преобразование глюкозы в оксиметилфурфурол	156
6.1.3. Карбоновые кислоты и их производные	156
Образование комплексных соединений с солями тяжелых металлов.	157
Образование сложных эфиров	157

6.1.4. Лактоны полиоксикарбоновых кислот (аскорбиновая кислота)	157
Реакции кислотного типа	158
Реакции окисления	158
6.1.5. Аминокислоты	159
Нингидриновая проба	161
Образование пирролидонкарбоновой кислоты	161
Обнаружение тиольной группировки	162
6.1.6. β -Лактамы	162
6.1.6.1. Пенициллины	162
Химическое строение	162
Физические и физико-химические свойства	163
Химические свойства и реакции подлинности	163
Гидроксамовая реакция	163
Образование пенилловой и пеницилленовой кислот, их использование в анализе	163
Реакции для подтверждения катионов в солях пенициллинов	164
Реакция на калий	164
Реакция на натрий	164
Реакция на новокаин — основание в новокаиновой соли бензилпенициллина	164
Реакции на азотистое основание	165
Реакция некоторых пенициллинов с хромотроповой кислотой	165
Реакция с реактивом Марки	166
Реакция на остаток аминокислоты в ампициллине и амоксициллине	167
Реакция образования азокрасителя на амоксициллин	167
Испытания на чистоту	167
Определение йодсорбирующих примесей	167
Методы количественного определения	168
Йодометрический метод определения суммы пенициллинов в солях бензилпенициллина и в феноксиметилпенициллине	168
Приготовление 0,3 М раствора ацетатного буфера с pH 4,50 \pm 0,05	170
Определение бензилпенициллина в его солях	170
Количественное определение бензилпенициллина калиевой соли	171
Количественное определение бензилпенициллина натриевой соли	172
Количественное определение бензилпенициллина новокаиновой соли	172
Определение суммы пенициллинов в феноксиметилпенициллине	173
Определение феноксиметилпенициллина	173
Спектрофотометрический метод определения ампициллина натриевой соли	173
Количественное определение оксациллина натриевой соли Определение ампициллина	174
Определение ампициллина	175
6.1.6.2. Цефалоспорины	175
Химическое строение	175

Физические и физико-химические свойства цефалоспоринов . . .	175
Химические свойства	176
Реакции подлинности	176
Реакция окисления (за счет атома серы)	176
Гидроксамовая реакция (за счет β -лактамного кольца)	176
Реакции на остаток кислоты α -фениламиноуксусной цефалексина	176
Количественное определение (йодометрический метод)	176
6.1.7. Аминогликозиды	176
Физические и физико-химические свойства.	177
Химические свойства	177
Реакции подлинности	177
Стрептомицина сульфат	178
Мальтольная реакция на остаток стрептозы	178
Реакции на альдегидную группу в остатке L-стрептозы	178
Реакция конденсации с фенолами	179
Реакция конденсации и окисления с резорцином	180
Реакции на остатки гуанидина	180
Реакции на сульфаты с бария хлоридом	181
Количественное определение стрептомицина сульфата фотоэлектроколориметрическим методом на основе мальтольной реакции	181
6.1.8. Терпены	182
Взаимодействие с альдегидами в присутствии концентрированной кислоты серной с образованием различно окрашенных продуктов	182
Реакции подлинности сульфокамфокаина.	183
Дегидратация терпингидрата в присутствии серной кислоты	183
6.1.9. Производные циклопентанпергидрофенантрена.	183
6.1.9.1. Общие реакции карденолидов и стероидных гормонов.	183
Реакция с серной кислотой концентрированной	183
Реакция Либермана—Бурхарда	185
6.1.9.2. Определение подлинности карденолидов.	185
6.1.9.2.1. Реакции на агликон	185
Реакция Бальета	186
Реакция Раймонда	186
Реакция Легалья	186
6.1.9.2.2. Реакция на углеводы	186
Реакция с реактивом Фелинга	187
Реакции на 2,6-дезоксахара	187
Реакция Келлера—Килиани	187
Реакция Пезеца.	187
6.1.9.3. Определение подлинности стероидных гормонов	188
6.1.9.3.1. Установление подлинности по Δ^4 -3-оксогруппе	188
Поглощение в УФ-области спектра	188
Реакции присоединения—элиминирования.	188
6.1.9.3.2. Реакции, обусловленные наличием α -кетольной группировки.	188
С реактивом Фелинга	188
С аммиачным раствором серебра нитрата	188
Реакция с 2,3,5-трифенилтетразолия хлоридом.	188

