

**Учебная литература для студентов фармацевтических
вузов и факультетов**

ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

1. ТЕОРЕТИЧЕСКИЙ МАТЕРИАЛ ПО ТЕМАМ

**Под редакцией академика РАМН,
профессора А.П. АРЗАМАСЦЕВА**

**Москва
2004**

АВТОРСКИЙ КОЛЛЕКТИВ

- АКСЕНОВА Элеонора Николаевна** – канд. фарм. наук, доцент
АНДРИАНОВА Ольга Павловна – канд. фарм. наук, доцент
АРЗАМАСЦЕВ Александр Павлович – доктор фарм. наук,
академик РАМН, профессор
- ДОБРЫНСКАЯ Алевтина Григорьевна** – канд. фарм. наук, доцент
ДОРОФЕЕВ Владимир Львович – доктор фарм. наук
КАРТАШОВ Владислав Сергеевич – доктор фарм. наук,
профессор
- КАСУМОВА Калерия Викторовна**
КОВАЛЕНКО Людмила Ивановна – канд. фарм. наук, доцент
КОКОРНИКОВА Оксана Федоровна – канд. фарм. наук
КУВЫРЧЕНКОВА Ирина Сергеевна – канд. фарм. наук
КУЗИНА Вера Николаевна – канд. фарм. наук
- ЛЕБЕДЕВА Наталья Николаевна**
ЛУТЦЕВА Татьяна Юрьевна – канд. фарм. наук, доцент
МИНЧЕНКОВА Ольга Александровна – канд. фарм. наук, доцент
МИТРЯГИНА Сусанна Федоровна – канд. фарм. наук, доцент
ПЕЧЕННИКОВ Валерий Михайлович – канд. фарм. наук, доцент
ПРОКОФЬЕВА Вера Ивановна – доктор фарм. наук,
профессор
- РАМЕНСКАЯ Галина Владиславовна** – доктор фарм. наук
РОДИОНОВА Галина Михайловна – канд. фарм. наук, доцент
РЫЖЕНКОВА Александра Петровна – канд. фарм. наук, доцент
САДЧИКОВА Наталья Петровна – доктор фарм. наук,
профессор
- ФИЛАТОВА Ирина Сергеевна**
ЧЕРНОВА Светлана Викторовна – канд. фарм. наук, доцент
ЧУМАКОВА Зинаида Васильевна – канд. фарм. наук
ЩЕПОЧКИНА Ольга Юрьевна – канд. фарм. наук, доцент

**Учебная литература для студентов фармацевтических
вузов и факультетов**

ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

1. ТЕОРЕТИЧЕСКИЙ МАТЕРИАЛ ПО ТЕМАМ

**Под редакцией академика РАМН,
профессора А.П. АРЗАМАСЦЕВА**

**Учебная литература для студентов фармацевтических
вузов и факультетов**

ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

1. ТЕОРЕТИЧЕСКИЙ МАТЕРИАЛ ПО ТЕМАМ

**Под редакцией академика РАМН,
профессора А.П. АРЗАМАСЦЕВА**

**Москва
2004**

АВТОРСКИЙ КОЛЛЕКТИВ

- АКСЕНОВА Элеонора Николаевна** – канд. фарм. наук, доцент
АНДРИАНОВА Ольга Павловна – канд. фарм. наук, доцент
АРЗАМАСЦЕВ Александр Павлович – доктор фарм. наук,
академик РАМН, профессор
- ДОБРЫНСКАЯ Алевтина Григорьевна** – канд. фарм. наук, доцент
ДОРОФЕЕВ Владимир Львович – доктор фарм. наук
КАРТАШОВ Владислав Сергеевич – доктор фарм. наук,
профессор
- КАСУМОВА Калерия Викторовна**
КОВАЛЕНКО Людмила Ивановна – канд. фарм. наук, доцент
КОКОРНИКОВА Оксана Федоровна – канд. фарм. наук
КУВЫРЧЕНКОВА Ирина Сергеевна – канд. фарм. наук
КУЗИНА Вера Николаевна – канд. фарм. наук
- ЛЕБЕДЕВА Наталья Николаевна**
ЛУТЦЕВА Татьяна Юрьевна – канд. фарм. наук, доцент
МИНЧЕНКОВА Ольга Александровна – канд. фарм. наук, доцент
МИТРЯГИНА Сусанна Федоровна – канд. фарм. наук, доцент
ПЕЧЕННИКОВ Валерий Михайлович – канд. фарм. наук, доцент
ПРОКОФЬЕВА Вера Ивановна – доктор фарм. наук,
профессор
- РАМЕНСКАЯ Галина Владиславовна** – доктор фарм. наук
РОДИОНОВА Галина Михайловна – канд. фарм. наук, доцент
РЫЖЕНКОВА Александра Петровна – канд. фарм. наук, доцент
САДЧИКОВА Наталья Петровна – доктор фарм. наук,
профессор
- ФИЛАТОВА Ирина Сергеевна**
ЧЕРНОВА Светлана Викторовна – канд. фарм. наук, доцент
ЧУМАКОВА Зинаида Васильевна – канд. фарм. наук
ЩЕПОЧКИНА Ольга Юрьевна – канд. фарм. наук, доцент

ПРЕДИСЛОВИЕ

Среди задач фармацевтической химии, таких как моделирование новых лекарственных средств и их синтез, изучение фармакокинетики и др., особое место занимает анализ качества лекарств. Сборником обязательных общегосударственных стандартов и положений, нормирующих качество лекарственных средств является Государственная фармакопея.

Фармакопейный анализ лекарственных средств включает в себя оценку качества по множеству показателей. В частности, устанавливается подлинность лекарственного средства, анализируется его чистота и проводится количественное определение. Первоначально для проведения такого анализа применяли исключительно химические методы: реакции подлинности, реакции на содержание примесей и титрование при количественном определении (метод, также основанный на химическом взаимодействии).

Со временем повысился не только уровень технического развития фармацевтической отрасли. Параллельно изменились и требования к качеству лекарственных средств.

В последние годы наметилась тенденция к переходу на расширенное использование физических и физико-химических методов анализа. В частности, широко применяются спектральные методы: инфракрасная (ИК) и ультрафиолетовая (УФ) спектрофотометрия, спектроскопия ядерного магнитного резонанса (ЯМР) и др. Активно используются хроматографические методы: высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ), газо-жидкостная хроматография (ГЖХ), тонкослойная хроматография (ТСХ), электрофорез и др.

Сказанное выше подтверждает положение о том, что фармацевтическая химия основывается на фундаментальных дисциплинах (таких как химия, физика, биология и др.) и тесно связывается с профильными фармацевтическими дисциплинами (технология, фармакогнозия, экономика и организация фармации).

Настоящее пособие составлено для студентов заочного отделения и, поэтому, построено с учетом специфики данной формы обучения. Часть I содержит учебный материал по темам. Часть II – практикум.

Пособие посвящено, главным образом, фармацевтическому анализу. Но в некоторых темах приводятся схемы синтеза известных лекарственных средств. Приводятся данные о связи химического строения молекул лекарственных веществ с фармакологическим действием.

Данное пособие может быть полезно также студентам дневного и вечернего отделений и провизорам.

Тема 1. ОБЩИЕ МЕТОДЫ И ПРИЕМЫ АНАЛИЗА КАЧЕСТВА ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

ВВЕДЕНИЕ

Все химические вещества, применяемые как лекарственные средства, должны отвечать требованиям Государственной фармакопеи (ГФ) по внешнему виду (раздел «Описание»), растворимости (раздел «Растворимость»), химическому составу (раздел «Испытания на подлинность»), чистоте (раздел «Испытания на чистоту»), а также по таким показателям его качества как: величина рН, «удельный показатель поглощения», «удельное вращение», температура плавления и др. Количественное содержание действующего вещества или нескольких веществ должно находиться в пределах, указанных в разделе «Количественное определение».

I. ФИЗИЧЕСКИЕ И ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

1. Определение температуры плавления и температурных пределов перегонки

Температурой плавления вещества считают температуру, при которой твердая фаза его находится в равновесии с расплавом. Во время плавления, пока твердое вещество не превратится в жидкость, температура остается постоянной. Чистое вещество имеет четкую температуру плавления. Незначительное количество примесей изменяет температуру его плавления. В фармакопейном анализе определение этого показателя используется с целью идентификации и установления чистоты. Поскольку лекарственные вещества, могут содержать некоторое количество примесей (предел их содержания регламентируется фармакопейными статьями), для них дается интервал температуры плавления, чаще равный 2 °С.

Согласно ГФ под температурой плавления лекарственного вещества подразумевают интервал температуры между началом плавления - появлением первой капли жидкости и концом плавления – полным переходом вещества в жидкое состояние.

В некоторых случаях определяют температуру только начала или конца плавления (для веществ, имеющих нечеткое начало или нечеткий конец плавления). Однако значения температуры начала и конца плавления должны укладываться в пределы, указанные в частных статьях ГФ.

Растянутый интервал температуры плавления связан с химическими особенностями веществ или наличием примесей, влияющих на этот пока-

затель. Для веществ, которые плавятся с разложением, обычно указывается температура, при которой вещество разлагается и происходит его резкое изменение (вспенивание). Если вещество образует при разложении газообразные продукты (например, гексаметилентетрамин), то определить температуру его плавления невозможно.

Для идентификации лекарственных веществ определяется интервал температуры плавления самих веществ, их производных (оксимов, гидразонов, пикратов и др.), продуктов их гидролиза, а также органических кислот и оснований, выделенных из солей.

В ГФ дано описание нескольких методов определения температуры плавления. Выбор метода зависит от свойств веществ.

Большое значение имеет предварительная подготовка веществ к определению температуры плавления (измельчение, сушка, заполнение капилляра). Условия подготовки вещества зависят от его физических и химических свойств и регламентированы ГФ. Твердые вещества, легко превращаемые в порошок, тонко измельчают, сушат, если в частных статьях ГФ отсутствуют другие указания, при температуре 100 – 105 °С в течение двух часов или двадцать четыре часа над кислотой серной концентрированной в эксикаторе. Высушенным веществом плотно заполняют капилляр, запаянный с одного конца, многократно бросая его через стеклянную трубку длиной 50 см. Для предохранения вещества от увлажнения капилляр хранят в эксикаторе до начала определения, так как влага изменяет температуру плавления. Длина капилляра и его диаметр регламентированы ГФ.

Определение температуры плавления проводят в специальных приборах с программированным электрическим подогревом. Вносят капилляр в прибор для определения температуры плавления при температуре на 10 °С ниже, чем ожидаемая температура плавления. Затем скорость подъема температуры регулируют строго в соответствии с требованиями ГФ, которые зависят от величины показателя температуры плавления и указанные в общей фармакопейной статье.

За температуру плавления принимают среднее арифметическое значение из нескольких определений (не менее двух), различающихся не более чем на 1 °С.

Под температурными пределами перегонки (температурой кипения) считают интервал между температурой начала и конца кипения при нормальном давлении.

Определение температуры кипения можно проводить с целью идентификации (установив начальную температуру кипения микрометодом в приборе для определения температуры кипения) или определения подлинности и чистоты лекарственного вещества методом перегонки. При этом под начальной температурой понимают температуру, при которой в при-

емник перегнались первые 5 капель жидкости, под конечной – температурой, при которой в приемник перешло 95% жидкости. В соответствующей статье указан интервал, в котором должен находиться показатель температуры кипения. Более растянутый интервал свидетельствует о наличии примесей.

Определение проводят в приборе, состоящем из колбы для перегонки из термостойкого стекла с отводной трубкой, холодильника из термостойкого стекла, приемника (мерный цилиндр), укороченного термометра, источника нагрева. В качестве источников нагрева используют газовую горелку или электроплитку. Выбор источника нагрева зависит от свойств лекарственного вещества. Так, при перегонке эфира медицинского нельзя пользоваться газовой горелкой. Перед перегонкой эфир медицинский обязательно проверяют на содержание пероксидов, которые могут вызвать взрыв. При наличии пероксидов перегонку эфира проводить нельзя.

Для приведения определенных температурных пределов перегонки к нормальному давлению используют формулу:

$$T_{\text{испр.}} = T + K(P - P_1),$$

где T – наблюдаемая температура, °С;

P – нормальное барометрическое давление, мм. рт. ст.;

P_1 – барометрическое давление во время опыта, мм. рт. ст.;

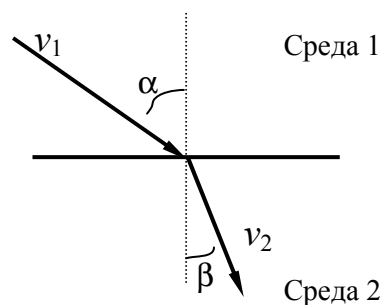
K – инкремент температуры кипения на миллиметр.

2. 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 (α) и преломления (β) – величина постоянная:

$$n = \frac{\sin \alpha}{\sin \beta} \quad (1)$$



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

$$n = \frac{v_1}{v_2} \quad (2)$$

Если «среда 1» является вакуумом, то v_1 – скорость света в вакууме ($\approx 3 \times 10^8$ 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 показатель преломления* вещества. Связь между абсолютным $n_{\text{абс}}$ и относительным $n_{\text{отн}}$ показателями преломления имеет вид:

$$n_{\text{абс}} = n_{\text{возд}} \times n_{\text{отн}}, \quad (3)$$

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 $n_{\text{отн}}$.

Показатель преломления зависит от следующих факторов:

- природы вещества;
- плотности вещества;
- концентрации вещества в растворе;
- температуры и давления, при которых проводится измерение (так как они влияют на плотность вещества);
- длины волны света.

Наиболее часто (но не всегда) определяют показатель преломления для D-линии спектра натрия (589,3 нм – среднее значение для дублета) при 20°C – n_D^{20} . При этом поддерживают температуру исследуемой пробы с помощью встроенного в рефрактометр термостата (зависимость показателя преломления от температуры рассмотрена ниже).

Из вышесказанного следует, что при прочих равных условиях показатель преломления раствора зависит от концентрации растворенного вещества (или веществ).

Прибором для измерения показателя преломления является *рефрактометр*. Мы не будем останавливаться на его устройстве и принципе работы, поскольку данная тема подробно рассматривается в курсе физики, и больше внимания уделим использованию рефрактометрии в фармацевтическом анализе.

Измеряют показатель преломления для различных целей:

- идентификация и оценка чистоты веществ;
- изучение взаимодействия и превращений компонентов химических систем (комплексобразование, диссоциация, фазовые превращения и др.);
- количественное определение.

В фармацевтическом анализе наибольшее значение приобрел количественный анализ растворов лекарственных веществ. С этой целью применяются рефрактометры, позволяющие определять показатель преломления с относительно высокой точностью: $n \pm 0,0001$.

!Примечание.

Рефрактометр – не единственный прибор, используемый для измерения показателя преломления. В некоторых случаях требуется более высокая точность и чувствительность анализа. Например, показатели преломления газов при обычных условиях близки к единице, отличаясь на несколько десятитысячных долей. Поэтому в газовом анализе используют интерферометры, принцип действия которых основан на интерференции света. Эти приборы позволяют измерять разности показателей преломления с точностью до $10^{-7} - 10^{-8}$, что используется, например, для определения содержания метана в рудничном воздухе (переносные «шахтные» интерферометры) и для исследования обмена веществ при дыхании.

Анализ жидких лекарственных форм, содержащих одно растворенное вещество

В данном разделе рассматривается рефрактометрический анализ двухкомпонентных систем, состоящих из растворителя и растворенного лекарственного вещества.

График зависимости показателя преломления от концентрации раствора может иметь различный вид. Если рассматривать весь диапазон возможных концентраций, то данная зависимость редко бывает линейной. Напротив, график часто имеет большую или меньшую кривизну, а иногда – максимумы или минимумы. Последнее означает, что *одному значению показателя преломления могут соответствовать две различные концентрации раствора*. Вместе с тем, *на участках с большой кривизной при значительных изменениях концентрации раствора показатель преломления может меняться не столь существенно, что снижает точность рефрактометрических определений*. Вышесказанное можно продемонстрировать на примере водных растворов этилового спирта (рис. 2). Из рисунка видно, что при концентрациях спирта от 0% до примерно 35% зависимость близка к линейной. При концентрациях более 60% показатель преломления

изменяется очень незначительно, а при содержании этанола около 80% наблюдается точка максимума, и при дальнейшем увеличении концентрации показатель преломления уменьшается. Важно отметить, что при содержании спирта 58% и выше (кроме точки максимума) одному показателю преломления соответствуют две различные концентрации спирта. Поэтому рефрактометрический анализ водно-спиртовых растворов с целью определения концентрации спирта проводят при содержании этанола до 50%, а более концентрированные растворы перед измерением показателя преломления разбавляют или анализируют по плотности (см. раздел «Рефрактометрический анализ спиртовых растворов»).



Рис. 1. График зависимости показателя преломления водных растворов этанола от концентрации (об. %).

На примере водно-спиртовых смесей видно, что наиболее точный 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. Продемонстрируем это на примере растворов натрия хлорида с концентрациями 10% и 0,9% в герметически укупоренных флаконах по 400 мл. В обоих случаях колебаниям показателя преломления $\pm 0,0001$ (максимальная точность измерения) соответствуют колебания концентрации примерно $\pm 0,06\%$. Но совершенно очевидно, что такие колебания имеют разное значение для 10% и 0,9%. В первом случае относительная погрешность определения концентрации

(или массы, что то же самое) $\bar{\varepsilon}$ % составляет 0,6%, во втором – 6,7%. Допустимое отклонение от прописанной массы для 400 мл 0,9% раствора (3,6 г) составляет 4%. Следовательно, относительная погрешность количественного определения 6,7% в данном случае неприемлема. Для 400 мл 10% раствора натрия хлорида относительная погрешность определения (0,6%) намного меньше допустимого отклонения от прописанной массы ($\pm 3\%$).

Конечно, можно было бы возразить, что для 0,9% раствора натрия хлорида в ампулах по 5 мл и 10 мл допустимое отклонение от прописанной массы (0,045 г и 0,09 г) составляет 15%, а поэтому кажется, что относительная погрешность количественного определения 6,7% вполне приемлема. Но ведь и точность определения показателя преломления в реальных условиях ниже, чем $\pm 0,0001$ (согласно ГФ она должна быть не ниже $\pm 0,0002$). Следовательно, относительная погрешность определения концентрации (массы) может оказаться в два раза выше – примерно 13,4%, что близко к допустимому отклонению 15% и чего при количественном анализе следует избегать.

Из вышесказанного следует один частный, но очень важный вывод: *изотонический раствор натрия хлорида 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.

ПРОПИСЬ 1 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 *эмпирического уравнения*, описывающего зависимость показателя преломления раствора от концентрации растворенного вещества (и наоборот). Согласно правилу аддитивности показателей преломления:

$$n = n_0 + n_x, \quad (4)$$

где:

n – показатель преломления раствора вещества X;

n_0 – показатель преломления растворителя

(для дистиллированной воды $n_D^{20} = 1,33299$ или $n_D^{20} \approx 1,3330$);

n_x – показатель преломления растворенного вещества X (точнее – приращение показателя преломления раствора, приходящееся на растворенное вещество).

То есть показатель преломления раствора складывается из показателей преломления растворителя и растворенного вещества. При этом n_x (а соответственно и n раствора в целом) зависит от концентрации. Если эта зависимость линейна, то искомое уравнение в общем случае имеет вид:

$$n = n_0 + F_x \times C_x, \quad (5)$$

где:

F_x – фактор показателя преломления вещества X – коэффициент

линейного уравнения, физический смысл которого заключается в том, что он равен величине прироста показателя преломления при увеличении концентрации на 1%; его размерность – $\%^{-1}$;

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:

$$C_x = \frac{n - n_0}{F_x} \quad (6)$$

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

$$m_x = \frac{n - n_0}{F_x} \times \frac{V_{\text{ПРЕПАРАТА}}}{100}, \quad (7)$$

где:

F_x - фактор показателя преломления для массообъемной концентрации;

100 – коэффициент, служащий для перевода концентрации из % (г/100 мл) в г/мл;

$V_{\text{ПРЕПАРАТА}}$ – общий объем препарата, мл.

Значение F находят для каждого конкретного вещества на основании экспериментальных данных (в случае линейной зависимости показателя преломления от концентрации строят калибровочные прямые и находят коэффициенты линейного уравнения по методу наименьших квадратов). Примером линейной зависимости показателя преломления раствора от массообъемной концентрации растворенного вещества могут служить водные растворы глюкозы (рис. 3). Для этого лекарственного вещества фактор показателя преломления для массообъемной концентрации $F=0,00142 \text{ \%}^{-1}$ и линейное уравнение имеет вид:

$$n = 1,3330 + 0,00142 \times C$$

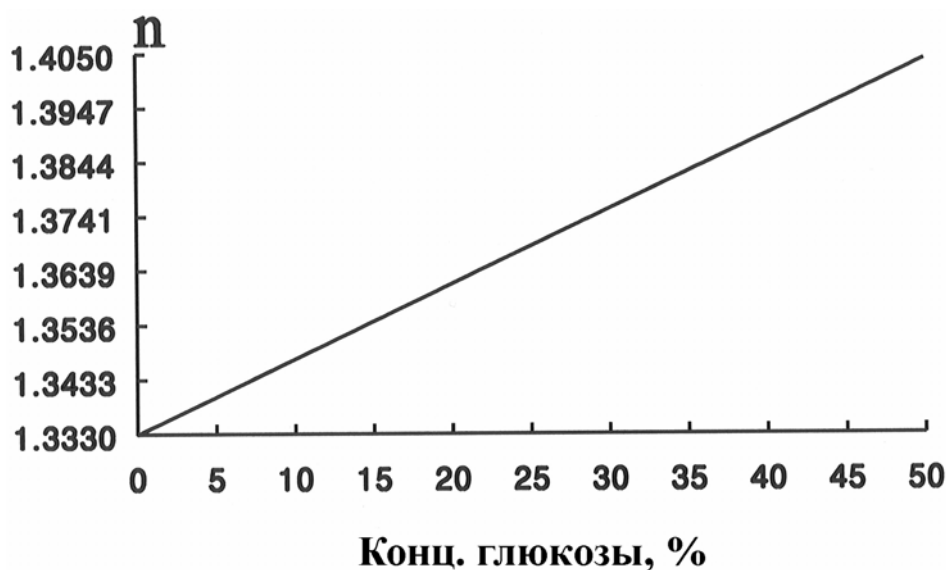


Рис. 2. График зависимости показателя преломления водных растворов глюкозы от массообъемной концентрации.