6.1.9.3.3. Реакция, обусловленная сложноэфирной группой (гидроксамовая реакция)	189
6.1.9.3.4. Реакции, обусловленные фенольным гидроксилом эстрогенов и их аналогов	189
Образование азокрасителя	190
6.1.9.3.5. Идентификация некоторых стероидных гормонов и карденолидов методом хроматографии в тонком слое сорбента	190
Определение стероидных гормонов	190
Определение карденолидов	190
6.1.10. Схема анализа неизвестного лекарственного вещества из класса алифатических и алициклических соединений	191
Физические свойства	191
Химические свойства	192
Реакции гидролитического разложения и деструкции	193
Реакции нуклеофильного присоединения, электрофильного замещения, конденсации и образование красителей	193
Некоторые реакции на производные циклопентанпергидрофенантрена (сердечные гликозиды и их синтетические аналоги)	194
6.2. Ароматические соединения	195
6.2.1. Фенолы, хиноны, ароматические кислоты и их производные	195
6.2.1.1. Фенол и его производные	195
Кислотность фенола и образование солей	196
Реакции с тяжелыми металлами	196
Реакция с железа (III) хлоридом на фенолы	196
Реакции электрофильного замещения	197
Нитрование	197
Бромирование	197
Реакция сочетания фенолов с солью диазония в щелочной среде	197
Реакции окисления	198
Индофеноловая проба	198
Нитрозирование (нитрозореакция Либермана)	198
Реакции с формальдегидом и серной кислотой концентрированной	199
Частные реакции	199
Реакция тимола с азотной кислотой концентрированной	199
Реакция тимола с хлороформом	200
Реакция резорцина с фталиевым ангидридом	200
6.2.1.2. Хиноны (викасол)	201
Взаимодействие со щелочью	201
Взаимодействие с кислотой	201
6.2.1.3. Ароматические кислоты и их производные	201
Кислотность ароматических кислот и образование солей	202
Реакция с железа (III) хлоридом на бензоат-ион	202
Реакция с железа (III) хлоридом на салицилат-ион	203
Реакции с меди сульфатом	204
Реакция с серебра нитратом	204
Реакция выделения нерастворимой ароматической кислоты из натрия бензоата и салицилата	204

Образование простых и сложных эфиров	204
Частные реакции	204
Реакции электрофильного замещения на салициловую кислоту	
Бромирование	204
Реакции сочетания с солью диазония.	205
Реакции окисления	205
Индофеноловая проба.	205
Реакции с формальдегидом и серной кислотой	
концентрированной	205
Реакции гидролитического расщепления	205
Щелочной гидролиз	205
Кислотный гидролиз	206
Гидролиз под действием воды	206
Реакции на катионы	206
Определение натрия в натрия бензоате, натрия салицилате	206
Анализ экстенпоральных лекарственных форм, содержащих	
ароматические кислоты	206
ПРОПИСЬ 1	206
ПРОПИСЬ 2	207
ПРОПИСЬ 3	208
6.2.2. Тетрациклины	208
Реакция с серной кислотой концентрированной	210
Реакция изомеризации под действием натрия гидроксида . .	210
Реакция с железа (III) хлоридом	210
Реакция образования азокрасителя	210
Реакция образования ангидротетрациклина	
с хлороводородной кислотой концентрированной	210
6.2.3. Производные <i>para</i> -аминофенола	210
Кислотные свойства	211
Реакция комплексообразования с железа (III) хлоридом . . .	211
Реакции окисления	211
Окисление калия дихроматом	211
Реакция окисления слабыми окислителями (без	
предварительного гидролиза). Реакция с серебра нитратом. .	211
Реакции конденсации и окисления. Реакция с реактивом	
Марки	211
Реакция гидролитического расщепления.	211
Реакция образования азокрасителя после кислотного	
гидролиза	211
Реакция замещения (без предварительного гидролиза).	
Реакция образования азокрасителя	212
6.2.4. Ароматические аминокислоты и их производные	212
Реакции, основанные на кислотно-основных свойствах.	212
Реакция диклофенака с кислотой	213
Реакция на натрия <i>para</i> -аминосалицилат с железа (III)	
хлоридом	213
Реакции солеобразования натрия диклофенака.	213
Реакции на первичную ароматическую аминогруппу	213
Реакция диазотирования и азосочетания.	214
Сочетание с ароматическими аминами.	214
Сочетание с фенолами	214

Реакции окисления	214
Реакции окисления анестезина и новокаина гидрохлорида	214
Реакции окисления натрия диклофенака	215
Реакция конденсации с формальдегидом	215
Реакция на сложнэфирную группу (гидроксамовая проба)	215
Частные реакции	216
Йодоформная проба на остаток этилового спирта (реакция на анестезин)	216
Реакции натрия <i>пара</i> -аминосалицилата и натрия диклофенака	216
6.2.5. Арилалкиламины и их производные	216
6.2.5.1. Производные фенилалкиламинов, оксифенилалкиламинов.	216
Кислотно-основные свойства	217
Выделение органического основания из солей	217
Реакция комплексообразования	217
Реакции окисления	218
6.2.5.2. Производные нитрофенилалкиламинов. Левометицин.	218
Реакции восстановления нитрогруппы, диазотирования и азосочетания	218
Реакция гидролитического расщепления натрия гидроксидом	218
Реакция комплексообразования с меди (II) сульфатом	219
6.2.6. Йодированные производные ароматических и арилалкифатических аминокислот	219
Кислотно-основные свойства	219
Реакции выявления органически связанного йода	219
Частные реакции	220
Реакция с нингидрином.	220
Реакция с натрия нитритом	220
6.2.7. Бензолсульфониламиды и их производные	220
Физические, физико-химические свойства	220
Общие химические свойства	221
Кислотно-основные свойства	221
Комплексообразование с солями тяжелых металлов	222
Гидролитическое расщепление.	223
Гидролиз в кислой среде букарбана	223
Реакция образования ауринового красителя с динатриевой солью хромотроповой кислоты	224
Частные реакции. Производные сульфаниламида	224
Реакция диазотирования и азосочетания.	224
Реакции окисления	225
Образование индофеноловых красителей	225
Пиролиз сульфаниламинов.	225
Частные реакции (уросульфам, фталазол)	225
6.2.8. Схема анализа неизвестного лекарственного вещества из класса ароматических соединений	226
Физические свойства	226
Растворимость в воде	227
Химические свойства	227
Реакции, обусловленные основными свойствами.	227
Кислотные свойства	227

6.3. Гетероциклические соединения	229
6.3.1. Производные фурана	229
Физико-химические свойства	229
Химические свойства и методы анализа	229
Кислотно-основные свойства	229
Реакция с водным раствором натрия гидроксида	231
Реакция подлинности фурадонина и фуразолидона	231
Гидролитическое расщепление	231
Методы количественного анализа	231
6.3.2. Производные бензопирана	232
6.3.2.1. Неодикумарин	232
Физико-химические свойства	232
Химические свойства и методы анализа	232
Кислотные свойства	232
Реакция с раствором железа (III) хлорида	232
Метод алкалиметрии	232
Кислотно-основное титрование в неводной среде	232
Гидролитическое разложение	233
6.3.2.2. Рутин (рутозид)	234
Физические свойства	234
Химические свойства и методы анализа	234
Реакции на фенольный гидроксил	234
Реакции на сахарный компонент	234
Окисление сахаров реактивом Фелинга	235
Образование цианидинового красителя (цианидиновая проба)	235
6.3.3. Производные пиразола	235
Физико-химические свойства антипирина	235
Химические свойства и методы анализа	236
Реакция комплексообразования	236
Реакции электрофильного замещения (с раствором йода и натрия нитрита в кислой среде)	236
Реакция образования нитроантипирина	237
6.3.3.1. Анальгин (метамизол-натрий)	237
Физико-химические свойства	237
Химические свойства и методы анализа	237
Способность к окислению	237
Взаимодействие с калия йодатом в кислой среде	237
Реакция с раствором серебра нитрата	237
Взаимодействие с раствором йода	238
Окисление хлорамином (или известью хлорной)	238
Образование берлинской лазури	238
Реакция гидролитического расщепления	238
6.3.3.2. Бутадион (фенилбутадион)	239
Физические свойства	239
Химические свойства и методы анализа	239
Кислотно-основные свойства	239
Реакция с раствором меди (II) сульфата	240
Способность к окислению	240
Реакция окисления бутадиона	240
Реакции электрофильного замещения	241
Количественное определение бутадиона	241