Правило аддитивности, выраженное формулой (4) и практически являющееся основой расчетной рефрактометрии, работает только в ограниченных пределах концентраций – обычно до 10 – 20%. Соответственно, для большинства лекарственных веществ во всем диапазоне концентраций зависимость n от C не линейна. Для описания такой зависимости можно использовать полиномы (многочлены), то есть уравнения общего вида:

$$n = n_0 + a_1C + a_2C^2 + \dots + a_kC^k, \quad (8)$$

где k – порядок полинома [полином первого порядка – это линейное уравнение (5)]. Примером нелинейной зависимости показателя преломления раствора от массовообъемной концентрации растворенного вещества являются водные растворы магния сульфата ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$) – рис. 4. В данном случае эта зависимость описывается уравнением:

$$n = 1,3330 + 0,00096 \times C - 2,8 \times 10^{-6} \times C^2$$

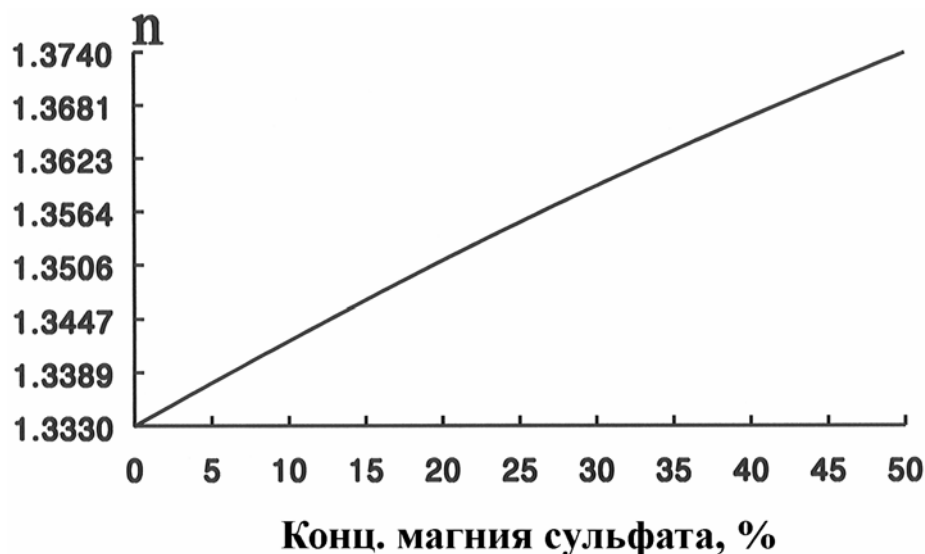


Рис. 3. График зависимости показателя преломления водных растворов магния сульфата ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$) от массовообъемной концентрации.

При большом значении k , то есть при достаточно большом числе членов, полиномы (8) могут хорошо описывать экспериментальные данные, однако их неудобно использовать для расчета концентрации. Поэтому было найдено следующее решение.

Очевидно, что при нелинейной функциональной зависимости фактор показателя преломления F меняется вместе с концентрацией. Учитывая

это, на основании экспериментальных данных по формуле (9) были рассчитаны значения F для конкретных концентраций и составлены соответствующие таблицы зависимости фактора показателя преломления F от концентрации для ряда веществ (см приложение).

$$F_i = \frac{n_i - n_0}{C_i} \quad (9)$$

Можно также найти уравнение зависимости фактора показателя преломления от концентрации раствора. Например, для водных растворов магния сульфата уравнение зависимости показателя преломления от массово-объемной концентрации (см. выше) можно записать в таком виде:

$$n = 1,3330 + (0,00096 - 2,8 \times 10^{-6} \times C) \times C$$

Из такой записи ясно, что зависимость фактора показателя преломления от массово-объемной концентрации водных растворов магния сульфата имеет вид:

$$F = 0,00096 - 2,8 \times 10^{-6} \times C$$

В любом случае для расчета C_x в формулу (6) подставляют то значение F , которое соответствует предполагаемой концентрации вещества X .

Рассчитаем концентрацию с использованием фактора F на примере прописи 1: *раствор 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 (6) рассчитываем концентрацию анализируемого раствора:

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

!Примечание.

Форма графика, описывающего зависимость показателя преломления от концентрации растворенного вещества в значительной степени определяется способом выражения состава раствора. Если в одной системе координат эта зависимость, например, линейна, то в другой могут наблюдаться значительные отклонения от аддитивности. Например, на рис. 5 изображены два графика, описывающие зависимость показателя преломления рас-

творов сахарозы от концентрации. Сплошной линией показан график для концентрации, выраженной в виде массовой доли, пунктирной – для массообъемной концентрации. В первом случае график имеет относительно большую кривизну, во втором случае зависимость практически линейна. Поэтому в рефрактометрических таблицах всегда указывается, какому способу выражения концентрации соответствуют приводимые показатели преломления и факторы показателей преломления.

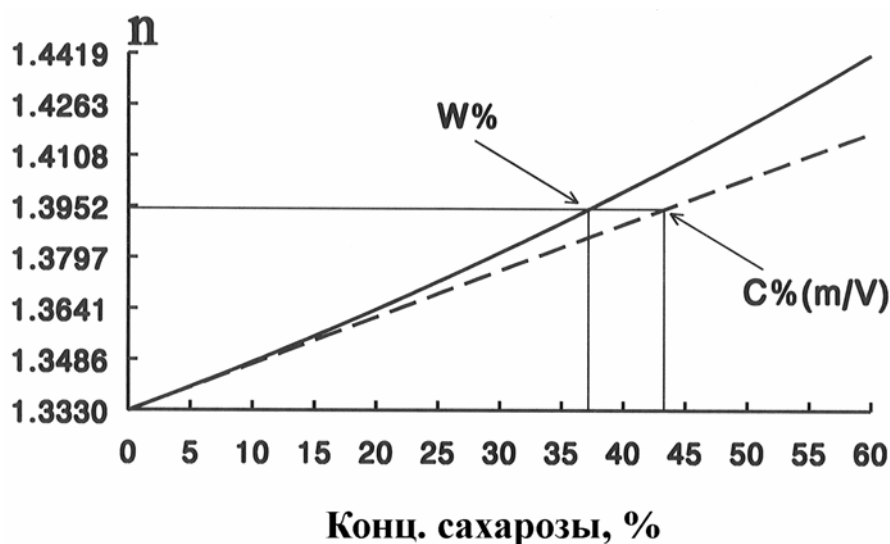


Рис. 4. Графики зависимости показателя преломления водных растворов сахарозы от массообъемной концентрации и от концентрации, выраженной в виде массовой доли.

Учет температуры.

Для жидкостей и газов при повышении температуры (t) величина показателя преломления уменьшается, при понижении – увеличивается. Эта зависимость в узком температурном интервале ($20^{\circ}\text{C} \pm 5^{\circ}\text{C}$) для разбавленных водных растворов приближенно описывается уравнением (10):

$$n^t \approx n^{20} + (20 - t) \times 0,0001, \quad (10)$$

где 0,0001 – температурный коэффициент dn/dt , $^{\circ}\text{C}^{-1}$.

Выражение (10) означает, что при изменении температуры на 1°C показатель преломления разбавленного водного раствора изменяется приблизительно на 0,0001.

Отсюда:

$$n^{20} \approx n^t - (20 - t) \times 0,0001 \quad (11).$$

Формулу (11) можно использовать вместо термостатирования исследуемой пробы.

На практике чаще применяют другой подход. Поскольку показатель преломления раствора складывается из показателей преломления растворителя и растворенного вещества [см. формулу (4)], то и температурный коэффициент раствора в целом (dn/dt) складывается из температурных коэффициентов растворителя (dn_0/dt) и растворенного вещества (dn_x/dt):

$$dn/dt = dn_0/dt + dn_x/dt \quad (12)$$

Однако температурный коэффициент показателя преломления твердых тел в десятки раз меньше, чем у жидкостей. Поэтому для растворов твердых лекарственных веществ величиной можно dn_x/dt пренебречь:

$$dn/dt \approx dn_0/dt \quad (13)$$

Из выражения (13) следует правило: *при колебаниях температуры (в пределах $20^\circ\text{C} \pm 5^\circ\text{C}$) показатели преломления растворителя и разбавленного раствора твердого лекарственного вещества изменяются практически на одну и ту же величину.* Это позволяет не термостатировать растворы, а *определять показатель преломления растворителя и исследуемого раствора при одной температуре* и использовать полученные значения в формуле (6) для расчета концентрации растворенного вещества. Поскольку это правило не распространяется на смеси жидкостей, то оно не может быть применено, например, к спирто-водным растворам при определении концентрации этанола (но может – при определении концентрации твердых веществ в спирте).

ПРОПИСЬ 2 Раствор глюкозы 10% - 100 мл.

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

Первый подход. По формуле (11) рассчитываем, что при 20°C 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, используя формулу (6), рассчитать 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 (6):

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

!Примечания.

1. Показатель преломления зависит от давления, поскольку оно влияет на плотность вещества. Однако у жидкостей и твердых тел, сжимаемость которых очень мала, увеличение давления даже на 1 атм. вызывает обычно повышение n на несколько единиц 10^{-5} . Для газов, напротив, влияние давления так же велико, как и температуры, и обязательно учитывается при измерениях показателя преломления.

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

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

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, чтобы удобнее было сопоставлять получаемые значения концентрации со значениями, приведенными в Государственной фармакопее (в ГФ допустимые пределы содержания глюкозы указаны в г/мл).

3. Ранее в примечаниях к рефрактометрическим таблицам указывалось, что при использовании в расчетах фактора показателя преломления безводной глюкозы (0,00142) для окончательного подсчета концентрации растворов глюкозы, *предназначенных для внутреннего употребления*, необходимо прибавить 10% к найденной по таблице концентрации. Это было связано с особенностями изготовления растворов глюкозы, применяемых *per os*: при расчете необходимого количества глюкозы не учитывали ее 10% влажность и получали концентрацию *водной* глюкозы, а реальная концентрация лекарственного вещества, определяемая каким-либо методом, оказывалась ниже. Однако с 1 января

1998 года приказом Минздрава РФ № 308 введена в действие новая «Инструкция по изготовлению в аптеках жидких лекарственных форм». Согласно этой инструкции все растворы глюкозы независимо от способа употребления готовятся с учетом 10% влажности. Это означает, что концентрация инъекционных растворов и растворов для внутреннего употребления – это концентрация *безводной* глюкозы и *никакие дополнительные расчеты при количественном определении вести не следует*.

Анализ многокомпонентных лекарственных препаратов

Анализ жидких лекарственных форм.

Рефракто-титриметрический анализ.

Рефрактометрический анализ смесей лекарственных веществ основывается на правиле аддитивности показателей преломления [сравните с уравнением (4)]:

$$n = n_0 + n_1 + n_2 \dots + n_i = n_0 + C_1 F_1 + C_2 F_2 \dots + C_i F_i \quad (14)$$

То есть показатель преломления раствора равен сумме показателей преломления всех его компонентов – растворителя и растворенных веществ. Из уравнения (14) можно вывести формулу для расчета концентрации одного из компонентов смеси:

$$C_1 = \frac{n - (n_0 + C_2 F_2 + \dots + C_i F_i)}{F_1} \quad (15)$$

При этом имеется в виду, что все остальные компоненты смеси определяются какими-либо другими методами, например титриметрически, и перед проведением расчета по формуле (15) все концентрации, кроме C_1 , уже известны.

Если содержание определяемого компонента в препарате необходимо получить в граммах (m_1), расчет ведут по формуле (16):

$$m_1 = \frac{n - (n_0 + C_2 F_2 + \dots + C_i F_i)}{F_1} \times \frac{V_{\text{ПРЕПАРАТА}}}{100}, \quad (16)$$

где: 100 – коэффициент, служащий для перевода концентрации из % (г/100 мл) в г/мл;

$V_{\text{ПРЕПАРАТА}}$ – общий объем препарата, мл.

ПРОПИСЬ 3 Натрия бромида 2,0
Магния сульфата 5,0
Раствора глюкозы 20% - 200,0 мл

В этом случае натрия бромид определяют методом аргентометрии (титрант – 0,1 н. раствор нитрата серебра, индикатор – бромфеноловый синий), магния сульфат – методом комплексонометрии (титрант – 0,05 М раствор трилона Б, индикатор – индикаторная смесь кислотного хром-черного специального). Глюкозу в присутствии натрия бромида целесообразно определить рефрактометрическим методом. Расчет содержания глюкозы в процентах ($C_{\text{ГЛК}}$) выполняют по формуле (15):

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

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.

Использование рефрактометрии при изготовлении и анализе раствора глицерина 10% для инъекций.

ПРОПИСЬ 4 Раствора глицерина 10% - 1000 мл
Состав. Глицерина 100,0 г (в пересчете на безводный)
Натрия хлорида 9,0 г
Воды для инъекций до 1 л.

1. *Изготовление.* От производителей поступает глицерин (высший сорт, динамитный) с количественным содержанием 86 – 90% и 94 – 98% и более. Поэтому, чтобы рассчитать количество исходного глицерина, необходимо точно знать, какова в нем массовая доля безводного вещества. С этой целью применяют рефрактометрию. Например, показателю преломления исходного глицерина $n=1,4569$ соответствует массовая доля безводного вещества 89% (или 0,89). Следовательно, количество исходного глицерина ($m_{\text{глиц.}}$, г), которое требуется для изготовления раствора по прописи 68, равно:

$$m_{\text{глиц.}} = 100 \text{ г} / 0,89 = 112,36 \text{ г}$$

2. *Количественное определение глицерина в растворе.*

Концентрацию глицерина в процентах вычисляют по формуле:

$$C_{\text{глиц.}} = [n - (n_0 + C_{\text{NaCl}} \times F_{\text{NaCl}})] / F_{\text{глиц.}}$$

Где n – показатель преломления раствора;

n_0 – показатель преломления воды очищенной, измеренный при той же температуре;

C_{NaCl} – концентрация натрия хлорида в растворе, определенная методом аргентометрии;

F_{NaCl} – фактор показателя преломления раствора натрия хлорида для найденной концентрации;

$F_{\text{глиц.}}$ – фактор показателя преломления 10% раствора глицерина (0,001156).

!Примечания.

1. Если для одного из веществ, входящих в раствор, фактор показателя преломления неизвестен или незначительная его концентрация не позволяет получить точных данных, то готовят контрольный раствор, содержащий это вещество в той концентрации, которая была определена титриметрическим методом. При расчетах показатель преломления контрольного раствора учитывают как показатель преломления растворителя n_0 .

2. Результаты определения лекарственных веществ в многокомпонентных препаратах рефрактометрическим методом зависят от того, насколько точно соблюдается правило аддитивности (14) показателей преломления. Если между компонентами раствора протекают реакции соле- и комплексообразования, показатель преломления смеси веществ не равен алгебраической сумме показателей преломления данных ве-

ществ в тех же концентрациях. Например, нельзя рефрактометрически определить ментол в меновазине, так как в спирто-водной среде аминогруппа анестезина взаимодействует с гидрохлоридом новокаина, и показатель преломления смеси будет меньше, чем алгебраическая сумма показателей преломления веществ в тех же концентрациях. Поэтому содержание ментола при расчете получается заниженным.

Рефракто-денсиметрический и рефракто-экстракционный методы

Бывают ситуации, когда титриметрический анализ не позволяет провести количественное определение одного из компонентов. Например, в случае раствора хлоридов натрия и калия можно оттитровать только сумму хлоридов и поэтому нельзя воспользоваться формулой (15). Но рефрактометрический анализ тройных систем, состоящих из растворителя и двух растворенных веществ, возможен и без предварительного количественного определения одного из них. Для решения такой задачи с двумя неизвестными требуется определение второго, помимо показателя преломления, параметра, характеризующего состав системы. Чаще других для анализа тройных систем применяется ***рефракто-денсиметрический метод***, заключающийся в измерении показателя преломления и плотности раствора. Суть данного подхода состоит в следующем. Одному показателю преломления может соответствовать бесконечно большое множество соотношений двух растворенных веществ. То же самое можно сказать и о плотности. Но одному показателю преломления и одной плотности (для того же раствора) соответствует только одна концентрация каждого из двух растворенных веществ.

Определение состава рефракто-денсиметрическим методом обычно проводится графическим путем. Для этого готовят большое количество тройных смесей точно известного состава и измеряют их показатели преломления и плотности. Затем строят треугольную диаграмму с сеткой изорефракты и изоденсы (линии равных показателей преломления и линии равной плотности). Для определения состава исследуемого раствора находят точку пересечения изорефракты и изоденсы, отвечающую показателю преломления и плотности смеси. На рис. 6 в уменьшенном виде показана такая диаграмма для анализа тройных смесей этилового и метилового спиртов с водой.

Например, плотности 0,880 и показателю преломления 95,0 (условные деления шкалы рефрактометра) соответствует точка пересечения изоденсы 0,88 и изорефракты 95,0, отвечающая составу 34% воды, 60% этанола и 6% метанола.

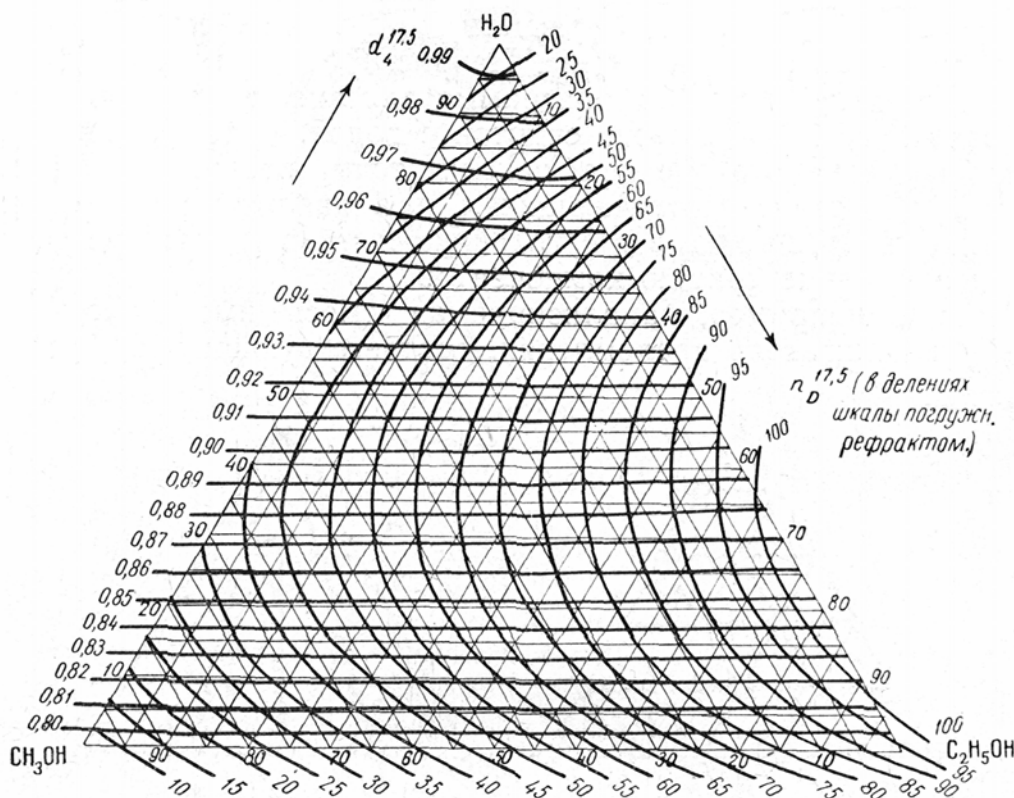


Рис. 5. Диаграмма для рефракто-денсиметрического анализа тройной системы этиловый спирт – метиловый спирт – вода.

В настоящее время при массовом использовании вычислительной техники необходимость в таких графических расчетах и связанной с ними длительной подготовительной работе отпадает, так как подобные задачи сводятся к решению систем нелинейных уравнений (например кубических или квадратных).

Рефракто-денсиметрический метод был предложен еще в 1843 году для определения содержания экстрактивных веществ и спирта в пиве. Некоторое неудобство данного метода заключается в необходимости располагать сравнительно большим количеством анализируемой смеси для точного определения плотности.

В рефракто-экстракционном методе один из компонентов количественно удаляется подходящим растворителем, и задача сводится к простому случаю рефрактометрического анализа раствора, содержащего одно растворенное лекарственное вещество. Применимость этого способа ограничивается трудностью подбора соответствующего селективного растворителя.

ПРОПИСЬ 5 Амидопирин 4,0
Натрия салицилата 6,0
Воды очищенной до 200 мл

Амидопирин можно экстрагировать хлороформом, а в водном растворе останется только натрия салицилат. Измерив показатели преломления исходного раствора и водного слоя после экстракции амидопирин, можно определить оба ингредиента. При этом учитывают поправку на растворимость хлороформа в воде. Для проведения экстракции 0,3 – 0,5 мл исследуемого раствора вносят в маленькую пробирку с притертой пробкой, прибавляют равный объем хлороформа и встряхивают в течение 2 – 3 мин. После отстаивания (или центрифугирования) отбирают сухой пипеткой несколько капель водного слоя и измеряют показатель преломления.

Концентрацию натрия салицилата $C_{САЛ}$ в препарате рассчитывают по формуле:

$$C_{САЛ} = \frac{n_1 - (n_0 + 0,0005)}{F_{САЛ}},$$

где:

n_1 – показатель преломления водного слоя после экстракции;

n_0 – показатель преломления воды очищенной, измеренный при той же температуре;

0,0005 – поправка показателя преломления на растворимость хлороформа в воде;

$F_{САЛ}$ – фактор показателя преломления 3% раствора натрия салицилата (0,00201).

Концентрацию амидопирин $C_{АМИД}$ в препарате рассчитывают по формуле (15):

$$C_{АМИД} = \frac{n - n_0 - C_{САЛ} \times F_{САЛ}}{F_{АМИД}},$$

где:

n – показатель преломления раствора до проведения экстракции;

n_0 – показатель преломления воды очищенной при той же температуре;

$F_{АМИД}$ – фактор показателя преломления раствора амидопирин (0,00225).

Анализ порошков

Анализ порошков, состоящих из нескольких веществ, также возможен с помощью метода рефрактометрии. Перед измерением показателя преломления точную навеску сложного порошка растворяют в мерном цилиндре в определенном объеме подходящего растворителя. *При этом массу порошка и объем растворителя подбирают таким образом, чтобы концентрация определяемого рефрактометрическим методом ингредиента в полученном растворе была не менее 3%. Исключение составляет рефрактометрический анализ многокомпонентных порошков с решением системы линейных уравнений: массу порошка и объем растворителя подбирают таким образом, чтобы концентрация **каждого** из определяемых рефрактометрическим методом ингредиентов в полученном растворе была не менее 4 – 5%.*

Возможны два варианта рефрактометрического анализа порошков:

1. Все ингредиенты смеси полностью растворимы в одном растворителе.
2. Компоненты сложного порошка растворяются в разных растворителях.

Все компоненты порошка растворимы в одном растворителе

Количественное определение в данном случае можно вести в нескольких направлениях:

- рефракто-титриметрический анализ;
- рефрактометрический анализ двухкомпонентных порошков путем решения системы линейных уравнений с двумя неизвестными;
- анализ порошков, состоящих из трех и более компонентов, из которых все вещества определяются титриметрически, кроме двух, определяемых рефрактометрически путем решения системы линейных уравнений с двумя неизвестными.

Рефракто-титриметрический анализ сложных порошков.

Расчетная формула аналогична уравнениям (15) и (16).

ПРОПИСЬ 6 Кофеина-бензоата натрия 0,1 Анальгина 0,3

Навеску порошка 0,2 г растворяют в воде очищенной и доводят объем раствора до 4,0 мл (предполагаемая концентрация анальгина 3,75%). Для определения кофеина-бензоата натрия 2,0 мл полученного раствора титруют 0,1 н раствором хлористоводородной кислоты в присутствии 5 мл

эфира до розовой окраски водного слоя (индикатор – метиловый оранжевый). Допустим, что содержание кофеина-бензоата натрия в навеске 0,2 г – 0,0495 г (0,099 г в порошке) и соответственно его концентрация в растворе 1,24%.

Показатель преломления раствора, измеренный при 20°C – 1,3424. Фактор показателя преломления кофеина-бензоата натрия 0,00192, анальгина – 0,00194. Тогда содержание анальгина в порошке равно:

$$m_{\text{ан}} = \frac{(1,3424 - 1,3330 - 1,24 \times 0,00192) \times 4,0 \times 0,4}{0,00194 \times 100 \times 0,2} = 0,289 \text{ [г]}.$$

Рефрактометрический анализ двухкомпонентных порошков с решением системы линейных уравнений.

Как мы уже указывали (см. рефракто-денсиметрический метод выше), бывают ситуации, когда титриметрический анализ не позволяет провести количественное определение одного из веществ двухкомпонентной системы. В таком случае необходимо решить задачу с двумя неизвестными, в которой требуется определение второго, помимо показателя преломления, параметра, характеризующего состав системы. Для растворов лекарственных веществ в качестве второго параметра может выступать плотность раствора (рефракто-денсиметрический анализ). Если же речь идет об анализе двухкомпонентного порошка, то задача упрощается. Поскольку перед измерением показателя преломления растворяют точную навеску порошка в определенном объеме растворителя, то известна суммарная концентрация веществ, входящих в состав сложного порошка. И эту общую концентрацию C_{Σ} можно использовать в качестве второго условия в системе линейных уравнений:

$$\begin{cases} n = n_0 + C_1 \times F_1 + C_2 \times F_2 \\ C_1 + C_2 = C_{\Sigma} \end{cases}$$

Решим систему методом подстановки.

Выразим концентрацию C_2 через C_1 и C_{Σ} :

$$C_2 = C_{\Sigma} - C_1$$

Тогда:

$$\begin{aligned}n &= n_0 + C_1 \times F_1 + (C_\Sigma - C_1) \times F_2 \\n &= n_0 + C_1 \times F_1 + C_\Sigma \times F_2 - C_1 \times F_2 \\n - n_0 - C_\Sigma \times F_2 &= C_1 \times F_1 - C_1 \times F_2 \\n - n_0 - C_\Sigma \times F_2 &= C_1 \times (F_1 - F_2)\end{aligned}$$

$$C_1 = \frac{n - n_0 - C_\Sigma \times F_2}{F_1 - F_2} \quad (17)$$

Формула для C_2 выводится аналогично:

$$C_2 = \frac{n - n_0 - C_\Sigma \times F_1}{F_2 - F_1} \quad (18)$$

Однако C_2 проще посчитать по формуле: $C_2 = C_\Sigma - C_1$

ПРОПИСЬ 7 Кислоты аскорбиновой 0,1 Глюкозы 0,4

Навеску порошка 0,4 г растворяют в воде очищенной и доводят объем раствора до 2,0 мл. Предполагаемая концентрация кислоты аскорбиновой 4%, глюкозы – 16%; общая концентрация раствора 20%. Показатель преломления раствора, измеренный при 20°C – 1,3598. Фактор показателя преломления раствора глюкозы 0,00128 (см. примечание 3 ниже), а кислоты аскорбиновой – 0,00159. Рассчитываем концентрацию кислоты аскорбиновой ($C_{АСК}$):

$$C_{АСК} = \frac{1,3598 - 1,3330 - 20 \times 0,00128}{0,00159 - 0,00128} = 3,87\%$$

Соответственно масса кислоты аскорбиновой ($m_{АСК}$) в порошке:

$$m_{АСК} = \frac{3,87\% \times 2,0 \times 0,5}{100 \times 0,4} = 0,097 \text{ [г]}$$

Концентрация глюкозы в растворе $20\% - 3,87\% = 16,13\%$, а ее масса ($m_{ГЛК}$) в порошке:

$$m_{ГЛК} = \frac{16,13\% \times 2,0 \times 0,5}{100 \times 0,4} = 0,403 \text{ [г]}.$$

Рефрактометрический анализ порошков, состоящих из трех и более компонентов, с решением системы линейных уравнений.

При анализе таких порошков все вещества, кроме двух, определяются титриметрическим методом. Оставшиеся два вещества определяют рефрактометрически с решением системы линейных уравнений.

ПРОПИСЬ 8 Антигриппин для взрослых

Состав:

Анальгина 0,5

Димедрола 0,02

Кислоты аскорбиновой 0,3

Глюкозы 0,2

Димедрол экстрагируют из порошка в хлороформ, органический слой отделяют, прибавляют к нему воду очищенную и определяют димедрол алкалиметрически (индикатор – фенолфталеин). В оставшейся после экстракции навеске определяют кислоту аскорбиновую алкалиметрически с тем же индикатором. Отдельную навеску порошка (содержащую все 4 компонента) массой 0,5 г растворяют в 1 мл воды очищенной и доводят объем до 2,0 мл. Предполагаемая концентрация анальгина 12,26%, глюкозы – 4,9%; общая концентрация веществ – 25%. Измеряют показатель преломления полученного раствора. Система уравнений в данном случае будет выглядеть следующим образом:

$$\begin{cases} n = n_0 + C_{ГЛК} \times F_{ГЛК} + C_{АН} F_{АН} + C_{ДИМ} \times F_{ДИМ} + C_{АСК} \times F_{АСК} \\ C_{ГЛК} + C_{АН} + C_{ДИМ} + C_{АСК} = C_{\Sigma} \end{cases}$$

В данной системе нам неизвестны только $C_{ГЛК}$ и $C_{АН}$. Решая систему методом подстановки, получаем формулу для расчета концентрации глюкозы:

$$C_{ГЛК} = \frac{n - n_0 - F_{АН} \times (C_{\Sigma} - C_{ДИМ} - C_{АСК}) - C_{ДИМ} F_{ДИМ} - C_{АСК} F_{АСК}}{F_{ГЛК} - F_{АН}} \quad (19)$$

Умножив числитель на 2,0 (объем приготовленного для рефрактометрии раствора), а знаменатель на 100, получим массу глюкозы в навеске порошка 0,5 г.

Для расчета концентрации анальгина можно вывести аналогичную формулу или поступить проще: $C_{АН} = C_{\Sigma} - C_{ГЛК} - C_{ДИМ} - C_{АСК}$.

!Примечания.

1. При расчете по формулам (99), (100) и (101) мы заранее не знаем значений факторов показателей преломления двух определяемых рефрактометрически веществ, а поэтому используем факторы, соответствующие прописанным количествам. Однако если прописанная и реальная концентрации (массы) существенно различаются (например в случае грубой ошибки, допущенной при изготовлении препарата), результат расчета окажется неверным. В этом случае можно применить метод последовательного приближения: вычисления повторяют с использованием факторов, которые соответствуют концентрациям, полученным после первого расчета.

Если же рефрактометрически определяется одно вещество, то метод последовательного приближения не имеет смысла использовать: даже если прописанная и реальная концентрации не совпадают, то однократное входжение фактора показателя преломления этого вещества в расчетную формулу будет исказить результат не больше, чем погрешность самого метода рефрактометрии.

2. Следует иметь в виду, что все вышеприведенные системы уравнений имеют решение только в том случае, если факторы показателей преломления двух определяемых веществ численно различаются (иначе в знаменателе окажется нуль). Однако даже если эта разница есть, но она очень незначительна (например 0,00194 и 0,00192), рассчитанное значение может в несколько раз отличаться от реальной концентрации (массы) вещества. *В общем случае разность между факторами показателей преломления двух веществ должна составлять не менее 0,0002.*

3. Для расчета массы глюкозы в порошке в формулу необходимо подставлять значение фактора показателя преломления для водной глюкозы (0,00128), либо использовать фактор для безводной глюкозы, но полученный результат умножать на 1,11. Это связано с тем, что в прописи порошка указывается масса водной глюкозы. Еще раз обращаем внимание на то, что для растворов глюкозы такую операцию не проводим, так как в лекарственной форме «раствор» концентрация глюкозы – это концентрация безводной глюкозы.

Компоненты сложного порошка растворяются в разных растворителях.

В этом случае применяется рефракто-экстракционный анализ (см. рефракто-экстракционный метод выше), только речь идет о твердожидкостной экстракции. Например, для анализа лекарственных веществ, хорошо растворимых в 95% этаноле, в смеси с компонентами, не растворяющимися

в данном растворителе, точную навеску порошка растворяют в определенном объеме спирта. Концентрация спирта должна быть не ниже 95%, так как вода способствует частичному растворению сопутствующих водорастворимых веществ.

Для отделения нерастворившихся веществ нельзя использовать фильтр, так как при этом улетучивается растворитель и нарушается концентрация анализируемого вещества. Поэтому кончик пипетки необходимо плотно обернуть кусочком ваты, набрать в нее спиртовой раствор и, сняв ватку, нанести прозрачный раствор на призму рефрактометра.

Водорастворимые вещества в присутствии нерастворимых в воде компонентов порошка можно определить аналогичным образом.

ПРОПИСЬ 9 **Бромкамфоры 0,3** **Глюкозы 0,5**

В пенициллиновую склянку вносят 0,4 г порошка, добавляют 3,0 мл 95% этанола, закрывают ее пробкой и взбалтывают в течение 1 мин. Отбирают, как указано выше, полученный раствор и измеряют его показатель преломления. Содержание бромкамфоры $m_{БК}$ в препарате рассчитывают по формуле:

$$m_{БК} = \frac{(n - n_0)}{F_{БК}} \times \frac{V_{Р-ль} \times m_{ОБЩ}}{100 \times m_{АНАЛИЗ}} \text{ [Г]},$$

где:

n – показатель преломления полученного спиртового раствора бромкамфоры;

n_0 – показатель преломления 95% этанола, измеренный при той же температуре;

$F_{БК}$ – фактор показателя преломления 5% раствора бромкамфоры (0,00107);

$V_{Р-ль}$ – объем взятого растворителя – этанола (3,0 мл);

$m_{ОБЩ}$ – общая масса препарата (0,8 г);

$m_{АНАЛИЗ}$ – масса порошка, взятая для анализа (0,4 г).

В данном примере навеску порошка растворили в определенном объеме растворителя, следовательно, процентная концентрация вещества будет не массообъемная (г/100 мл раствора), а выразаться в граммах на объем растворителя (г/100 мл растворителя), и для спиртовых растворов в этом случае используют соответствующие факторы показателей преломления (см. приложение).

К 0,2 г порошка прибавляют 2 мл воды очищенной, взбалтывают в течение 1 мин, доводят объем раствора до 4,0 мл и фильтруют. Определяют показатель преломления фильтрата. Содержание глюкозы $m_{ГЛК}$ в препарате рассчитывают по аналогичной формуле:

$$m_{ГЛК} = \frac{(n - n_0)}{F_{ГЛК}} \times \frac{V_{Р-Р} \times m_{ОБЩ}}{100 \times m_{АНАЛИЗ}} \text{ [г]},$$

где:

n – показатель преломления полученного водного раствора глюкозы;

n_0 – показатель преломления воды очищенной, измеренный при той же температуре;

$F_{ГЛК}$ – фактор показателя преломления водной глюкозы (0,00128);

$V_{Р-Р}$ – объем полученного раствора глюкозы (4,0 мл).

$m_{ОБЩ}$ – общая масса препарата (0,8 г);

$m_{АНАЛИЗ}$ – масса порошка, взятая для анализа (0,2 г).

Рефрактометрический анализ спиртовых растворов

Рефрактометрический анализ спиртовых растворов имеет ряд особенностей, требующих специального рассмотрения.

При исследовании спиртовых растворов на призму рефрактометра рекомендуется наносить не менее 4 – 5 капель смеси. Вследствие летучести спирта анализ следует проводить быстро, а освещение призмы включать лишь в момент снятия показателя преломления.

Если исследование проводится не при 20°C, следует вносить поправку на температуру. Соответствующие величины температурных коэффициентов спирто-водных растворов на 1°C приведены в приложении. Температурная поправка равна произведению температурного коэффициента на величину отклонения от 20°C. *Если определение проводится при температуре выше 20°C, то поправку прибавляют к измеренной величине показателя преломления, если ниже 20°C – поправку вычитают.* (Примеры использования поправки – см. ниже.)

Анализ спирто-водных растворов может осуществляться в двух вариантах:

1. Определение концентрации лекарственных веществ в спирто-водном растворе. Если растворено одно вещество, то расчет ведут по формуле (6), если несколько – применяют рефракто-титриметрический анализ [расчет

ведут по формуле (15)] или используют рефракто-денсиметрический анализ.

2. Рефрактометрическое определение концентрации спирта (содержание других ингредиентов определяют химическими методами).

Определение концентрации лекарственных веществ в спиртовых растворах.

Количественное определение лекарственных веществ в спиртовых растворах целесообразно проводить методом рефрактометрии в тех случаях, когда титриметрический анализ осуществить затруднительно.

В прописях рецептов на спиртовые растворы концентрация лекарственного вещества может быть указана несколькими способами:

- раздельным перечислением массы лекарственного вещества и объема спирта определенной концентрации, например:

*Rp.: Mentholi 1,0
Spiritus aethylici 90% - 50,0 ml;*

- с указанием спирта до заданного объема, например:

*Rp.: Acidi borici 1,5
Spiritus aethylici 70% ad 50,0 ml;*

- с указанием концентрации лекарственного вещества и объема спиртового раствора, например:

Rp.: Solutionis Novocaini spirituosae 6% - 10 ml.

Если используется первый способ, то согласно «Инструкции по изготовлению в аптеках жидких лекарственных форм», утвержденной приказом Минздрава РФ № 308, при изготовлении спиртовых растворов не уменьшают указанный в рецепте объем спирта на величину его прироста при растворении лекарственного вещества. Концентрацию лекарственного вещества (C_x) в данном случае можно выразить в граммах на 100 мл растворителя:

$$C_x = \frac{m_x}{V_{\text{СПИРТ}}} \times 100\%, \quad (20)$$

где:

C_x – концентрация лекарственного вещества, %;

m_x – указанная в рецепте масса лекарственного вещества;

$V_{\text{СПИРТ}}$ – указанный в рецепте объем спирта.

Обратите внимание, что это не обычная массообъемная концентрация, так как в знаменателе стоит объем растворителя, а не объем раствора (см. выше рефрактометрический анализ порошков с использованием экстракции 95% спиртом).

Если используются два других способа выписывания спиртовых растворов, то при их изготовлении учитывают прирост объема при растворении лекарственных веществ. Поэтому концентрация лекарственных веществ в данном случае является массообъемной, то есть выражается в граммах на 100 мл раствора.

В приложении приводится рефрактометрическая таблица, в которой указаны факторы показателей преломления растворов лекарственных веществ, приготовленных на 95% спирте; концентрация лекарственных веществ выражена в граммах на 100 мл растворителя. Поэтому при расчетах необходимо массообъемную концентрацию лекарственных веществ привести к той, которая используется в данной таблице.

ПРОПИСЬ 10 Кислоты салициловой 1,0
Ментола 2,0
Спирта этилового 95% до 50,0 мл

Для количественного определения кислоты салициловой 1 мл раствора титруют 0,1 н. раствором натрия гидроксида до появления розового окрашивания (индикатор – фенолфталеин).

Определение ментола в препарате проводят методом рефрактометрии. Содержание ментола в граммах ($m_{\text{МЕНТОЛ}}$) вычисляют по формуле:

$$m_{\text{МЕНТОЛ}} = \frac{n - n_0 - C_{\text{САЛ}} \times F_{\text{САЛ}}}{F_{\text{МЕНТОЛ}}} \times \frac{V_{\text{Р-ЛЬ}}}{100},$$

где:

n – показатель преломления анализируемого раствора;

n_0 – показатель преломления 95% этилового спирта, измеренный при той же температуре;

$C_{\text{САЛ}}$ – концентрация салициловой кислоты, определенная титриметрически и выраженная в г/100мл растворителя;

$F_{\text{САЛ}}$ – фактор показателя преломления спиртового раствора кислоты салициловой для найденной концентрации;

$F_{\text{МЕНТОЛ}}$ – фактор показателя преломления спиртового раствора ментола;

$V_{\text{Р-ЛЬ}}$ – объем растворителя – 95% спирта (не объем раствора!).

Допустим, методом титрования было определено, что содержание кислоты салициловой в препарате 1,01 г. Рассчитаем концентрации лекарственных веществ в г/100 мл растворителя. Коэффициент увеличения объема для кислоты салициловой 0,77 мл/г, для ментола – 1,10 мл/г. Объем 95% спирта, вытесняемый этими лекарственными веществами при растворении равен:

$$0,77 \text{ мл/г} \times 1,01 \text{ г} + 1,10 \text{ мл/г} \times 2,0 \text{ г} = 2,98 \text{ мл.}$$

Следовательно, для получения 50 мл раствора было израсходовано спирта:

$$V_{\text{Р-ЛЬ}} = 50 \text{ мл} - 2,98 \text{ мл} = 47,02 \text{ мл.}$$

По формуле (102) рассчитываем концентрацию кислоты салициловой $C_{\text{САЛ}}$ и предполагаемую концентрацию ментола $C_{\text{МЕНТОЛ}}$:

$$C_{\text{САЛ}} = \frac{1,01}{47,02} \times 100\% = 2,15\% \text{ (2,15 г / 100 мл спирта);}$$

$$C_{\text{МЕНТОЛ}} = \frac{2,0}{47,02} \times 100\% = 4,25\% \text{ (4,25 г / 100 мл спирта).}$$

По рефрактометрической таблице находим, что фактор показателя преломления для 2,15% спиртового раствора кислоты салициловой 0,00158, а для 4,25% спиртового раствора ментола – 0,001112.

Показатель преломления исследуемого спиртового раствора $n=1,3411$. Тогда масса ментола ($m_{\text{МЕНТОЛ}}$) равна:

$$m_{\text{МЕНТОЛ}} = \frac{1,3411 - 1,3330 - 2,15 \times 0,00158}{0,001112} \times \frac{47,02}{100} = 1,99 \text{ [г].}$$

Определение концентрации спирта в спирто-водных растворах

ПРОПИСЬ 11 Спирта этилового 40% - 10 мл

Показатель преломления, измеренный при 23°C – 1,3542.

Рассчитываем температурную поправку. В рефрактометрической таблице (см. приложение) находим, что температурный коэффициент для показателя преломления 1,35500 (наиболее близкое значение к измеренному n) равен $2,4 \times 10^{-4}$ (0,00024). Отсюда, температурная поправка равна:

$$\Delta n = 0,00024 \times (23^\circ\text{C} - 20^\circ\text{C}) = 0,00072.$$

Тогда показатель преломления раствора, приведенный к 20°C , равен:

$$n^{20} = n^{23} + \Delta n = 1,3542 + 0,00072 = 1,35492.$$

Теперь по рефрактометрической таблице необходимо определить, какая концентрация спирта соответствует рассчитанному показателю преломления. Значение 1,35492 в таблице отсутствует; наиболее близкая величина – 1,35500 – соответствует концентрации 40%. Требуется найти, какая концентрация спирта соответствует разности показателей преломления:

$$1,35500 - 1,35492 = 0,00008$$

В той же таблице находим, что для показателя преломления 1,35500 поправка на 1% спирта равна $4,0 \times 10^{-4}$ (0,00040). Следовательно, если при изменении показателя преломления на 0,00040 концентрация изменяется на 1%, то изменение показателя преломления на 0,00008 соответствует изменению концентрации:

$$0,00008 / 0,00040 = 0,2\%.$$

Таким образом, содержание спирта (об %) в анализируемом растворе:

$$40\% - 0,2\% = 39,8\%.$$

Как мы ранее указывали, рефрактометрический анализ водно-спиртовых растворов с целью определения концентрации спирта проводят при содержании этанола до 50%, а более концентрированные растворы перед измерением показателя преломления разбавляют. При этом пользуются следующими правилами.