6.3.4. Производные бензимидазола	241
6.3.4.1. Дибазол (бендазола гидрохлорид)	241
Физико-химические свойства	241
Химические свойства и оценка качества	241
Реакции с общеалкалоидными реактивами	241
Реакция с раствором йода в кислой среде	242
Кислотные свойства дибазола	242
Количественное определение дибазола	242
6.3.5. Производные пиридина	242
Общие реакции	242
Пиролиз	242
Получение производного глутаконового альдегида (реакция Цинке)	243
Образование дианилглутаконового альдегида	243
Частные реакции	243
Реакции кислотно-основного типа	243
Реакция с никотиновой кислотой	243
Реакция комплексообразования с железа (III) хлоридом	243
Окислительно-восстановительные реакции	244
Взаимодействие изониазида с сульфатом меди	244
Реакции гидролитического расщепления	244
Реакции электрофильного замещения	245
6.3.6. Производные хинолина	245
Таллейохинная проба	245
Образование эритрохина	245
Флуоресценция сернокислых растворов	245
Образование герепатита	245
6.3.6.1. Производные 8-оксихинолина	246
Выделение основания (8-оксихинолина)	246
Реакции на фенольный гидроксил	246
Реакция с солью диазония	246
Реакция комплексообразования хинозола с солями магния, меди, железа	246
6.3.6.2. Производные 4-аминохинолина	247
Окисление хлорохина	247
6.3.6.3. Производные 4-хинолона	247
Определение подлинности	247
6.3.7. Производные изохинолина	247
6.3.7.1. Производные бензилизохинолина	247
Восстановительные свойства папаверина гидрохлорида	247
Коралиновая проба	248
6.3.7.2. Производные фенантренизохинолина	248
6.3.8. Производные пиримидина	248
Реакция гидролитического расщепления	248
Кислотные свойства	249
Взаимодействие кислотных форм барбитуратов с раствором щелочи	249
Гидролиз натриевых солей — производных барбитуровой кислоты	249
Выделение кислотной формы барбитуратов из натриевых солей	250

Реакции комплексообразования с солями тяжелых металлов. . .	250
Реакция комплексообразования раствором серебра нитрата	250
Реакция комплексообразования раствором кобальта нитрата	250
Реакция комплексообразования с раствором меди сульфата	251
Реакции конденсации барбитуратов с альдегидами.	252
Частные реакции	253
Обнаружение фенобарбитала	253
Обнаружение серы в тиопентале натрия	253
Реакция гексенала на непредельную связь.	253
Реакция гексенала с раствором железа (III) хлорида и меди сульфата	253
Реакция гексамидина с раствором динатриевой соли хромотроповой кислоты	254
Реакции производных пиримидин-2,4-диона	254
6.3.9. Производные пиримидилметилтиазола	254
6.3.9.1. Тиамин хлорид (бромид)	254
Реакция с общеалкалоидными осадительными реактивами	254
Гидролитическое расщепление щелочью.	254
Окисление тиамина в тиохром	255
6.3.10. Производные пурина	256
Кислотно-основные свойства	256
Доказательство основных свойств.	256
Доказательство кислотных свойств	257
Реакция образования мурексида.	257
Реакция образования азокрасителя на теофиллин	258
Определение этилендиамина в эуфиллине.	259
Ультрафиолетовые спектры поглощения	259
6.3.11. Производные птеридина	259
6.3.11.1. Фолиевая кислота	259
Кислотно-основные свойства	259
Способность к окислению	260
Реакция образования азокрасителя	260
6.3.12. Производные изохлоксазина	261
6.3.12.1. Рибофлавин.	261
Физико-химические свойства	261
Химические свойства и реакции подлинности	261
Кислотно-основные свойства и реакции комплексообразования	261
Реакция комплексообразования с серебра нитратом.	261
Окислительно-восстановительные свойства.	261
Идентификация рибофлавина	262
Взаимодействие с кислотой серной концентрированной . . .	262
6.3.13. Производные фенотиазина.	263
Определение подлинности	263
Выделение оснований при действии растворов щелочей . . .	263
Образование пикратов	263
Реакция окисления	263
6.3.14. Производные 1,4-бензодиазепина.	264
Химические свойства и определение подлинности	264
Кислотно-основные свойства	264
Флуоресценция окрашенных солей 1,4-бензодиазепинов.	264
Гидролитическое расщепление.	265