При анализе 70% этанола разбавление производят в соотношении 1:2 (1 мл спирто-водного раствора + 2 мл воды очищенной), 95% – 1:3 (1 мл спирто-водного раствора + 3 мл воды очищенной). Исключением являются растворы кислоты салициловой, приготовленные на 70% спирте: их разводят 2:1 (2 мл спиртового раствора + 1 мл воды очищенной) вследствие ограниченной растворимости салициловой кислоты в воде. Затем найденное значение концентрации для разведенного раствора необходимо умножить на коэффициент разведения, чтобы получить концентрацию этанола в исходном растворе. Однако необходимо учитывать, что при смешивании

спирта с водой общий объем раствора уменьшается. Поэтому при расчете используют следующие коэффициенты разведения:

- при смешивании 1:2 умножают на 2,98 (вместо 3);
- при смешивании 1:3 умножают на 3,93 (вместо 4);
- при смешивании 2:1 умножают на 1,47 (вместо 1,5).

ПРОПИСЬ 12 Спирта этилового 70% – 10 мл

После разведения 1:2 показатель преломления, измеренный при 20°C – 1,3461. По рефрактометрической таблице (см. приложение) находим, что наиболее близкому значению 1,34635 соответствует концентрация этанола 24%. Поправка на 1% равна 0,00062. Рассчитываем концентрацию спирта:

$$24 - (1,34635 - 1,3461)/0,00062 = 23,6\%$$

Чтобы узнать исходную концентрацию спирта, умножаем полученное значение на коэффициент разведения:

$$23,6\% \times 2,98 = 70,3\%$$

Если необходимо определить концентрацию спирта в спиртовом растворе лекарственного вещества, то следует учесть величину показателя преломления, приходящуюся на содержание растворенного вещества (или нескольких веществ).

ПРОПИСЬ 13 Кислоты салициловой 0,2 Спирта этилового 70% до 10 мл

После разведения 2:1 показатель преломления, измеренный при 20°C – 1,3598. В приложении приведены значения поправок показателей преломления на содержание салициловой кислоты в разбавленном (2:1) водно-спиртовом растворе. Для 2% раствора поправка равна 0,00188. Тогда показатель преломления собственно растворителя (спирта) равен:

$$1,3598 - 0,00188 = 1,35792.$$

По рефрактометрической таблице (см. приложение) находим, что наиболее близкому значению показателя преломления 1,35700 соответствует концентрация спирта 45%. Поправка на 1% равна 0,0004. Рассчитываем концентрацию этанола:

$$45 + (1,35792 - 1,35700)/0,0004 = 47,3\%.$$

Тогда содержание спирта в исходном растворе равно:

$$47,3 \times 1,47 = 69,5\%.$$

Если при количественном определении растворенных в спирте веществ найдено их меньшее или большее количество, чем по прописи, то поправку для 1% растворенного вещества умножают на фактически найденное процентное содержание. Например, если бы в вышеприведенном примере содержание салициловой кислоты оказалось 1,9%, то поправка на ее содержание была бы равна:

$$0,00094 \times 1,9 = 0,001786 \text{ (вместо } 0,00188).$$

Для определения концентрации спирта в настойках также можно использовать рефрактометрию, но в настоящее время такой анализ проводят методами перегонки или определения температуры кипения.

3. Поляриметрия

Оптическое вращение – способность вещества вращать плоскость поляризации при прохождении через него поляризованного света.

В зависимости от природы оптически активного вещества вращение после плоскости поляризации может иметь различные направление и величину. Если плоскость поляризации вращается по часовой стрелке, то вещество называют правовращающим и перед его названием ставят знак +, если против часовой стрелки, то вещество называют левовращающим и обозначают знаком –.

Величину отклонения плоскости поляризации от начального положения, выраженную в угловых градусах, называют углом вращения и обозначают греческой буквой α . Величина угла вращения зависит от природы оптически активного вещества, длины пути поляризованного света в оптически активной среде и длины волны света. Для растворов величина угла вращения зависит от природы растворителя и концентрации оптически активного вещества. Величина угла вращения прямо пропорциональна толщине слоя оптически активного вещества или его раствора. Влияние температуры в большинстве случаев незначительно.

Для сравнительной оценки способности различных веществ вращать плоскость поляризации света вычисляют величину удельного вращения

$[\alpha]$. Удельное вращение – это константа оптически активного вещества. Удельное вращение $[\alpha]$ определяют расчетным путем как угол поворота плоскости поляризации монохроматического света на пути длиной 1 дм в среде, содержащей оптически активное вещество, при условном приведении концентрации этого вещества к значению, равному 1 г/мл.

При отсутствии специальных указаний определение оптического вращения проводят при температуре 20 °С при дине волны линии D спектра натрия (589,3 нм).

При определении $[\alpha]$ в растворах оптически активного вещества его величина может зависеть от природы растворителя и концентрации вещества. Замена растворителя может привести к изменению $[\alpha]$ не только по величине, но и по знаку. Поэтому в ГФ приводится величина удельного вращения и указываются растворитель и концентрация раствора.

Величину удельного вращения рассчитывают по одной из следующих формул:

$$[\alpha] = \frac{\alpha \cdot 100}{l \cdot C}$$

где α – измеренный угол вращения, градусы;

l – толщина слоя, дм;

C – концентрация раствора, г/100 мл.

Для жидких веществ:

$$[\alpha] = \frac{\alpha}{l \cdot \rho}$$

где α и l – см. выше;

ρ – плотность жидкого вещества, г/мл.

Измерение величины угла вращения проводят или для оценки чистоты оптически активного вещества, или для определения его концентрации в растворе. Для оценки чистоты вещества рассчитывают величину его удельного вращения. Концентрацию оптически активного вещества в растворе находят по формуле:

$$C = \frac{\alpha \cdot 100}{l \cdot [\alpha]}$$

Величина $[\alpha]$ постоянна только в определенном интервале концентраций. Поэтому возможность использования данной формулы ограничивается этим интервалом.

Измерение угла вращения проводят на поляриметре, позволяющем определить величину угла вращения с точностью $\pm 0,02^\circ$.

Примером оценки качества лекарственных средств по величине удельного вращения являются соли хинина (удельное вращение 3% раствора хинина гидрохлорида в 0,1 М растворе кислоты хлороводородной около -245°).

Для некоторых оптически активных лекарственных веществ, характеризующихся относительной степенью чистоты, дается интервал величины удельного вращения. Например, для рибофлавина он составляет от -110° до -130° в 0,1 М растворе натрия гидроксида.

Примером использования поляриметрии для количественного определения является анализ таблеток валидола.

Методика: 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 три 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. Показание поляриметра наблюдают пять раз и берут среднюю арифметическую величину. Содержание валидола в одной таблетке в граммах вычисляют по вышеприведенной формуле.

4. Спектрофотометрия в инфракрасной области спектра

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

Так как совокупность всех полос поглощения, образующая ИК-спектр данного вещества, однозначно определяет его индивидуальность, ИК-спектрофотометрия используется в основном как метод испытания на подлинность.

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

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

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 является наиболее важным моментом 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 перекрывание 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 призмных приборов или 1:300 для приборов с дифракционной решеткой. Часть смеси помещают в специальную матрицу и в условиях вакуума прессируют. Полученный прозрачный диск помещают в прибор и проводят измерения. Диск считают непригодным, если при визуальном просмотре обнаруживается отсутствие гомогенности или пропускание примерно при 2000 см^{-1} в отсутствие специфической полосы поглощения составляет менее 75 % без компенсации.

Применение ИК-спектроскопии для идентификации лекарственных средств. Почти все современные фармакопеи рекомендуют проводить испытание на подлинность методом ИК-спектрофотометрии, предписывая при этом использование стандартного образца данного лекарственного вещества. Анализ сводится к последовательному снятию спектров аналогичным образом приготовленных проб испытуемого вещества и его стандартного образца. Концентрация вещества при этом должна быть такой, чтобы пик с максимальным поглощением, присущий веществу имел пропускание между 5% и 25%. Совпадение полос двух спектров свидетельствует об идентичности данных веществ. Если эти положения не согласуются, то возникает предположение о возможности существования различий в кри-

сталлической форме. Далее следует провести определение в растворе и вновь сопоставить спектры. Если определение в растворе невозможно, то можно попытаться получить одинаковую кристаллическую форму путем перекристаллизации испытуемого вещества и стандартного образца.

Некоторые фармакопеи допускают установление подлинности по спектру сравнения. Для этого составляются сборники спектров (атласы), в которых, помимо спектров, должны быть указаны точные условия приготовления пробы. Для того чтобы сделать допуск на возможную разницу в калибровке шкалы длин волн между прибором, на котором был получен спектр сравнения и спектр испытуемого вещества, используют стандартный спектр пленки полистирола. Этот спектр накладывают на спектр исследуемого вещества и на спектр сравнения. 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 рисунке.

Идентификация лекарственных веществ методом ИК-спектроскопии в общем случае приводит к сопоставлению полученных спектров, однако знание основных групповых частот может быть полезным при первичной оценке полученных спектров. Такие групповые частоты связаны с наличием определенных функциональных групп в структуре вещества (таблица 1).

Таблица 1. Некоторые функциональные группы и соответствующие им частоты

Группа	Частота, см⁻¹ (интенсивность)
O—H	3650 – 3200 (переменная)
N—H	3500 – 2900 (средняя)
C—H	3300 – 2700 (сильная – средняя)
N—H	Около 2550 (средняя – слабая)
C—C	Около 2200 (слабая)
C = N	Около 2200 (средняя – слабая)
C = O	1850 – 1650 (сильная)
C = C	Около 1650 (средняя – слабая)
C—O—	1300 – 1000 (сильная – средняя)

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 таблице 2.

Таблица 2. Проверка шкалы длин волн

Полосы поглощения, см^{-1}	Степень разрешения прибора как разность в процентах пропускания
Теория 3027 2850 1944 1802 1601 1583 1154 1028 906	<u>2870</u> <u>1589</u> 2851 1483
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 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.

В качестве примера рассмотрим ИК-спектр дезоксикортикостерона ацетата (ДОКА), для которого пока не описаны полиморфные формы (рисунк 6).

Основным группировкам дезоксикортикостерона соответствуют следующие полосы поглощения в области $1800 - 1600 \text{ см}^{-1}$: полоса средней интенсивности при 1605 см^{-1} , обусловленная валентными колебаниями

группировки $C=C$ при C_4 ; интенсивная полоса поглощения при 1656 см^{-1} , связанная с сопряженной группировкой $C=O$ при C_3 .

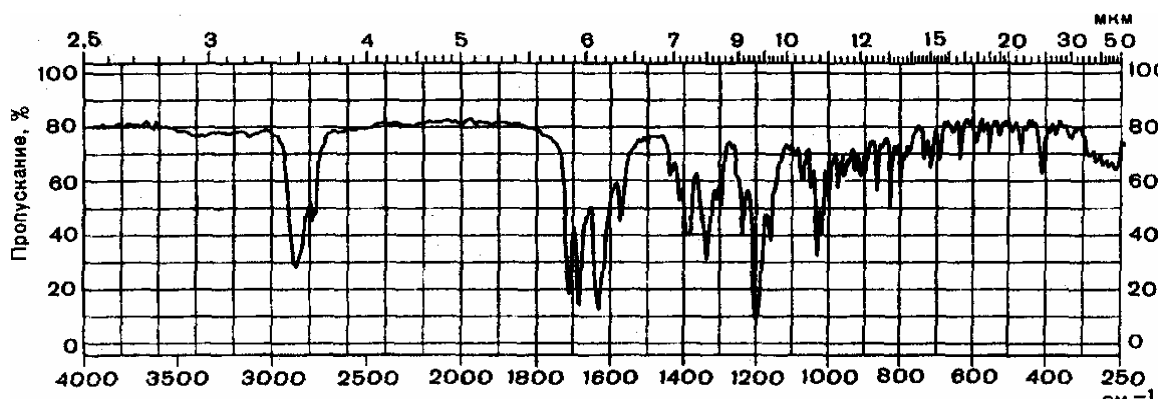
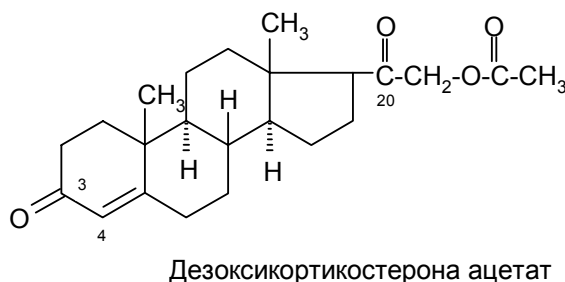


Рис. 6. Инфракрасный спектр дезоксикортикостерона ацетата

Наблюдается также интенсивная полоса поглощения при 1684 см^{-1} , обычно относимая к группе $C=O$ при C_{20} . Ацетильная группа проявляется в виде полосы сильной степени интенсивности в области $1800 - 1600\text{ см}^{-1}$ при 1733 см^{-1} (валентные колебания группы $C=O$) и широкой полосы при 1231 см^{-1} (группа $C-O$ ацетильного остатка). Как и следовало ожидать, в спектре ДОКА отсутствует полоса поглощения при 3480 см^{-1} , характерная для валентных колебаний группы OH .

Хотя ИК-спектр ДОКА может служить подходящим примером для выявления полос поглощения в почти точном соответствии с любой корреляционной таблицей частот и функциональных групп, не следует сразу приступать к интерпретации всего спектра, не выделив отдельных группировок. Нужно помнить, что только постоянное сопоставление спектров, близких по структуре веществ, позволяет с достаточной достоверностью отнести к ним те или иные группы, присущие данному соединению. Если в общем случае задача упрощена и сводится к сопоставлению спектров испытуемого и стандартного вещества, то значение характеристических полос поглощения может служить дополнительной ориентацией для подтверждения подлинности лекарственных веществ.

5. Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях спектра

Абсорбционная УФ-спектрофотометрия основывается на измерении количества поглощенного вещества 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 немонохроматического излучения в области 380 – 780 нм.

Терминология, используемая при описании спектро-фотометрических испытаний, пока не унифицирована. Поэтому в настоящем руководстве мы, действуя согласно ГФ, указываем также на некоторые особенности терминологии, принятые в III издании Международной фармакопеи (МФ III). Согласно МФ III, *поглощение* (A) – десятичный логарифм обратной величины пропускания (T). В ГФ используются термины «оптическая плотность» (D), а также «экстинкция» (E).

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

Поглощаемость (a) – частое 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 фармакопеях чаще применяется термин «удельный показатель поглощения» $E_{1\text{см}}^{1\%}$, когда концентрацию (C) выражают в граммах на 100 мл; таким образом $E_{1\text{см}}^{1\%} = 10a$.

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

$$\epsilon = a \cdot M, \text{ или } \epsilon = \frac{E_{1\text{см}}^{1\%} \cdot M}{10}$$

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

Приборы. Фармакопея не указывает конкретные типы приборов, рекомендованные для выполнения измерений. В нашей стране применяются как отечественные, так и импортные 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 пропускная способность. Кюветы, применяемые для испытуемого и контрольного растворов, должны быть одинаковыми и иметь одну и ту же спектральную пропускную способность, 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. В таблице 3 представлены растворители, пригодные для применения в видимой и УФ-областях спектра, и указаны примерные длины волн, ниже которых применение метода невозможно из-за собственного поглощения растворителей.

Таблица 3. Спектральная характеристика растворителей

Растворитель	Нижняя граница длин волн, нм	Растворитель	Нижняя граница длин волн, нм
Вода	180	Метилена хлорид	220
Ацетонитрил	190	Хлороформ	240
Петролейный эфир	195	Тетрахлоруглерод	257
Циклогексан	195	Бензол	270
Метанол	200	Диоксан	320
Этанол	200	Ацетон	330
Диэтиловый эфир			

В ряде случаев предпочтительнее применять растворители специального качества (для спектрофотометрии). Как правило, поглощение этанола, метанола и цикло-гексана, используемых в качестве растворителей, измеренное в кювете с толщиной слоя 1 см при 240 нм, не должно превышать 0,10.

Применение спектрофотометрии в ультрафиолетовой и видимой областях спектра. Испытания на подлинность. Наличие определенных по-

лос поглощения в спектре исследуемого вещества может указывать на присутствие в структуре этого соединения определенной функциональной группы. Этим объясняется сходство спектров веществ, содержащих фенольный радикал (эфедрин, димедрол, бензилпенициллин, атропин, апрофен и др.), характеризующийся тремя полосами поглощения около 251, 257 и 263 нм. Для фенолов (адреналин, изопреналин, эстрадиол, местранол, морфин и др.) характерен максимум поглощения около 280 нм, а для веществ содержащих сопряженную еноновую систему – около 238 нм (рис. 7).

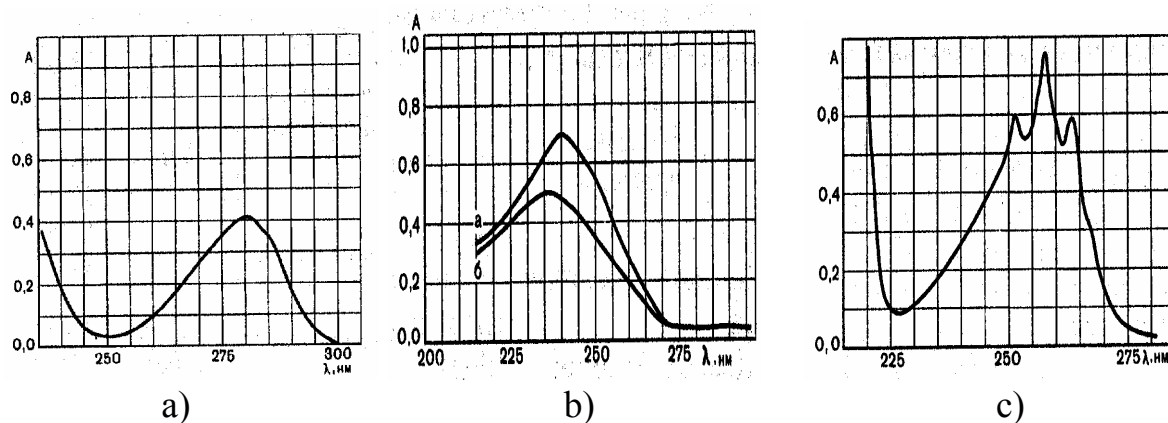


Рис. 7. Ультрафиолетовые спектры поглощения адреналина гидротарtrate, а); гидрокортизона ацетата (а) и кортизона ацетата (б), б); эфедрина гидрохлорида, с).

Приемы, связанные с испытаниями на подлинность лекарственных веществ методом УФ-спектрофотометрии, сводятся к следующему. Указание длин волн при максимумах поглощения является лишь ориентировочной характеристикой, так как не позволяет судить об общем виде спектра.

Чаще приводят максимумы при определенных длинах волн и указывают соответствующие им величины поглощения. Например, 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 длине 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 $E_{1\text{см}}^{1\%}$. Удельный показатель поглощения левомецетина при длине волны 278 нм равен 290—305.

В ряде случаев (производные кислоты барбитуровой, сульфаниламида, фенолы и др.) характер спектра может изменяться в зависимости от значения рН раствора, поэтому в частной фармакопейной статье указывается значение рН, при котором проводится изменение.

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

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

Предел содержания поглощающих примесей может быть установлен по величинам отношений поглощения при различных максимумах (ФС на 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.

Основным условием для количественного анализа является соблюдение закона Бугера – Ламберта – Бера в пределах соответствующих концентраций. Для проверки соответствия закону строят график зависимости (поглощение – длина волны) 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 $E_{1\text{см}}^{1\%}$ (формула I):

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

где A – оптическая плотность;

b – разведение;

a – навеска, 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 и 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 пред-

приятными (организациями), выпускающими или разрабатывающими лекарственные средства, согласовывается с Государственным научно-исследовательским институтом по стандартизации лекарственных средств 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 (II):

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

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 – навеска, г.

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

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

где q – средняя масса таблетки, г.

$$x = \frac{A_1 \cdot b \cdot q}{E_{1\text{см}}^{1\%} \cdot a \cdot 100} \quad (\text{IV})$$

Значения остальных символов см. формулу (I).

Если количественные измерения выполняются достаточно часто, то можно вместо стандартного образца использовать подходящий калибро-

вочный 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.

Определение стероидных гормонов

В качестве растворителей для стероидных гормонов чаще всего применяют этиловый (95 % или абсолютный) или метиловый спирт. Для эстрогенов, которые содержат в составе молекулы 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.

Спектры поглощения кортикостероидов – кортизона ацетата и гидрокортизона ацетата (см. рис. 7 б).

Расчет количественного содержания индивидуального вещества в процентах проводится по формулам (I) или (II), в таблетках – по формулам (III) или (IV).

Определение преднизолона в таблетках по 0,001г и 0,005г. М е т о д и к а. Точную навеску растертых в порошок таблеток, содержащую около 0,001 г преднизолона, помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, прибавляют 25 – 30 мл 95 % спирта, встряхивают в течение 5 – 6 мин, доводят до метки 95 % спиртом и снова перемешивают, фильтруют в сухую колбу, отбрасывая первые 10 – 15 мл фильтрата; 25 мл фильтрата вносят пипеткой в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят 95 % 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 контрольного раствора 95 % спирт. Повторяют такое же измерение с 0,001 % раствором РСО преднизолона.

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

Определение преднизолона и преднизолона ацетата в мази. М е т о д и к а. К точной навеске мази, содержащей около 0,0025 г преднизолона

(или преднизолона 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; 10 мл полученного раствора вносят пипеткой в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят до метки 95 % спиртом, перемешивают и измеряют оптическую плотность 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 (λ_{\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. 8.

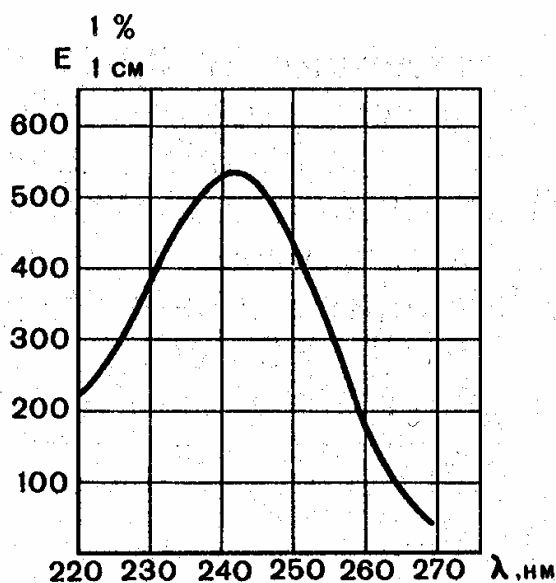
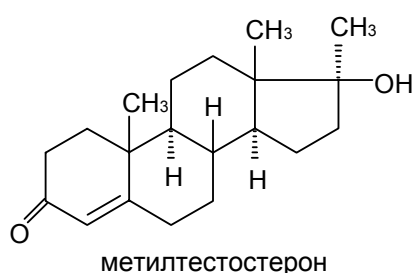


Рис. 8. Спектр поглощения метилтестостерона в 95% спирте.

М е т о д и к а. Около 0,05 г растертых в порошок таблеток (точная навеска) помещают в мерную колбу с притертой пробкой вместимостью 50 мл, доводят объем раствора до метки 95% спиртом и встряхивают в течение 5 мин. Фильтруют в сухую колбу через, 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, используя в качестве раствора сравнения 95% спирт.

Можно проводить определение с помощью раствора 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 на среднюю массу одной таблетки.

Определение диэтилстильбэстрола и синэстрола в таблетках по 0,001 г. Для извлечения диэтилстильбэстрола и синэстрола из таблеток используется 0,1 М раствор натрия гидроксида. Светопоглощение раствора диэтилстильбэстрола в 0,1 н. 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.

М е т о д и к а. 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 (диэтилстильбэстрола) или 241 нм (синэстрола). 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 в растворе на среднюю массу одной таблетки.

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 (значение удельного показателя поглощения – 60).

М е т о д и к а. 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 нулевого раствора 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.

П р и г о т о в л е н и е р а с т в о р а р а б о ч е г о с т а н д а р т н о г о о б р а з ц а ф е н а з е п а м а. 0,0500 г феназепама (точная навеска) растворяют в 95 % спирте в мерной колбе вместимостью 50 мл, 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). 2,5 мл раствора А вносят в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят до метки 95 % спиртом и перемешивают; 1 мл раствора РСО содержит 0,000005 г феназепама.

Спектрофотометрия в видимой области спектра

Этот 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 препаратов, содержащих фенольный гидроксил, применяется реакция образования азокрасителя; для определения Δ^4 -кетостероидов – реакция с гидразидом кислоты изоникотиновой. На гидроксамовой реакции основано количественное определение сложных эфиров, лактонов, лактамов и т.д.

Количественное определение в видимой области спектра не имеет принципиальных различий от подобных измерений в УФ-области. Применение стандартного образца обязательно во всех случаях анализа.

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

Определение преднизолоновой мази. (Данная и последующая методики могут быть использованы и для фотоэлектроколориметрического определения препаратов).

На восстановительных свойствах кортикостероидов основаны реакции с солями тетразолия, в частности с хлоридом 2,3,5-трифенилтетразолия. После восстановления α -кетольными стероидами щелочной раствор 2,3,5-трифенилтетразолия образует окрашенный раствор красного формазана, светопоглощение которого подчиняется закону Бугера – Ламберта – Бера при концентрации от 1 до 25 мкг/мл. Для стабилизации неустойчивого формазана рекомендуется добавлять кислоту уксусную ледяную. Этим методом могут быть определены 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. 9).

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; кислота уксусная ледяная.

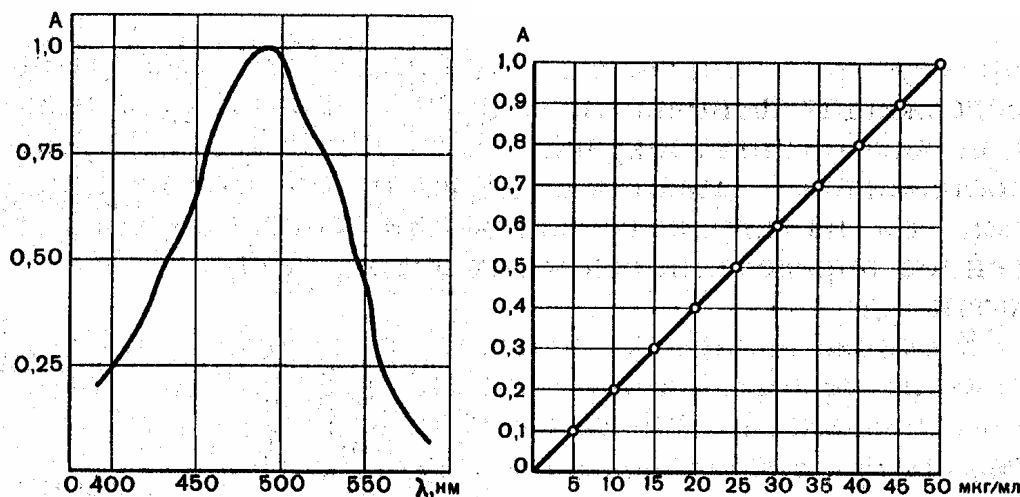


Рис. 9. Спектр поглощения раствора формазана, полученного из кортизона ацетата и калибровочный график для преднизолон.

М е т о д и к а. 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 ком-

натной 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 н. спиртового раствора калия гидроксида и оставляют в темном месте. Через 15 мин прибавляют 3 мл ледяной кислоты уксусной и измеряют оптическую плотность раствора на спектрофотометре при длине волны 485 нм в кювете с толщиной слоя 1 см, применяя нулевой раствор, 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 ледяной кислоты уксусной. Повторяют такое же измерение с 2 мл 0,01 % спиртового раствора РСО преднизолона (добавляют 3,8 мл 95 % спирта).

В случае фотоколориметрического определения оптическую плотность измеряют на фотоэлектроколориметре в кювете с толщиной слоя 1 см. Расчет проводят с помощью калибровочного графика (см. рис. 9).

Определение метилтестостерона и прегнина в таблетках по 0,005 г и 0,01г. Определение основано на реакции Δ^4 -3-кетогруппы исследуемых лекарственных средств с гидразидом кислоты изоникотиновой с образованием изоникотиноилгидразонов желтого цвета.

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

Р е а к т и в ы и р а с т в о р и т е л и: 95% спирт; 0,1% раствор гидразида кислоты изоникотиновой в 95% спирте (0,2 г гидразида кислоты изоникотиновой растворяют в 100 мл 95% спирта, добавляют 0,25 мл кислоты хлороводородной концентрированной, перемешивают и доводят объем раствора 95% спиртом до 200 мл).

П о с т р о е н и е к а л и б р о в о ч н о г о г р а ф и к а. 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). 10 мл раствора А 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 час 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 в кювете с толщиной слоя 1 см. В

качестве нулевого раствора применяют смесь, состоящую из 5 мл 95 % спирта и 5 мл реактива. Калибровочный график представлен на рис. 10.

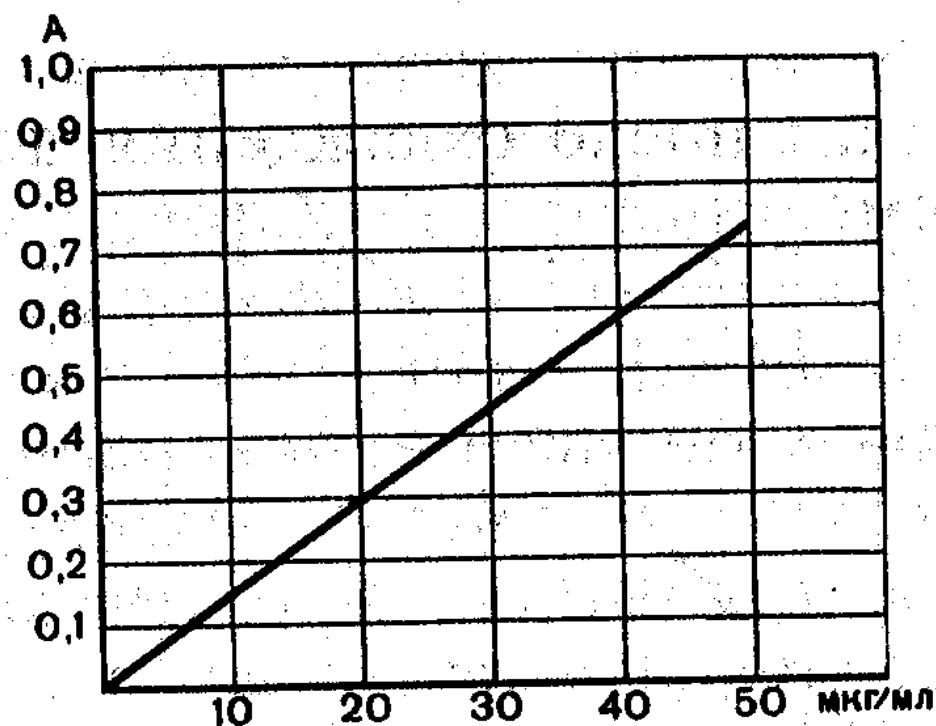


Рис. 10. калибровочный график для метилтестостерона и прегнина.

М е т о д и к а. Точную навеску растертых в порошок таблеток, содержащую около 0,005 г препарата, 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), перемешивают 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 М раствора гидразида кислоты изоникотиновой. Через 1 час определяют оптическую плотность раствора, 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 рабочего стандартного образца (РСО).

Содержание прегнина и метилтестостерона в расчете на среднюю массу таблетки должно соответственно быть 0,009 – 0,011 г и 0,045 – 0,0055 г.

6. Фотоэлектроколориметрия

Фотоколориметрический метод, как и спектрофотометрический в видимой области спектра, основан на измерении оптической плотности ок-

рашенного раствора (либо самого препарата, либо продукта реакции с тем или иным 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 препарата в лекарственных формах применяют или РСО (используя величину оптической плотности либо удельного показателя поглощения раствора, приготовленного из РСО), или калибровочный график. Наиболее часто используются фотоколориметры ФЭК-60, КФК-2, КФО и др.

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.

Ниже приведены методики фотоколориметрического определения, основанные на цветных реакциях препаратов.

Реакция образования азокрасителя лежит в основе определения диэтилстильбэстрола, рутина, левомицетина. На гидроксамовой реакции основано количественное определение новокаина и пилокарпина гидрохлорида в лекарственных формах. Ментол определяется по цветовой реакции с ядуо-диметиламинобензальдегидом, а этакридина лактат – по реакции с натрия нитритом. Расчет количественного содержания проводят по калибровочному графику или формулам с использованием раствора стандартного образца.

Определение новокаина. В основе определения лежит гидроксамовая реакция на сложноэфирную группу.

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

Раствор рабочего стандартного образца. В 1 мл раствора содержится 1 мг новокаина.

М е т о д и к а. В пробирку вносят 1 мл раствора новокаина (от 0,5 до 0,9 мг препарата в пробе), прибавляют 0,4 мл щелочного раствора гидроксиламина. Жидкость взбалтывают и оставляют на 10 – 15 мин. Затем прибавляют 0,3 мл раствора кислоты хлороводородной, 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 гидроксилamina гидрохлорида, 0,3 мл раствора кислоты хлороводородной, 0,5 мл раствора железа (III) хлорида и 14,8 мл воды.

П о с т р о е н и е к а л и б р о в о ч н о г о г р а ф и к а. В ряд пробирок вносят соответственно 0,5; 0,6; 0,7; 0,8 и 0,9 мл раствора РСО новокаина. Во все пробирки прибавляют воду до 1 мл, а затем по 0,4 мл щелочного раствора гидроксилamina. Далее см. методику.

Определение левомецетина. М е т о д и к а. Точную навеску левомецетина (около 0,1 г) растворяют в 50 мл воды в мерной колбе вместимостью 100 мл при нагревании на водяной бане и после охлаждения объем доводят водой до метки (раствор А). 10 мл раствора А помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводят объем раствора до метки водой (раствор Б). К 5 мл раствора Б прибавляют 1 мл кислоты хлороводородной 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 364 нм (синий светофильтр) 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 левомецетина, приготовленного как и фильтрат испытуемого раствора (из точной навески 0,1 г левомецетина).

Определение фурацилина. М е т о д и к а. Около 0,06 г препарата растворяют в 20 мл диметилформаида при встряхивании в мерной колбе вместимостью 500 мл, доводят объем колбы водой до метки и перемешивают (раствор А). 5 мл раствора А 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); нулевой раствор – 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.

П о с т р о е н и е к а л и б р о в о ч н о г о г р а ф и к а. 0,0600 г ГСО фурацилина растворяют в 20 мл диметилформамида в мерной колбе вместимостью 500 мл, доводят объем водой до метки и перемешивают (раствор А). В ряд мерных колб 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 фурацилина 0,02 % раствора. Методика. К 0,5 мл раствора фурацилина добавляют 7,5 мл воды, 2 мл 0,1 н. раствора натрия гидроксида и перемешивают. Через 20 минут измеряют оптическую плотность раствора на фотоэлектроколориметре при синем светофильтре (λ_{\max} 450 нм) в кювете с толщиной слоя 3 мм. Нулевой раствор – вода. Параллельно проводят реакцию с 0,5 мл 0,02 % рабочего стандартного раствора фурацилина и измеряют оптическую плотность.

П р и г о т о в л е н и е р а с т в о р а РСО. Точную навеску 0,0200 г РСО фурацилина растворяют в 70 – 80 мл воды в мерной колбе вместимостью 100 мл при нагревании на водяной бане при 70 – 80 °С. После охлаждения объем доводят водой до метки. В 1 мл раствора РСО содержится 0,0002 г фурацилина. Раствор устойчив в течение месяца при хранении в темном месте.

Определение рибофлавина. М е т о д и к а. Точную навеску рибофлавина (около 0,01 г) 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 синем светофильтре (λ_{\max} 445 нм) в кювете с толщиной слоя 1 см. Нулевой раствор – вода. Параллельно измеряют оптическую плотность раствора, содержащего 2,5 мл 0,004 % стандартного раствора рибофлавина и 7,5 мл воды.

П р и г о т о в л е н и е РСО р и б о ф л а в и н а. 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 месяца при хранении в темном месте.

Можно проводить расчет количественного содержания рибофлавина по калибровочному графику.

П о с т р о е н и е к а л и б р о в о ч н о г о г р а ф и к а. в ряд пробирок помещают 1; 1,5; 2; 2,5; 3; 3,5; 4 мл раствора стандартного образца рибофлавина, содержащего 0,00004 г лекарственного вещества в 1 мл, доводят объем раствора в каждой пробирке до 10 мл водой, перемешивают и измеряют оптическую плотность, как указано выше.

Определение стрептомицина сульфата. М е т о д и к а. Определение основано на мальтозной реакции. Около 0,05 г (точная навеска) препарата растворяют в воде в мерной колбе вместимостью 100 мл, доводят водой до метки и перемешивают. К 5 мл полученного раствора добавляют 1 мл 0,2 н. раствора натрия гидроксида. Перемешивают и нагревают на кипящей водяной бане 3 минуты. Охлаждают проточной водой в течение 3 мин. Затем добавляют пипеткой 4 мл 1% раствора аммония железа (III) сульфата в 0,75 н. растворе кислоты серной, перемешивают и оставляют стоять на 10 мин. Измеряют оптическую плотность полученного раствора на фотоэлектроколориметре при λ_{\max} 550 нм в кювете с толщиной слоя 20 мм; нулевой раствор – вода. Расчет проводят по калибровочному графику.

П о с т р о е н и е к а л и б р о в о ч н о г о г р а ф и к а. Точную навеску 0,1000 г стандартного образца стрептомицина сульфата растворяют в воде в мерной колбе вместимостью 100 мл, доводят водой до метки и перемешивают. В ряд пробирок вносят соответственно 0,5; 1; 1,5; 2; 2,5; 3; 3,5 и 4 мл полученного раствора и добавляют воды пипеткой до объема 5 мл. Затем в каждую пробирку добавляют по 1 мл 0,2 н. раствора натрия гидроксида, перемешивают и помещают на водяную баню на 3 мин. Далее см. выше.

7. Спектроскопия ядерного магнитного резонанса

Метод спектроскопии ядерного магнитного резонанса (ЯМР) основан на регистрации индуцированных радиочастотным полем переходов между ядерными магнитными энергетическими уровнями молекул вещества, помещенного в постоянное магнитное поле. Такие переходы возможны для ядер ^1H , ^{13}C , ^{19}F , ^{31}P и других. Наибольшее распространение при изучении лекарственных средств получила спектроскопия ЯМР с использованием ядер изотопов водорода ^1H (ЯМР ^1H) и углерода ^{13}C (ЯМР ^{13}C).

Основными характеристиками спектра ЯМР, то есть совокупности сигналов переходов между энергетическими уровнями ядер молекул, являются химический сдвиг, мультиплетность, константа спин-спинового

взаимодействия и площадь сигнала резонанса. Химический сдвиг (δ) определяет положение сигнала резонанса в спектре ЯМР и зависит от химического окружения данного ядра или группы ядер. Химический сдвиг выражается в миллионных долях (м.д.) и измеряется относительно сигнала резонанса эталонного соединения (эталона измерения химического сдвига), добавляемого к анализируемым растворам. Распространенными эталонами измерения химических сдвигов являются тетраметилсилан, $\delta=0,00$ м.д. (в растворах органических растворителей для спектров ЯМР ^1H и ^{13}C), 2,2-диметил-2-силапентан-5-сульфонат натрия, $\delta=0,015$ м.д. (в водных растворах для спектров ЯМР ^1H), и диоксан, $\delta=67,40$ м.д. (в водных растворах и в растворах органических растворителей для спектров ЯМР ^{13}C).

Мультиплетность (M) сигнала резонанса определяется числом компонент сверхтонкой структуры сигнала, на которые он расщепляется под влиянием соседних ядер. Интенсивности компонент в мультиплетах спектров первого порядка, то есть спектров, в которых разность химических сдвигов мультиплетных сигналов резонанса взаимодействующих ядер, выраженная в герцах, значительно превышает константу спин-спинового взаимодействия, пропорциональны биномиальным коэффициентам. Для дублетных сигналов отношение интенсивностей компонент составляет 1:1, для триплетных - 1:2:1, для квартетных - 1:3:3:1 и т.д.

Константа спин-спинового взаимодействия (J) выражается в герцах и определяется расстоянием между компонентами мультиплетов спектров первого порядка. Площадь сигнала резонанса (S) спектра ЯМР пропорциональна числу ядер, обуславливающих данный сигнал.

Аппаратура, материалы и методики эксперимента

Спектры ЯМР высокого разрешения регистрируют для легкоподвижных жидкостей или растворов твердых веществ, как правило, в дейтерированных растворителях: хлороформе- d_1 , воде тяжелой- d_2 , метаноле- d_4 , ацетоне- d_6 , бензоле- d_6 , диметилсульфоксиде- d_6 и других.

Для регистрации спектров ЯМР ^1H используют спектрометры с рабочими частотами 60 МГц и более. Спектрометр ЯМР состоит из следующих основных функциональных узлов: магнита с системой стабилизации и коррекции магнитного поля, системы генерации радиочастотного электромагнитного облучения образца и системы регистрации спектра. Раствор анализируемого вещества готовят, как указано в частной статье. Обычно к навеске 2-20 мг (для спектров ЯМР ^1H) или 20-200 мг (ЯМР ^{13}C) образца добавляют 0,2-2,0 мл дейтерированного растворителя до полного растворения образца. Раствор переносят в спектральную ампулу и проводят регистрацию заданной области спектра на бланке.

Отнесение сигналов ЯМР определенным структурным фрагментам молекул анализируемых лекарственных средств проводят на основании их спектральных характеристик, а также применяя специальные методики. Среди специальных методик используют двойной ядерный магнитный резонанс, сдвигающие реактивы, двумерную спектроскопию и другие.

Области применения

Основные области применения спектроскопии ЯМР в фармации: идентификация лекарственных средств, их комплексов с другими соединениями; исследование стабильности и метаболизма, определение примесей и оптической чистоты лекарственных средств; количественное определение компонентного состава лекарственных средств, действующих веществ в различных лекарственных формах.

Идентификацию основных компонентов или примесей в лекарственных средствах методом спектроскопии ЯМР проводят на основании химических сдвигов, мультиплетностей, констант спин-спинового взаимодействия и площадей сигналов резонанса, путем отнесения сигналов резонанса определенным структурным фрагментам молекул анализируемых соединений. При необходимости, для подтверждения идентификации, к анализируемому образцу после первичной регистрации спектра добавляют определенное количество каждого компонента или примеси с последующей записью спектра. Увеличение площадей сигналов, относящихся к соответствующим ядрам молекул основных компонентов или примесей, служит доказательством идентификации анализируемых соединений.