Образование азокрасителя после кислотного гидролиза . . .	266
Щелочной гидролиз	267
Реакции на галогены.	268
Образование окрашенных плавов	268
6.3.15. Схема анализа неизвестного лекарственного вещества из класса гетероциклических соединений	268
Описание объекта анализа	268
Растворимость образца в воде	269
Химические испытания кислотно-основного типа	269
Этапы работы	269
Образование растворимых солей	269
Выделение осадков органических кислот и оснований из их солей	270
Образование солей и комплексов с ионами тяжелых металлов	270
Осадочные реакции с общеалкалоидными осадительными реактивами	271
Химические испытания окислительно-восстановительного типа.	271
Реакции гидролитического разложения	272
Реакция образования азокрасителя	272
Реакции получения индофенолового и ауринового красителя	272
Вывод	272
Схема проведения анализа	273

Глава 7. Фармацевтический анализ лекарственных форм промышленного и внутриаптечного производства 274

7.1. Анализ лекарственных форм промышленного производства	274
7.1.1. Таблетки.	274
7.1.1.1. Общие требования к качеству таблеток по ГФ	274
Определение количественного содержания лекарственных веществ в таблетках	275
Испытание однородности дозирования	275
7.1.1.2. Общие требования к качеству таблеток по Международной Фармакопее (МФ III, т. 4)	276
Визуальная проверка.	276
Маркировка	276
Хранение.	277
Требования к конкретным типам таблеток	277
Таблетки без оболочки	277
Растворимые таблетки (таблетки для приготовления растворов)	277
Шипучие таблетки	277
Таблетки для использования в полости рта (подъязычные, защечные) и жевательные таблетки	278
Таблетки, покрытые оболочкой	278
Таблетки длительного действия	279
Таблетки с кишечнорастворимой оболочкой	279
7.1.1.3. Таблетки натрия <i>пара</i> -аминосалицилата по 0,5 г, покрытые оболочкой	279

7.1.1.4. Таблетки дибазола по 0,002 г, 0,003 г, 0,004 г и 0,02 г	280
Приготовление раствора рабочего стандартного образца дибазола	281
7.1.1.5. Таблетки никотиновой кислоты по 0,05 г	281
7.1.1.6. Таблетки фурадонина 0,05 г	282
7.1.1.7. Таблетки парацетамола 0,2 г	283
7.1.2. Парентеральные лекарственные формы	284
7.1.2.1. Общие требования по ГФ	284
7.1.2.2. Общие требования по МФ III, т. 4	285
Требования к определенным категориям парентеральных лекарственных средств	288
1. Лекарственные средства для инъекций	288
2. Лекарственные средства для внутривенного вливания	288
3. Порошки для инъекций	289
7.1.2.3. Растворы для инъекций	289
Раствор изониазида 10% для инъекций.	289
Раствор анальгина 25% и 50% для инъекций.	290
Раствор никотиновой кислоты 1% для инъекций.	291
7.1.2.4. Порошки для инъекций	292
Бензилпенициллина калиевой соли порошок для инъекций	292
7.2. Анализ лекарственных средств внутриаптечного производства	294
Жидкие лекарственные формы	298
Порошки	298
Мази	298
7.2.1. Анализ однокомпонентных жидких лекарственных форм (концентраты, микстуры, скоропортящиеся и нестойкие лекарственные формы)	301
Раствор аммония хлорида 20%.	301
Раствор гексаметилентетрамина 10%; 2%	301
Растворы калия бромида 20%; 3%.	302
Растворы калия йодида 20%; 3%; 2%	302
Раствор калия хлорида 10%.	302
Растворы кальция хлорида 50%; 10%	303
Раствор натрия хлорида изотонический 0,9%	303
Растворы натрия бромида 20%; 3%	303
Растворы натрия йодида 2%; 3%.	303
Раствор натрия бензоата 10%.	304
Раствор натрия гидрокарбоната 5%.	304
Раствор натрия салицилата 10%.	304
Раствор натрия тиосульфата 60%; 30%.	304
Раствор хлористоводородной кислоты 10%; 2%.	305
Раствор аскорбиновой кислоты 5%; 2%.	305
Раствор кофеин-бензоата натрия 10%.	305
Раствор магния сульфата 50%.	306
Раствор глюкозы 5%.	306
Раствор протаргола 2%.	306
Раствор новокаина гидрохлорида 2%; 1%; 0,5%; 0,25%.	306
Раствор хлоралгидрата 10%.	307
Раствор водорода пероксида 3%.	308
Раствор йода спиртовой 5%.	308