При идентификации лекарственных средств (определении подлинности) спектроскопическими методами обычно используют стандартные образцы и стандартные спектры (спектры сравнения). При определении подлинности методом спектроскопии ЯМР ^1H использование спектра сравнения ограничено рабочей частотой прибора. Ее изменение приводит к изменению общего вида спектра, что препятствует проведению идентификации лекарственных средств по типу «отпечатков пальцев». Целесообразность использования стандартного образца в этом случае очевидна. В отличие от сложных мультиплетов протонных спектров спектры ЯМР ^{13}C представляют собой набор синглетных сигналов резонанса соответствующих атомов углерода молекулярной структуры при полном подавлении протон-углеродных взаимодействий. Взаимное перекрывание сигналов в спектрах ЯМР ^{13}C маловероятно. Общая картина спектра практически не подвержена влиянию изменения рабочей частоты прибора. Подлинность лекарственного средства при этом может быть подтверждена сопоставлением спектра ЯМР ^{13}C только со спектром сравнения.

С другой стороны, в случаях, когда предполагается заменить ранее применяемый стандартный образец, разработать отечественный, но уже существующий в мировой практике стандартный образец, или когда разрабатывается впервые новый стандартный образец, возникает необходимость подтвердить идентичность материала, предлагаемого в качестве стандартного образца. В первом случае достаточно сопоставить спектры ЯМР заменяемого и предлагаемого стандартного образца. Во втором случае целесообразно сравнение спектров разрабатываемого отечественного и соответствующего ему существующего международного стандартного образца. Когда же стандартный образец разрабатывается впервые и не с чем его сравнить, обычно используют комплекс аналитических методов для его идентификации, в том числе и спектроскопию ЯМР.

Спектроскопию ЯМР используют для количественного определения относительного или абсолютного содержания основных компонентов или примесей в лекарственных средствах. Количественное определение относительного содержания основных компонентов или примесей в лекарственных средствах проводят путем сопоставления площадей сигналов ЯМР, относящихся к соответствующим группам атомов молекул основных компонентов или примесей. Для определения абсолютного содержания основных компонентов или примесей в лекарственных средствах площади сигналов ЯМР этих соединений измеряют относительно площадей сигналов вещества, добавленного к анализируемому образцу в качестве внутреннего количественного стандарта. Стандарт количественных измерений должен растворяться в используемом растворителе, не взаимодействовать с растворителем и анализируемым веществом, иметь постоянный состав, описываемый химической формулой. Сигнал резонанса стандарта количественных измерений должен регистрироваться в виде пика, не перекрывающегося другими сигналами. Значения химических сдвигов характерных сигналов некоторых веществ, используемых в качестве стандартов количественных измерений по спектрам ЯМР ^1H : малеиновая кислота (2 CH , $\delta=6,60$), бензилбензоат (CH_2 , $\delta=5,30$), малоновая кислота (CH_2 , $\delta=3,30$), сукцинимид (2 CH_2 , $\delta=2,77$), ацетанилид (CH_3 , $\delta=2,12$), трет-бутанол (3 CH_3 , $\delta=1,30$), гексаметилциклотрисилоксан (6 CH_3 , $\delta=0,15$).

8. Хроматография

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

По принципу протекающих при разделении смеси веществ физико-химических процессов хроматографические методы подразделяют на три

основные группы: распределительная, адсорбционная, ионообменная Хроматография.

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

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.

Адсорбционная хроматография

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

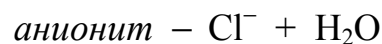
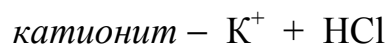
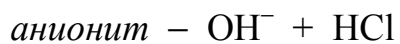
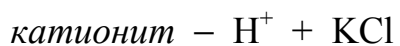
Ионообменная хроматография

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.

Ионообменники бывают двух типов: аниониты (анио-нообменники) и катиониты (катионообменники). Аниониты являются высокомолекулярными полизарядными веществами, способными 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:



Данный метод применяется главным образом для разделения электролитов и аминокислот. Этим методом проводят количественное определение натрия цитрата для инъекций.

М е т о д и к а. Около 1 г препарата (точная навеска) растворяют в свежекипяченной и охлажденной воде в мерной колбе вместимостью 100 мл и доводят объем раствора водой до метки. 10 мл полученного раствора 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 свежекипяченной и охлажденной водой (50 – 70 мл) до нейтральной реакции на метиловый оранжевый. Фильтрат и промывную воду собирают в колбу и титруют 0,05 н. раствором натрия гидроксида (индикатор – фенолфталеин).

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

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 выравниванием 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 , являющуюся отношением расстояния от стартовой линии до центра пятна вещества к расстоянию, пройденному фронтом подвижной фазы. Воспроизводимость величины R_f в значительной степени зависит от факторов, связанных со стандартизацией условий проведения хроматографии. Поэтому для повышения точности идентификации веществ пользуются также величиной R_s , являющейся отношением величины R_f анализируемого вещества к величине R_f вещества, принятого за стандарт. 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. М е т о д и к а. Навеску порошка растертых таблеток, эквивалентную 0,1 г пармидина, встряхивают в течение 3 минут с 20 мл спирта метилового и фильтруют. 0,002 мл полученного фильтрата (10 мкг пармидина) наносят на пластинку со слоем силикагеля F₂₅₄. 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.

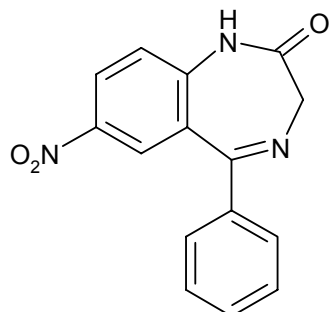
Определение подлинности компонентов таблеток «Пенталгин ICN» (состав на одну таблетку: анальгина – 0,3 г; парацетамола – 0,3 г; кофеина – 0,05 г; кодеина фосфата 0,008 г; фенобарбитала – 0,01 г).

М е т о д и к а. 0,2 г порошка растертых таблеток помещают в коническую колбу с притертой пробкой, прибавляют 0,1 мл спирта и 4 мл хлороформа и встряхивают в течение 3 минут, фильтруют через бумажный фильтр. 0,005 мл полученного раствора 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 анальгина, ~ 12,5 мкг кофеина, ~ 2,5 мкг фенобарбитала, ~ 2 мкг кодеина фосфата).

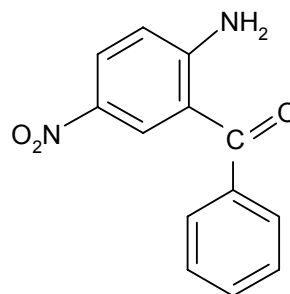
Пластинку подсушивают на воздухе в течение 10 минут и помещают в предварительно насыщенную камеру со смесью растворителей: ацетон – толуол – диэтиламин (19,5 : 5 : 0,5). Когда фронт подвижной фазы дойдет до линии финиша, ее вынимают из камеры, сушат на воздухе в течение 10 минут и просматривают в УФ- 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 незаменим также при анализе чистоты лекарственных веществ и препаратов.

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)

М е т о д и к а. 0,1 г нитразепама растворяют в 5 мл хлороформа (раствор I). 0,01 мл (200 мкг) полученного раствора наносят микропипеткой на линию старта пластинки Силуфол УФ-254 размером 8 x 15 см. Рядом в качестве свидетелей наносят 0,01 мл (1 мкг) 0,01% раствора препарата в хлороформе (раствор II) и 0,01 мл (0,2 мкг) 0,002% раствора 2-амино-5-нитробензофенона в хлороформе (раствор III).

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 I, кроме основного пятна, не должно быть интенсивнее пятна на хроматограмме раствора II (не более 0,5 %).

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

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

Определение посторонних примесей в фуразолидоне. 0,02 г лекарственного вещества растворяют в 20 мл ацетонитрила. 0,05 мл полученного раствора (50 мкг) наносят на пластинку со слоем силикагеля F. Рядом в качестве свидетеля наносят 0,001 мл (0,1 мкг), 0,0025 (0,25 мкг) и 0,005 мл (0,5 мкг) 0,01% раствора 5-нитрофурфуролдиацетата 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 в течение 5 минут 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%.

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 в виде двух вариантов: 1) адсорбционной газовой хроматографии и 2) распределительной или газо-жидкостной 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 с помощью микрошприца вводят 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 изготавливают 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. Их диаметр составляет 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 неизменной 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 6 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 оставляют баллон в вертикальном положении для выхода хладона-12. После прекращения шипения выходящего газа осторожно встряхивают баллон и дают ему около 3 минут постоять; 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 вместимостью 100 мл, откуда после тщательного перемешивания отбирают пробы для испытания подлинности и количественного определения.

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

Цинеол, камфора, хлорбутанолгидрат, ментол. 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 разделения:
хроматограф газовый с пламенно-ионизационным детектором;
колонка стеклянная или из нержавеющей стали размером 300 × 0,3 см, заполненная сорбентом – 15% полиэтиленгликолем (М.м. – 20000, карбо-

вакс 20 М) на хроматоне N-AW-DMCS зернения 0,16 – 0,20 мм или 0,315 – 0,430 мм;

температура термостата колонки 150⁰ С, испарителя – 200⁰ С;

скорость газа-носителя (азота), гелия и водорода – 25 мл/мин, воздуха – 300 мл/мин;

скорость диаграммной ленты – 240 мм/час.

М е т о д и к а. 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} – навеска нафталина, г;

a – навеска препарата, г;

m – масса содержимого, указанная на баллоне, без учета хладона-12, г.

О п р е д е л е н и е п о п р а в о ч н о г о к о э ф ф и ц и е н т а. 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} – навеска нафталина, г;

a – навеска камфоры, хлорбутанолгидрата или ментола, г.

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) представляет собой жидкость, которая под давлением движется через хроматографическую колонку, заполненную неподвижной фазой – сорбентом.

Механизмы удерживания в ВЭЖХ могут быть различными: адсорбция, распределение, ионный обмен, эксклюзионная хроматография, стереохимическое взаимодействие.

ВЭЖХ также подразделяют на нормально-фазовую и обращено-фазовую.

Нормально-фазовая хроматография – это такой вариант разделения, когда подвижная фаза менее полярна, чем неподвижная. В этом случае в качестве сорбента часто применяют силикагель или полярные привитые фазы, а в качестве подвижной фазы – гексан, гептан, хлороформ и другие неполярные растворители.

Обращено-фазовая хроматография – такой вариант разделения, когда подвижная фаза более полярна, чем неподвижная. В качестве сорбента в этом варианте обычно выступают неполярные привитые фазы, а элюентом служат смеси полярных растворителей – воды, ацетонитрила, метанола и др.

ВЭЖХ может использоваться как для аналитических, так и для препаративных целей.

Аналитическая 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. Спектр анализируемых соединений очень широк и ограничивается только возможностями детектирования.

Современный жидкостный хроматограф обычно состоит из следующих основных модулей.

1. Емкость с подвижной фазой или емкости с отдельными растворителями, входящими в состав подвижной фазы.
2. Насосная система.
3. Смеситель.
4. Дозирующая система (инжектор) для ввода пробы.
5. Хроматографическая колонка.
6. Детектор.
7. Емкости для сбора отработанной подвижной фазы.
8. Система сбора и обработки данных.

В ряде случаев применяются системы термостатирования хроматографических колонок.

Насосная система.

Насосы обеспечивают подачу растворителей в колонку с определенной постоянной скоростью, которую обычно задают в диапазоне от 0,5 до 1,5 мл/мин. Наиболее часто оптимальная с точки зрения эффективности хроматографического процесса скорость потока составляет 1 мл/мин. 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.

Флуктуации давления в хроматографах минимизируются, например, путем пропускания растворителей через систему демпферов. Все соединения по ходу элюента от насосов до колонки должны выдерживать создаваемое давление и, соответственно, не допускать утечку подвижной фазы. Современные жидкостные хроматографы обычно имеют систему контроля давления, и в случае его падения ниже некоторого установленного уровня или превышения определенных критических значений работа насосов автоматически отключается.

Смеситель.

В смесителе происходит образование единой подвижной фазы из отдельных растворителей, подаваемых насосами, если 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 обычно не применяется. Современные инжекторы имеют конструкцию, позволяющую локально изменять направление потока и осуществлять предварительное введение пробы в петлю, имеющую определенный объем, который обязательно указывается в маркировке петли. Наиболее часто в аналитической ВЭЖХ применяются петли с объемом 20 мкл, а также 10 и 50 мкл. Конструкция инжектора позволяет осуществлять замену петли. 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 снижает точность и воспроизводимость дозирования и, следовательно, ухудшает точность и воспроизводимость хроматографического анализа.

Для автоматического введения анализируемых растворов применяются автосэмплеры, сочетающие в себе систему отбора проб и систему инъекции.

Хроматографическая колонка.

Хроматографические колонки чаще изготавливают из нержавеющей стали. Длина аналитической колонки обычно составляет 10 – 25 см, внутренний диаметр – от 2 до 6 мм (чаще около 4 мм). Колонки для препаративной хроматографии имеют больший внутренний диаметр – от 7 до 40 мм и более. Колонки с внутренним диаметром менее 2 мм используются в микроколоночной хроматографии. Для проведения фармакопейного анализа рекомендуется применять аналитические колонки.

В заводских условиях колонки заполняются под большим давлением сорбентом.

Часто по ходу потока перед аналитической колонкой располагают предколонку, имеющую значительно меньшую длину и выполняющую защитные функции. Следует 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).

Сорбенты с привитыми фазами могут иметь различную степень химической модификации.

В качестве привитых фаз наиболее часто применяются:

1. Октильные группы $[\text{Si}-(\text{CH}_2)_7-\text{CH}_3]$. Сорбент октилсилан или C_8 .
2. Октадецильные группы $[\text{Si}-(\text{CH}_2)_{17}-\text{CH}_3]$. Сорбент октадецилсилан (ODS) или C_{18} .
3. Фенильные группы $[\text{Si}-(\text{CH}_2)_n (\text{C}_6\text{H}_5)]$. Сорбент C_6H_5 .
4. Цианопропильные группы $[\text{Si}-(\text{CH}_2)_3-\text{CN}]$. Сорбент CN.
5. Аминопропильные группы $[\text{Si}-(\text{CH}_2)_3-\text{NH}_2]$. Сорбент NH_2 .
6. 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 «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 обращено-фазовом режиме (с более полярными элюентами), и наиболее часто применяется сорбент C_{18} .

Обращено-фазовый режим имеет ряд важных преимуществ:

- высокая воспроизводимость данных по времени удерживания;
- быстрое установление равновесия в системе (стабилизация базовой линии);
- работа практически не зависит от наличия в элюенте следовых количеств воды, что, наоборот, критически важно для нормально-фазовой хроматографии;

- упрощение пробоподготовки, возможность хроматографировать растворы веществ в воде и полярных растворителях.

Тем не менее, в некоторых случаях более целесообразно применять нормально-фазовую хроматографию. При этом чаще используют силикагель или наиболее полярные привитые фазы («циано», «амино», «диол») в сочетании с неполярными растворителями.

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

Размер частиц сорбента в аналитической ВЭЖХ обычно составляет 3 – 10 мкм. В препаративной ВЭЖХ применяются сорбенты с более крупными частицами – до 50 мкм и более. 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. Полученная на этом основании хроматограмма представляет собой график зависимости некоторого физического или физико-химического параметра подвижной фазы от времени.

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

Самые простые модели спектрофотометров работают при одной фиксированной длине волны – обычно 254 нм. 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 моментально (без сканирования) получать ультрафиолетовый спектр элюента в любой момент времени, что значительно усиливает качественный анализ разделяемых компонентов. Одним из недостатков диодно-матричных детекторов является несколько более низкое по сравнению со спектрофотометрами с переменной или фиксированной длиной волны отношение «сигнал – шум», что снижает возможности детектирования веществ в низких концентрациях.

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

Современные детекторы имеют достаточно высокую чувствительность, которая теоретически позволяет обнаруживать вещества в концентрациях до 10^{-12} г/мл (1 пг/мл) и ниже. Но большее значение имеет чувствительность хроматографической системы в целом, которая зависит от множества факторов, влияющих на стабильность базовой линии. К этим факторам относятся качество работы насосов и системы подавления флуктуаций давления, стабильность работы электрических схем хроматографа, колебания напряжения в сети электропитания, качество растворителей и их соотношение в элюенте и др. Поскольку полностью исключить негативное влияние этих факторов невозможно, чувствительность метода ВЭЖХ всегда ниже возможностей детектора. Поэтому реально на современном жидкостном хроматографе можно детектировать вещества в концентрациях обычно до 10^{-6} – 10^{-7} г/мл (1 мкг/мл – 0,1 мкг/мл), редко – до 10^{-9} г/мл (1 нг/мл).

Подвижная фаза.

В качестве подвижной фазы могут применяться разнообразные растворители – как индивидуальные, так и их смеси.

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

В обращено-фазовой хроматографии в состав подвижной фазы входят полярные органические растворители (обычно ацетонитрил и/или метанол) и вода. Для оптимизации разделения часто используют водные растворы с определенным значением рН, 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 рН необходимо осуществлять 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 отдельных случаях может указываться массовое соотношение, что должно быть специально оговорено.

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 в том случае, если изократический режим не позволяет достичь необходимого разделения за приемлемое время. Растворители и добавки должны быть индифферентны по отношению к деталям хроматографа. На разделение большое влияние оказывает степень чистоты элюента, поэтому следует применять растворители, выпущенные специально для жидкостной хроматографии – высокой степени чистоты и обычно свободные от стабилизаторов. Для градиентного элюирования выпускаются растворители с соответствующей маркировкой.

На выбор растворителя влияет его прозрачность для детектора. Например, при использовании УФ-спектрофотометрического детектора применяемый элюент не должен иметь выраженного поглощения при выбранной для детектирования длине волны. В таблице 2 приведены пределы прозрачности наиболее распространенных в ВЭЖХ растворителей. При этом пределом прозрачности считается длина волны, при которой оптическая плотность слоя растворителя относительно воздуха равна 1,0. Предел прозрачности (или оптическая плотность при определенной длине волны) конкретного продажного растворителя часто указывается на упаковке, поскольку на этот параметр большое влияние оказывает степень чистоты.

Для анализа также большое значение имеет ряд других параметров: температура кипения (чем она выше, тем ниже вероятность газообразования в системе), плотность и вязкость (чем они меньше, тем ниже рабочее давление в системе, следовательно, меньше износ деталей хроматографа). Использование менее вязких растворителей также снижает сопротивление массопередаче в подвижной фазе, что уменьшает размывание хроматографических пиков и, следовательно, увеличивает эффективность разделения.

Элюирующую силу растворителя для нормально-фазового режима ориентировочно можно оценить по элюотропному ряду, составленному каким-либо автором. За редкими исключениями с увеличением полярности, которую можно оценить по диэлектрической проницаемости, элюирующая сила возрастает.

При использовании обращенно-фазового режима, наоборот, увеличение процентного содержания воды приводит к снижению элюирующей силы подвижной фазы, что отражается на увеличении времен удерживания анализируемых соединений. Увеличения силы элюента добиваются повы-

шением 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 удается разделить только с использованием метанола. Вода как второй компонент элюента в обращенно-фазовой хроматографии используется практически всегда.

Продажные 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 разделения за приемлемое время, повышая температуру колонки до 30 – 50 °С.

Система сбора и обработки хроматографических данных.

Регистрация хроматограмм может проводиться различными способами.

Наиболее простой вариант – поступление сигнала от детектора на самописец. В этом случае обработка хроматограммы осуществляется вручную. Соответственно, снижаются точность и воспроизводимость результатов анализа.

Более распространены системы автоматизированной обработки данных. Например, сигнал от детектора может поступать на устройство, со-

вмещающее в себе функции самописца и обработчика хроматограмм. Такое устройство получили название «интегратор».

В настоящее время простые самописцы и интеграторы вытесняются компьютерными системами обработки хроматографических данных. Сигнал от детектора поступает на сопряженный с хроматографом персональный компьютер с установленным программным обеспечением, позволяющим регистрировать и обрабатывать хроматограмму, а также часто осуществлять управление работой хроматографа и следить за основными параметрами хроматографической системы.

Указание условий хроматографирования в НД для ВЭЖХ.

Описание условий хроматографирования должно включать в себя:

- размеры колонки;
- вид и размер частиц сорбента;
- температура колонки, если необходимо термостатирование;
- состав подвижной фазы (растворители, их соотношение, значение рН 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.

При необходимости описание условий хроматографирования может быть более подробным.

Концентрация испытуемого раствора.

За предел детектирования пика принимают соотношение «сигнал-шум», равное 3. За предел количественного определения пика принимают соотношение «сигнал-шум», равное 10. При установлении подлинности и количественном определении необходимо избегать концентраций испытуемых растворов, дающих пики, соответственно, на уровне предела детектирования или предела количественного определения.

Также при установлении подлинности и количественном определении не допускается использовать очень высокие концентрации испытуемых растворов, дающие пики на верхнем пределе возможностей детектора или превышающие их.

При анализе чистоты для обнаружения примесей допускается использование испытуемых растворов в высоких концентрациях. Если для оценки содержания примесей используется метод внутренней нормализации, пик основного вещества не должен превышать возможности детектора.

Если для оценки чистоты используются стандартные образцы примесей, допускается «зашкаливание» пика основного вещества. Однако при этом следует учитывать, что очень большие концентрации могут приводить к «перегрузке» аналитической колонки и искажению результатов.

Определение компонентов суппозиторий «Релиф» (состав на один суппозиторий: масла печени акулы – 3% [75 мг]; масла какао – 85,5% [2137 мг]; фенилэфрина гидрохлорида – 0,25% [6,25 мг]; метилпарабена – 2,5 мг, пропилпарабена – 5,0 мг; крахмала – 273,5 мг.

П о д л и н н о с т ь. Идентификацию ретинола пальмитата и фенилэфрина гидрохлорида проводят при количественном определении.

Метилпарабен и пропилпарабен.

У с л о в и я р а з д е л е н и я:

колонка типа Nucleosil C₁₈ с зернением 5 мк, размером 150 × 4,6 мм;
подвижная фаза – вода–муравьиная кислота–ацетонитрил– метанол (470 : 2,3 : 265 : 265);

скорость потока 1,2 мл/мин;

УФ-детектор с рабочей длиной волны 254 нм;

объем вводимой пробы 10 мкл;

растворитель – 96% этанол.

П р и г о т о в л е н и е и с п ы т у е м о г о р а с т в о р а. 1 суппозиторий измельчают, помещают в колбу вместимостью 100 мл, добавляют растворитель, гомогенизируют, фильтруют в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводят объем растворителем до метки.

1 мл полученного раствора переносят в мерную колбу вместимостью 10 мл, добавляют 1,0 мл основного раствора внутреннего стандарта и доводят объем растворителем до метки.

П р и г о т о в л е н и е о с н о в н о г о р а с т в о р а в н у т р е н н е г о с т а н д а р т а. 70 мг стандартного образца п-гидроксиэтилбензоата помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в растворителе и доводят объем раствора до метки.

П р и г о т о в л е н и е р а с т в о р о в с р а в н и т е л ь н ы х с т а н д а р т н ы х о б р а з ц о в.

1) Основной раствор п-гидроксипропилбензоата: 25 мг стандартного образца п-гидроксипропилбензоата помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяют в 95% этаноле и доводят объем тем же растворителем до метки.

2) Стандартный раствор метил- и пропил-п-гидроксибензоатов: 50 мг стандартного образца п-гидроксиметилбензоата помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, добавляют 5,0 мл основного раствора п-гидроксипропилбензоата и доводят объем растворителем до метки.

3) Итоговый раствор стандартных образцов: 1,0 мл стандартного раствора п-гидроксиметилбензоата и п-гидроксипропилбензоата, 1,0 мл основного раствора внутреннего стандарта вносят в мерную колбу вместимостью 10 мл и доводят объем раствора до метки.

Измеряют времена удерживания анализируемых веществ и внутреннего стандарта.

Количественное определение. Масло печени акулы. Количественно определяют содержащийся в масле печени акулы ретинол в виде пальмитата с помощью метода ВЭЖХ.

Условия разделения:

колонка из нержавеющей стали с внутренним диаметром 4,6 мм и длиной 15 см;

сорбент типа Zorbax с диаметром сферических частиц 5 мкм;

скорость потока 0,6 мл/мин;

УФ-детектор с переменной длиной волны, рабочая длина волны 235 нм;

фильтры вакуумные для подвижной фазы с размером пор 0,45 мкм, устойчивые к тетрагидрофурану и фильтры для очистки образца с размером пор 0,45 мкм типа Найлон 66;

объем вводимой пробы 5 мкл;

буферный раствор: 4 мл кислоты фосфорной 85% и 8 мл триэтиламина помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводят объем раствора водой до метки;

подвижная фаза: смешивают 670 мл тетрагидрофурана, 320 мл воды и 9,5 мл буферного раствора.

Приготовление испытуемого раствора. Точную навеску измельченных суппозитория, эквивалентную массе одного суппозитория, помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, добавляют 95% тетрагидрофуран и доводят объем до метки тем же растворителем. 10 мл полученного раствора переносят в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводят объем до метки 95% тетрагидрофураном.

Приготовление раствора стандартного образца. Точную навеску стандартного образца витамина А пальмитата, эквивалентную 80 МЕ, помещают в мерную колбу вместимостью 200 мл растворяют в 95% тетрагидрофуране и доводят объем раствора до метки тем же растворителем. 1 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводят объем до метки 95% тетрагидрофураном.

Содержание ретинола пальмитата (в МЕ/1 г суппозитория) вычисляют по формуле:

$$X_{\text{ретинол пальмитат (МЕ/1 г суппозиториях)}} = \frac{S_i \cdot a_{oi} \cdot P \cdot 1 \cdot 100 \cdot 50}{S_{oi} \cdot a \cdot 200 \cdot 100 \cdot 10}$$

где S_i – площадь пика ретинола пальмитата на хроматограмме испытуемого раствора;

S_{oi} – площадь пика ретинола пальмитата на хроматограмме раствора стандартного образца;

a_{oi} – навеска стандартного образца ретинола пальмитата, мг;

P – содержание стандартного образца ретинола пальмитата, МЕ/мг.

Фенилэфрина гидрохлорид (метод ВЭЖХ).

Условия разделения:

колонка из нержавеющей стали с внутренним диаметром 4,6 мм и длиной 15 см;

сорбент типа Zorbax с размером частиц 4 мкм;

скорость потока 1,5 мл/мин;

УФ-детектор с переменной длиной волны, рабочая длина волны 289 нм;

фильтры вакуумные для подвижной фазы с размером пор 0,45 мкм, устойчивые к метанолу и фильтры для очистки образца с размером пор 0,45 мкм типа Ватман;

объем вводимой пробы 20 мкл;

подвижная фаза: в большой лабораторный стакан помещают 3,2 г калия дигидрофосфата, 2,5 г натрия лаурилсульфата, 1,5 г триэтиламина гидрохлорида и 1,0 мл 85% кислоты фосфорной, добавляют воды до растворения и доводят объем водой до метки. Перемешивают, добавляют 600 мл метанола и вновь перемешивают. Перед использованием раствор фильтруют.

Приготовление испытуемого раствора. 5 суппозиториях точно взвешивают и помещают в центрифужную пробирку вместимостью 250 мл с завинчивающейся крышкой, добавляют 100 мл гексана, плотно закручивают колпачок и перемешивают на приборе для встряхивания в течение 30 минут. Добавляют 100 мл подвижной фазы и снова встряхивают в течение 15 минут. Полученный образец центрифугируют в течение 10 минут при 1500 об/мин.

Для анализа образца используют одноразовый шприц с канюлей на конце. Втягивают небольшое количество воздуха в кончик шприца и помещают канюлю под границу раздела фаз, отделяющую слой гексана от

нижнего слоя подвижной фазы. Воздух из шприца удаляют, втягивают жидкость в шприц и переносят во флакон.

Приготовление раствора стандартного образца. Точно взвешивают 150 мг фенилэфрина гидрохлорида, помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в небольшом количестве подвижной фазы и доводят объем тем же растворителем до метки.

5 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводят объем подвижной фазой до метки.

Содержание фенилэфрина гидрохлорида в суппозиториях (в %) вычисляют по формуле:

$$X \% \text{ фенилэфрина гидрохлорид} = \frac{S_i \cdot a_{oi} \cdot P \cdot 5 \cdot 100 \cdot 50 \cdot 100}{S_{oi} \cdot a \cdot 50 \cdot 50 \cdot 1000}$$

где S_i – площадь пика фенилэфрина гидрохлорида на хроматограмме испытуемого раствора;

S_{oi} – площадь пика фенилэфрина гидрохлорида на хроматограмме раствора стандартного образца;

a_{oi} – навеска стандартного образца фенилэфрина гидрохлорида, мг;

P – содержание стандартного образца фенилэфрина гидрохлорида в 1 мл раствора стандартного образца.

Количественное определение компонентов таблеток «Пенталгин ICN» (состав см. выше в разделе «Хроматография в тонком слое»).

Методика. Около 0,4 г (точная навеска) порошка растертых таблеток, 0,15 г натрия сульфита помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 10 мл ацетонитрила, 15 мл воды, встряхивают в течение 10 мин и доводят объем раствора тем же растворителем до метки. Раствор фильтруют через бумажный фильтр «синяя лента», отбрасывая первые 15 мл фильтрата.

5 мкл полученного раствора и 5 мкл раствора стандартного образца попеременно хроматографируют на жидкостном хроматографе «Мили-хром» с УФ-детектром, получая не менее 3 хроматограмм каждого раствора.

Условия разделения:

1. Жидкостной хроматограф должен быть снабжен:
– УФ-детектором с рабочей длиной волны 210 нм;

– колонкой размером 80 × 2 мм, заполненной сорбентом Сепарон SGX C₁₈ зернением 7 мкм, или колонкой других размеров, заполненной тем же или други подходящим сорбентом;

– устройством подачи подвижной фазы, обеспечивающим создание градиента концентраций в трехкомпонентной подвижной фазе.

2. Расход подвижной фазы 150 мкл/мин.

3. Состав подвижной фазы:

– до выхода пиков анальгина, парацетамола и кофеина – смесь ацетонитрила и воды (16 : 84);

– после выхода пика кофеина и до выхода пика фенобарбитала – смесь ацетонитрила и воды (30 : 70);

– после выхода пика фенобарбитала и до выхода пика кодеина фосфата – смесь ацетонитрила и 0,025 М раствора калия дигидрофосфата (40 : 60).

По окончании хроматографирования колонка и узел ввода пробы промываются подвижной фазой – смесью ацетонитрила и воды (16 : 84) в течение не менее 2 минут.

Количество анальгина, парацетамола, кофеина, фенобарбитала и кодеина фосфата в пересчете на среднюю массу одной таблетки (X) в граммах вычисляют по формулам:

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

анальгин,
парацетамол,
кофеин
(г/ 1 табл)

$$X = \frac{S_i \cdot a_{oi} \cdot b \cdot 10}{S_{oi} \cdot a \cdot 100}$$

кодеина фосфат,
фенобарбитал
(г/ 1 табл)

где S_i – площадь пика определяемого компонента на хроматограмме испытуемого раствора;

S_{oi} – площадь пика определяемого компонента на хроматограмме рабочих стандартных образцов;

a_{oi} – навеска рабочего стандартного образца определяемого компонента, в г;

a – навеска порошка растертых таблеток, в г;

b – средняя масса таблетки, в г.

П р и г о т о в л е н и е р а с т в о р а с т а н д а р т н о г о о б р а з ц а .

Около 0,15 г натрия сульфита (точная навеска), 0,15 г (точная навеска) аналгина, 0,15 г (точная навеска) парацетамола, 0,025 г (точная навеска) кофеина безводного, помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 10 мл ацетонитрила, 40 мл воды, взбалтывают до полного растворения, прибавляют 10 мл раствора фенобарбитала и кодеина фосфата. Объем раствора доводят водой до метки, перемешивают и фильтруют через стеклянный фильтр ПОР 16. Дегазируют любым удобным способом.

П р и г о т о в л е н и е р а с т в о р а ф е н о б а р б и т а л а , к о д е и н а ф о с ф а т а .

0,05 г (точная навеска) фенобарбитала, 0,04 г (точная навеска) кодеина фосфата предварительно высушенного до постоянной массы при температуре 100° С помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 10 мл ацетонитрила, 40 мл воды, взбалтывают до полного растворения. Объем раствора доводят водой до метки, перемешивают и фильтруют через стеклянный фильтр ПОР 16.

9. Потенциометрия

Потенциометрическое измерение рН

Водородным показателем (рН) называется отрицательный десятичный логарифм активности ионов водорода $pH = -\lg[H^+]$. Величина рН характеризует кислотность или основность растворов и является одним из показателей качества лекарственных средств.

Измерение рН производят колориметрическим или потенциометрическим методом. Последний имеет преимущества по сравнению с колориметрическим: он более точен, имеет меньше ограничений, связанных с присутствием в растворе окислителей или восстановителей, может применяться для определения рН в окрашенных, мутных или гелеобразных растворах.

Измерение рН заключается в сравнении потенциала индикаторного электрода, погруженного в испытуемый раствор, с потенциалом того же электрода в стандартном буферном растворе с известным значением рН.

В ГФ приведены растворы веществ, применяемых в качестве стандартных буферных растворов для проверки рН-метров. В качестве индикаторных электродов для измерения рН на практике применяют стеклянный и хингидронный электроды.

Для измерения рН используют высокоомные потенциометры различных систем или рН-метры, шкала которых градуирована в милливольтгах или единицах СИ.

Подготовка рН-метра и электродной системы производится согласно инструкциям, прилагаемым к прибору. Калибровка и проверка рН-метров проводятся по стандартным буферным растворам. Если значение рН контролируемого раствора отличается менее чем на единицу от значения рН стандартного буферного раствора, то достаточно проверить прибор по одному буферному раствору, величина рН которого находится в том же диапазоне измерения, что и значения рН контролируемого раствора.

Если значения рН контролируемых растворов находятся в широких пределах, то проверку рН-метров следует производить по двум стандартным буферным растворам в соответствии с инструкцией.

При измерении рН контролируемых растворов отсчет величины рН по шкале прибора производят после того, как показания прибора примут установившееся значение. Время установления показаний определяется буферными свойствами и температурой раствора (обычно время установления показаний не превышает 2 мин). Определение рН проводят при 25 ± 2 °С, в противном случае необходимо сделать соответствующие поправки.

Для приготовления буферных и контролируемых растворов применяют дистиллированную воду, которая должна иметь значения рН 5,0—7,0. Она должна быть освобождена от углекислого газа, для чего ее необходимо прокипятить перед употреблением. Если значение рН дистиллированной воды после кипячения не соответствует указанным пределам, то необходима дополнительная очистка, например, с помощью ионообменных колонок.

Потенциометрическое титрование

Потенциометрическое титрование используется для индикации точки эквивалентности при количественном определении методами нейтрализации, осаждения, комплексообразования, окисления – восстановления и др. Этот метод может быть применен также 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.

Электродная пара состоит из индикаторного электрода и электрода сравнения. Индикаторный электрод выбирается таким образом, чтобы его потенциал зависел от концентрации ионов, принимающих участие или образующихся в процессе титрования. Потенциал электрода сравнения во время титрования должен сохранять постоянную величину.

Как правило, электродную пару при титровании погружают в анализируемый раствор. Однако в тех случаях, когда ионы, диффундирующие из электрода сравнения, могут помешать проведению титрования, контакт электрода сравнения с анализируемым раствором осуществляется через электролитический мост. Последний представляет собой П-образную трубку, заполненную раствором электролита, ионы которого не мешают при титровании.

При потенциометрическом титровании в неводных средах электролитический мост или электрод сравнения заполняют растворами хлоридов калия или лития в соответствующих неводных растворителях.

При проведении анализа титрованный раствор прибавляют из бюретки равными объемами, постоянно перемешивая. Вблизи точки эквивалентности прибавляют по 0,1 мл и 0,05 мл и после каждого прибавления измеряют ЭДС. Измерение последней, возникающей за счет разности потенциалов между индикаторным электродом и электродом сравнения, осуществляется с помощью высокоомных потенциометров (рН-метров).

Величина ЭДС особенно изменяется вблизи точки эквивалентности. Абсолютное значение отношения изменения ЭДС (ΔE) к приращению объема прибавляемого титранта (ΔV) в этой точке будет максимальным.

Результаты титрования могут быть представлены графически, а полученная кривая использована для определения точки эквивалентности, которая может быть также определена расчетным путем по максимальному значению $\Delta E/\Delta V$ и соответственно $\Delta(\Delta E/\Delta V)$.

В общей статье ГФ «Потенциометрическое титрование» приведены кривая потенциометрического титрования, например 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 феназема

М е т о д и к а. Около 0,3 г препарата (точная навеска) растворяют в 20 мл хлороформа, прибавляют 20 мл уксусного ангидрида и титруют 0,1 н. раствором кислоты хлорной потенциометрически. В качестве индикаторного применяют стеклянный электрод. Параллельно проводят контрольный опыт. 1 мл 0,1 н. раствора кислоты хлорной соответствует 0,03496 г феназема, которого в препарате должно быть не менее 99,0 %.

II. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПОДЛИННОСТИ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

Для установления подлинности лекарственных средств в ГФ используется комплекс испытаний: характеристика внешнего вида, растворимость, температура плавления, температурные пределы перегонки, удельное вращение или угол вращения, значение величины рН, удельный показатель поглощения и другие показатели в УФ- или видимой областях спектра, химические реакции на катионы, анионы или функциональные группы и др.

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

1. Характеристика внешнего вида

В частной статье на каждое лекарственное вещество в разделе «Описание» в ГФ приводится характеристика главным образом физических свойств (агрегатное состояние, цвет, запах). Указывается, является ли данное лекарственное вещество аморфным или кристаллическим порошком, характеризуются размер (кристаллический, мелкокристаллический) и форма кристаллов (игольчатые, кубические и др.). Иногда приводятся дополнительные сведения (тяжелый, рыхлый, легкий порошок и др.).

Агрегатное состояние лекарства имеет большое значение для характеристики его качества, известна взаимосвязь степени дисперсности кристаллов с химической и фармакологической активностью лекарственных веществ.

В зависимости от условий технологического процесса форма кристаллов одного и того же лекарственного вещества может быть различной.

Важным показателем подлинности и чистоты лекарственных веществ является их цвет. Определение цвета порошков производится визуально. Для объективной оценки цвета в настоящее время применяется метод отражательной спектрофотометрии, позволяющий использовать оптические свойства порошкообразных веществ.

В ГФ включена общая статья «Определение степени белизны порошкообразных лекарственных средств». Оценка степени белизны проводится инструментальным методом и основана на спектральной характеристике света, отраженного от образца лекарственного вещества. Измеряют коэффициент отражения (отношение величины отраженного светового потока к

величине падающего на вещество светового потока) на специальных приборах.

Характеризуя цвет лекарственного вещества, ГФ иногда указывает и возможность его изменения. Так, резорцин описывается как белый или белый со слегка желтоватым оттенком порошок. Отмечается также, что под влиянием света и воздуха он постепенно приобретает розовый цвет. Таким образом, обращается внимание на нестабильность и возможность изменения химической структуры вещества под влиянием факторов окружающей среды, влекущих за собой изменение их внешнего вида. В данном случае изменение цвета является следствием легкого окисления двухатомного фенола.

Изменение внешнего вида лекарственных веществ может проходить под влиянием различных факторов окружающей среды (свет, влага, пониженная и повышенная температура, кислород, диоксид углерода и другие газы, сухой воздух, пыль) и выражается в увлажнении, изменении цвета, выпадении осадков из растворов и др. При этом могут проходить химические реакции различных типов (окисление, восстановление, осаждение, гидролиз).

В связи с этим в разделе «Описание» указывается на возможность изменения лекарственных веществ при хранении. Так, для натрия йодида отмечается, что на воздухе он сыреет и разлагается с выделением йода. Некоторые кристаллогидраты (меди сульфат, натрия тетраборат, магния сульфат и др.) выветриваются на воздухе (теряют часть кристаллизационной воды), что вызывает появление белых вкраплений наряду с бесцветными (натрия тетраборат, магния сульфат) и синими (меди сульфат) кристаллами.

Выветривание кристаллизационной воды может привести к нарушению дозировки (увеличению количества основного вещества в навеске) лекарственных средств, в том числе сильнодействующих и ядовитых.

Для правильного вывода о соответствии внешнего вида лекарственного вещества требованиям ГФ важно уметь связать изменение внешнего вида с химическими изменениями, которые могут произойти под влиянием факторов окружающей среды. Провизор должен обеспечить правильное хранение лекарственных средств, для каждого из которых установлены режим (прохладное или темное место и др.) и сроки хранения.

2. Растворимость

Для обозначения растворимости лекарственных веществ в ГФ приняты условные термины («очень легко растворим», «растворим», «практически нерастворим и др.), которые определяют соотношение объема раство-

рителя к одной весовой части лекарственного вещества. Так, для сульфацил-натрия растворимость обозначается термином «легко растворим в воде», что означает растворимость 1 г лекарственного вещества в воде объемом от 1 до 10 мл.

Для характеристики растворимости некоторых лекарственных веществ ГФ приводит соотношения веществ и растворителя. Так, для натрия хлорида – «растворим в 3 частях воды».

ГФ характеризует растворимость лекарственного средства, как правило, в воде, а также в ряде растворителей (чаще всего в 95% спирте, хлороформе, эфире), реже в кислотах и щелочах. Так, растворимость и в кислотах, и в щелочах характерна для таких амфотерных соединений, как цинка оксид, большинство сульфаниламидов, кислота глутаминовая и, таким образом, является одним из характерных показателей для них.

Изменение растворимости лекарственного вещества указывает на присутствие или появление в процессе хранения менее растворимых примесей и, таким образом, характеризует изменение его качества. Так, в теофиллине, хорошо растворимом в растворе аммиака, примесь сопутствующих пуриновых алкалоидов можно обнаружить по неполному растворению лекарственного средства в растворе аммиака, поскольку остальные пуриновые алкалоиды не растворяются в этом реактиве.

У некоторых лекарственных веществ растворимость изменяется под влиянием факторов окружающей среды. Например, растворы натриевых солей барбитуратов под действием углекислого газа выделяют осадок нерастворимой в воде кислотной формы.

3. Определение подлинности химическими реакциями

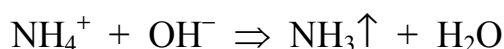
В нормативных документах приводится сочетание групповых и специфических химических реакций для идентификации лекарственных веществ. Так, реакция diazotирования и образования азокрасителя является групповой на первичные ароматические амины и доказывает принадлежность лекарственного вещества к этой группе. Ароматическую аминогруппу содержат сульфаниламиды, производные *n*-аминобензойной, *n*-аминосалициловой кислот и др. Групповой является мурексидная реакция на пуриновые алкалоиды, идентификацию же отдельных алкалоидов этой группы проводят с помощью специфических реакций. Сочетание групповых и специфических реакций, характерных для каждого лекарственного средства, наряду с учетом всех физических и химических свойств позволяет надежно идентифицировать лекарственные средства.

Большое количество лекарственных веществ содержат один и тот же ион или оду и ту же функциональную группу. Это позволило создать уни-

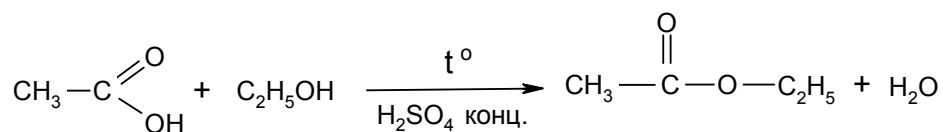
фицированные методики для идентификации их с помощью химических реакций на ионы или функциональные группы и объединить их в фармакопейную статью «Общие реакции на подлинность».