Раствор формальдегида	308
7.2.2. Анализ лекарственных смесей. Общие положения	309
7.2.3. Анализ многокомпонентных жидких лекарственных форм	310
Раствора кальция хлорида 10,0—200,0, калия йодида калия бромиды по 4,0	310
Раствор фурацилина 0,02% — 10,0 натрия хлорида 0,09	311
Раствора цинка сульфата 0,25% — 10,0 борной кислоты 0,2	312
Раствор цинка сульфата 0,25% — 10,0 борной кислоты 0,2 резорцина 0,05	313
Хлористоводородной кислоты разведенной 4,4 — 100,0 натрия хлорида 5,2	313
Раствора хлористоводородной кислоты 1% — 200,0 аскорбиновой кислоты 1,0	314
Натрия гидрокарбоната 0,2 натрия тетрабората 0,1 воды очищенной 10,0	314
7.2.4. Анализ порошков	315
Дибазола 0,03 сахара 0,25	315
Папаверина гидрохлорида 0,02 сахара 0,25	315
Глутаминовой кислоты и сахара по 0,2	316
Бутадиона 0,1 сахара 0,2	316
Аскорбиновой кислоты 0,1 глюкозы 0,5	316
7.2.5. Анализ мазей	317
Мазь борная 2%	317

Глава 8. Вопросы и задачи.	318
---	------------

ПРИЛОЖЕНИЯ.	327
------------------------------	------------

Приложение 1. Рефрактометрические таблицы	327
--	------------

Приложение 2. Меры предосторожности при работе в лаборатории и оказание первой медицинской помощи	334
--	------------

Минимальные системные требования определяются соответствующими требованиями программ Adobe Reader версии не ниже 11-й либо Adobe Digital Editions версии не ниже 4.5 для платформ Windows, Mac OS, Android и iOS; экран 10"

Учебное электронное издание

**РУКОВОДСТВО К ЛАБОРАТОРНЫМ ЗАНЯТИЯМ
ПО ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ ХИМИИ**

Практикум

Редакторы канд. биол. наук *Т. Е. Толстихина* и *Л. Н. Коробкова*

Художник *В. Е. Шкерин*

Корректор *В. К. Крылова*

Компьютерная верстка: *В. И. Савельев*

Подписано к использованию 16.03.21.

Формат 145×225 мм

Издательство «Лаборатория знаний»

125167, Москва, проезд Аэропорта, д. 3

Телефон: (499) 157-5272

e-mail: info@pilotLZ.ru, <http://www.pilotLZ.ru>

Фармацевтическая химия — одна из ведущих профильных дисциплин в системе высшего фармацевтического образования.

Руководство к лабораторным занятиям по фармацевтической химии составлено на основе многолетнего опыта работы студенческого практикума по фармацевтической химии фармацевтического факультета Первого Московского государственного медицинского университета имени И. М. Сеченова.

Пособие содержит методики синтеза веществ различных классов. Изложены общие правила и методы работы в органическом практикуме, даны общие указания по интерпретации спектров. Руководство помогает сформировать навыки выполнения всех видов фармакопейного анализа и умения использовать их в практической деятельности, связанной с контролем качества и стандартизацией лекарственных средств.

Подготовлено в комплекте с **учебником «Фармацевтическая химия»** (под редакцией Г. В. Раменской), написанным сотрудниками кафедры фармацевтической и токсикологической химии Института фармации им. А. П. Нелюбина Первого Московского государственного медицинского университета им. И. М. Сеченова. Комплект отвечает всем требованиям к современному учебнику и соответствует Федеральному государственному образовательному стандарту высшего профессионального образования последнего поколения.