Амины ароматические первичные. Для лекарственных веществ, содержащих первичную ароматическую аминогруппу, характерна реакция диазотирования и азосочетания, в результате которой образуется азокраситель (химизм и методики см. тему 11).

Аммоний. При нагревании растворов солей аммония с растворами щелочей выделяется аммиак, который может быть обнаружен по характерному запаху и посинению влажной красной лакмусовой бумаги:

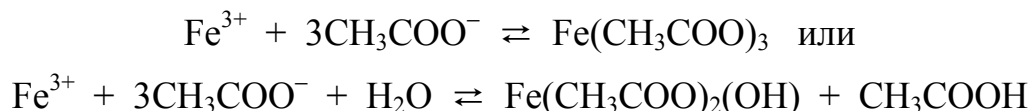


Ацетаты. Ацетаты определяют по реакции образования сложного эфира – этилацетата, имеющего характерный запах свежих яблок:

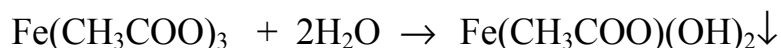


В условиях проведения реакции обнаруживаются ацетат-ион и ацетильный радикал в органических соединениях.

Другое испытание на ацетат-ион, включенное в ГФ – взаимодействие с железом (III) хлоридом. При добавлении к нейтральному раствору, содержащему ацетат-ион раствора железа (III) хлорида появляется красно-бурое окрашивание из-за образования железа (III) ацетата или гидроксиацетата (последний образуется на первой ступени гидролиза средней соли):



При кипячении полученного раствора выпадает хлопьевидный осадок из-за углубления гидролиза на второй ступени становящегося необратимым:

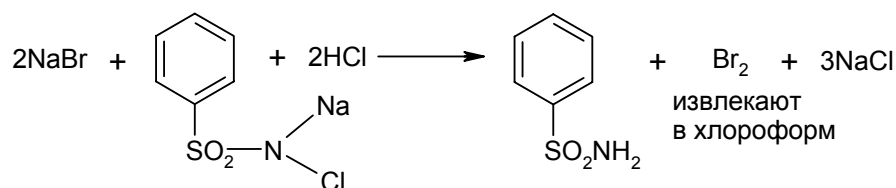


Бензоаты. Нейтральные растворы бензоатов с железа (III) хлоридом образуют осадок розовато-желтого цвета растворимый в эфире:



Полученное окрашенное соединение разрушается при действии растворов кислот и щелочей.

Бромиды. Бромиды идентифицируют по реакции выделения брома в результате окислительно-восстановительной реакции между бромидом и хлорамином в кислой среде. Выделяющийся в результате реакции молекулярный бром извлекают хлороформом. Хлороформный слой окрашивается при этом в желто-бурый цвет:

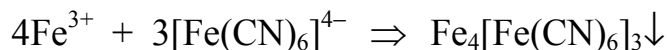


Растворы бромидов с раствором серебра нитрата образуют желтоватый творожистый осадок серебра нитрата, нерастворимый в кислоте азотной и трудно растворимый в растворе аммиака (химизм см. тему 2).

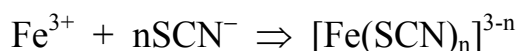
Висмут. Растворы солей висмута, подкисленные кислотой хлороводородной, образуют коричневатый осадок с сульфидами (химизм см. тему 4).

Железо (II). Растворы солей железа (II) с гексацианоферрат(III)-ионом образуют синий осадок гексацианоферрата (III) железа (II), возможно также образование $\text{Fe}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]_3$, $\text{KFe}[\text{Fe}(\text{CN})_6]$. Осадок нерастворим в минеральных кислотах; разрушается при действии щелочей с образованием железа (II) гидроксида (химизм см. тему 4).

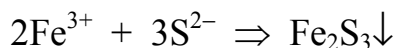
Железо (III). Растворы солей железа (III) образуют с раствором гексацианоферрата (II) калия синий осадок берлинской лазури:



При реакции с тиоцианатами растворы солей железа (III) образуются продукты красного цвета:



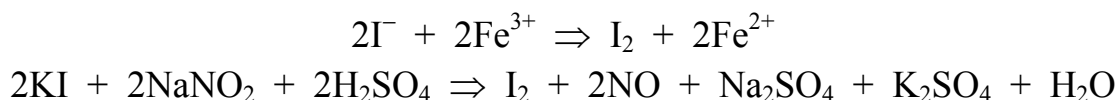
С растворимыми сульфидами в нейтральной или слабо щелочной среде соли железа (III) дают черный осадок:



Осадок железа (III) сульфида растворяется в минеральных кислотах.

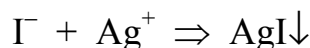
Йодиды. Йодиды являются выраженными восстановителями. Поэтому слабые окислители выделяют молекулярный йод из йодидов. Йод окрашивает крахмал в синий цвет; раствор йода в хлороформе окрашен в фиолетовый цвет.

Сильные окислители переводят йодиды в бесцветные гипойодиты (IO^-) или йодаты (IO_3^-), поэтому выбор окислителя и его концентрация имеет большое значение. ГФ рекомендует использовать для окисления йодидов растворы железа (III) хлорида или натрия нитрита:

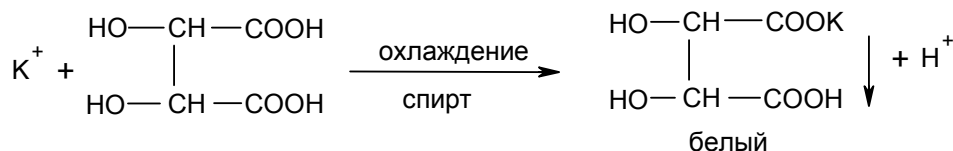


В качестве окислителя ГФ предлагает также применять кислоту серную концентрированную, при действии которой на йодиды при нагревании выделяются фиолетовые пары йода.

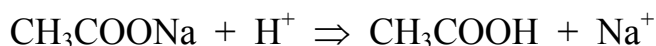
С раствором серебра нитрата в присутствии кислоты азотной йодиды образуют желтый творожистый осадок, нерастворимый в избытке аммиака:



Калий. Соли калия с раствором кислоты виннокаменной образуют белый кристаллический осадок кислой соли:



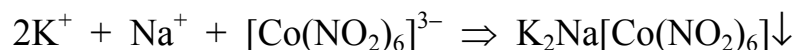
Осадок нерастворим в кислоте уксусной. К реакционной смеси добавляют натрия ацетат:



Образованию осадка способствуют добавление 95% спирта и встряхивание пробирки.

Осадок растворим в минеральных кислотах и растворах едких щелочей.

С раствором гексанитрокобальтата (III) натрия соли калия образуют желтый кристаллический осадок гексанитрокобальтата (III) калия, натрия, нерастворимый в кислоте уксусной, растворимый в минеральных кислотах:

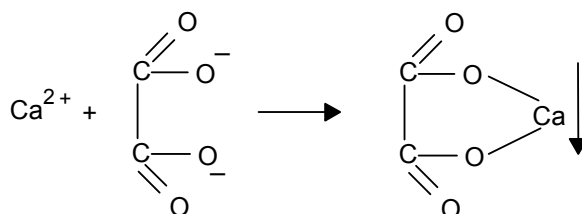


В сильноокислой среде образуется нестойкая кислота гексанитрокобальтовая $\text{H}_3[\text{Co}(\text{NO}_2)_6]$, разлагающаяся в момент выделения. В щелочной среде образуется бурый осадок $\text{Co}(\text{OH})_3$.

Поскольку с данным реактивом образуют осадок и ионы аммония, соль калия предварительно перед проведением реакции прокалывают для удаления солей аммония.

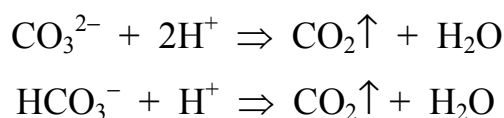
Соль калия, внесенная в бесцветное пламя, окрашивает его в фиолетовый цвет, а при рассматривании через синее стекло пламя имеет пурпурно-красный цвет.

Кальций. Растворы солей кальция с оксалат-ионом образуют белый осадок, нерастворимый в кислоте уксусной, растворимый в разведенных минеральных кислотах:

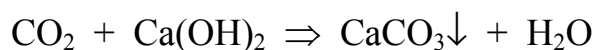


Соль кальция, смоченная кислотой хлороводородной, окрашивает бесцветное пламя горелки в кирпично-красный цвет.

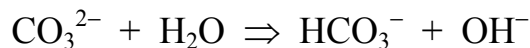
Карбонаты и гидрокарбонаты. При действии на карбонаты и гидрокарбонаты разведенных кислот появляются пузырьки диоксида углерода вследствие разложения выделяющейся нестойкой кислоты угольной:



При пропускании выделяющегося диоксида углерода через известковую воду образуется осадок кальция карбоната:



Отличить карбонаты от гидрокарбонатов можно по реакции среды с использованием индикатора – фенолфталеина. Карбонаты и гидрокарбонаты в растворе подвергаются гидролизу:



Карбонаты имеют сильно щелочную реакцию среды в отличие от гидрокарбонатов, в которых происходит, помимо гидролиза, и диссоциация HCO_3^- -иона:



В связи с этим реакция среды растворов гидрокарбонатов становится слабощелочной.

Таким образом, растворы карбонатов окрашивают фенолфталеин в розовый цвет, а растворы гидрокарбонатов не окрашивают.

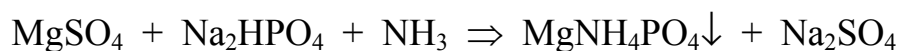
С насыщенным раствором магния сульфата растворы карбонатов образуют белый осадок:



Растворы гидрокарбонатов образуют такой же осадок, но при кипячении смеси (из-за перехода гидрокарбоната в карбонат):



Магний. Соли магния образуют с раствором натрия фосфата в присутствии аммония хлорида белый кристаллический осадок магний-аммоний фосфата, растворимый в кислоте уксусной:

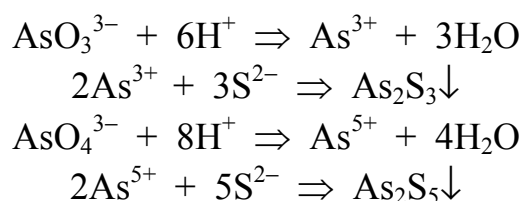


Для предупреждения образования осадка магния гидроксида к реакционной смеси добавляется аммония хлорид, избытка которого, однако,

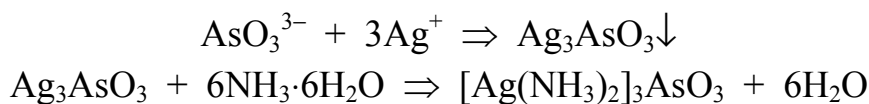
следует избегать вследствие образования растворимых комплексных ионов $[\text{MgCl}_3]^-$, $[\text{MgCl}_4]^{2-}$.

Мышьяк. Мышьяк в лекарственных средствах присутствует в виде соединений, в которых его степень окисления равна +3 и +5, поэтому в ГФ приводятся реакции на арсениты (AsO_3^{3-}) и арсенаты (AsO_4^{3-}).

В среде кислоты хлороводородной арсениты и арсенаты образуют желтые осадки с сульфид-ионом, нерастворимые в концентрированной кислоте хлороводородной, но образующие растворимые комплексы с раствором аммиака:



С раствором серебра нитрата арсениты образуют желтый осадок серебра арсенита, растворимый как в кислоте азотной, так и в растворе аммиака:

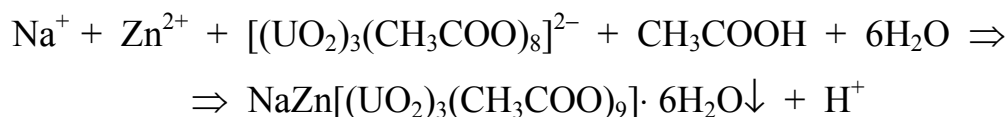


Арсенаты с раствором серебра нитрата образуют коричневатый осадок серебра арсената Ag_3AsO_4 , также растворимый в кислоте азотной и растворе аммиака с образованием в последнем случае комплекса $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]\text{AsO}_4$.

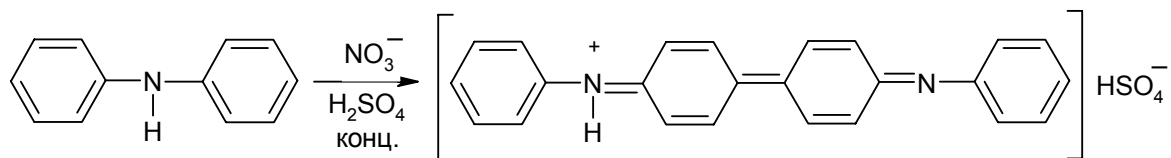
С ионами магния и аммония в присутствии аммония хлорида арсенаты образуют белый кристаллический осадок, растворимый в разведенной кислоте хлороводородной. Эта реакция позволяет отличить арсенаты от арсенитов:



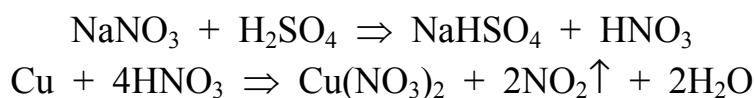
Натрий. Соль натрия, внесенная в бесцветное пламя, окрашивает его в желтый цвет. Соли натрия образуют желтый кристаллический осадок с цинка уранилацетатом. Осадок нерастворим в кислоте уксусной:



Нитраты. Общей реакцией на нитраты и нитриты является реакция с дифениламино, основанная на окислении этого реактива (в присутствии нитратов или нитритов) в среде концентрированной кислоты серной до дифенилдифенохинондиимина гидросульфата, окрашенного в синий цвет. Раствор дифениламина готовится на концентрированной кислоте серной:



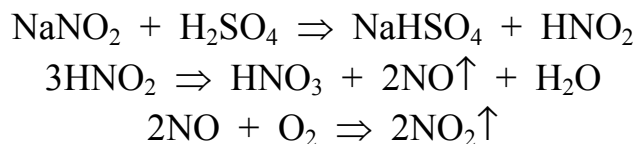
Нитраты можно открыть, используя реакцию с концентрированной кислотой серной и металлической медью по выделению бурых паров азота диоксида:



В отличие от нитритов, обладающих еще и восстановительными свойствами, нитраты не обесцвечивают раствор калия перманганата.

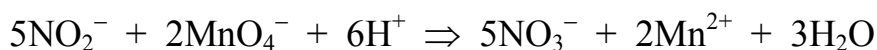
Нитриты. Нитриты, также как и нитраты, можно идентифицировать с помощью дифениламина в присутствии кислоты серной концентрированной (см. Нитраты).

Нитриты являются солями неустойчивой кислоты азотистой. При выделении последней из ее солей она разлагается с выделением характерных газообразных продуктов:

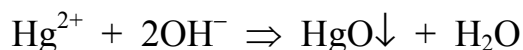


Нитриты при реакции с антипирином в кислой среде образуют продукт замещения – нитрозоантипирин зеленого цвета (химизм см. тему 12).

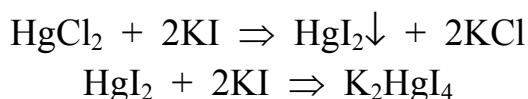
В отличие от нитратов нитриты обесцвечивают раствор калия перманганата:



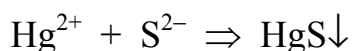
Ртуть (II). При действии щелочей на водные растворы солей ртути (II) образуется желтый осадок ртути оксида (II):



Ион Hg^{2+} способен образовывать комплексные соли. При действии калия йодида на раствор ртути (II) хлорида образуется красный осадок ртути (II) йодида, растворимый в избытке реактива с образованием бесцветного раствора калия тетраиодидртути:

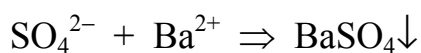


Соли ртути (II) осаждаются сульфид-ионом из водных растворов в виде осадка черного цвета, нерастворимого в кислоте азотной:

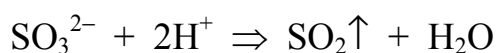


Салицилаты. Салицилаты, обладающие кислотными свойствами, обусловленными наличием карбоксильной группы и фенольного гидроксила, образуют с железа (III) хлоридом в нейтральной среде соли, окрашенные в красно-фиолетовый или сине-фиолетовый цвет. Состав и соответственно цвет соли зависят от соотношения количества реактива и салицилат-иона (различная степень кислотности карбоксила и фенольного гидроксила). Минеральные кислоты вытесняют кислоту салициловую из солей с ионом железа (III), окраска исчезает, выпадает белый осадок кислоты салициловой (химизм см. тему 6).

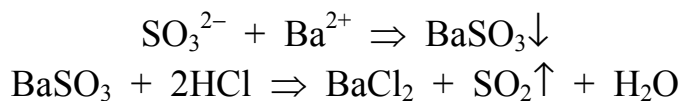
Сульфаты. Сульфаты с растворимыми солями бария дают белый осадок нерастворимый в кислотах и щелочах:



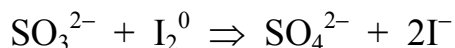
Сульфиты. Кислота сернистая, являясь неустойчивой, при разложении выделяет сернистый газ, имеющий резкий характерный запах. Это свойство кислоты сернистой используется для обнаружения ее солей – сульфитов, из которых кислоту вытесняют разведенной кислотой хлороводородной:



С ионами бария сульфиты образуют белый осадок, который в отличие от сульфата бария растворим в разведенной кислоте хлороводородной:



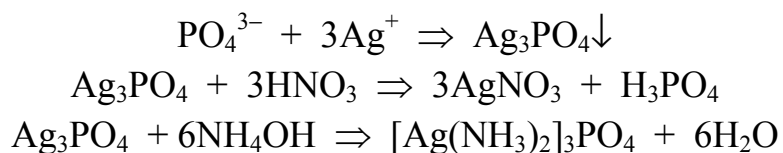
Сульфиты, являясь восстановителями, обесцвечивают растворы брома и йода:



Тартраты. Тартраты с солями калия образуют белый кристаллический осадок (см. Калий).

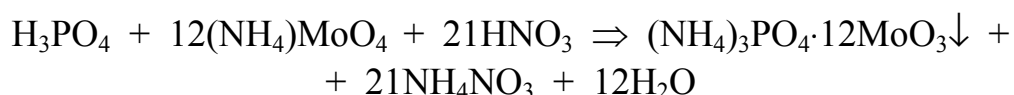
При нагревании тартратов с концентрированной кислотой серной и резорцином появляется вишнево-красное окрашивание вследствие образования легко окисляющегося продукта конденсации резорцина с карбонильным производным, получающимся в результате взаимодействия тартрата с концентрированной кислотой серной.

Фосфаты. Фосфат-ион осаждается из растворов серебра нитратом с образованием желтого осадка, растворимого в кислоте азотной и растворе аммиака:

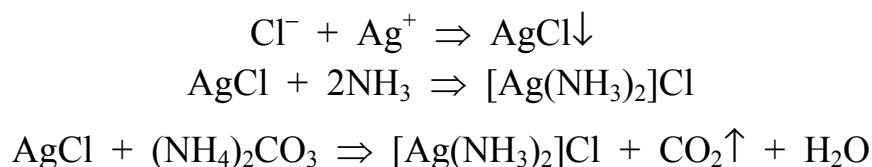


Магнезиальная смесь осаждает из растворов фосфат-ион в виде осадка магний-аммоний фосфата (см. Магний).

Растворы фосфатов в разведенной кислоте азотной при взаимодействии с аммония молибдатом при нагревании окрашиваются в желтый цвет, затем образуется желтый кристаллический осадок аммония фосфомолибдата:

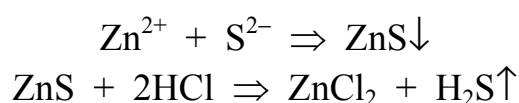


Хлориды. Растворы хлоридов с серебра нитратом образуют белый творожистый осадок, растворимый в аммиаке, аммония карбонате и нерастворимый в кислоте азотной:

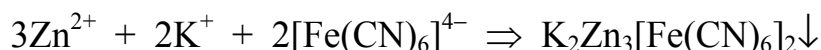


Для солей органических оснований испытание растворимости образовавшегося осадка серебра хлорида проводят после отделения осадка и промывания его водой.

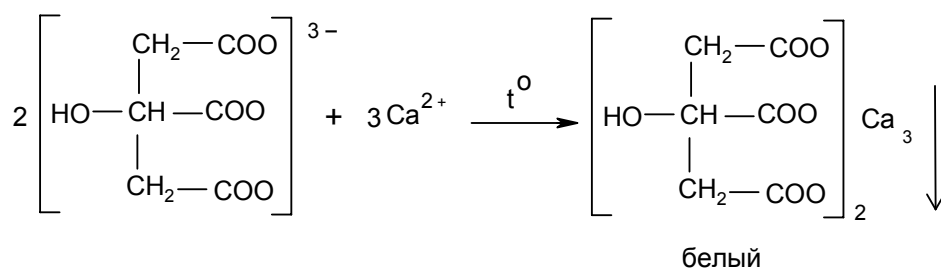
Цинк. Растворы солей цинка образуют с сульфид-ионом осадок цинка сульфида белого цвета, легко растворимый в разведенной кислоте хлороводородной и нерастворимый в кислоте уксусной:



С гексацианоферрат (II)-ионом соли цинка образуют белый студенистый осадок гексацианоферрат (II) цинка, калия, нерастворимый в разведенной кислоте хлороводородной:



Цитраты. Цитрат-ион образует с ионом кальция соль, растворимую в воде при комнатной температуре и выпадающую в осадок при кипячении:



Осадок растворим в кислоте хлороводородной.

При нагревании цитратов с ангидридом уксусным появляется красное окрашивание.

III. АНАЛИЗ ЧИСТОТЫ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

Анализ чистоты лекарственных средств является неотъемлемой и важной частью контроля их качества, поскольку наличие примесных соединений не только может снизить фармакологический эффект (например,

появление 4-эпитетрациклинов в тетрациклине), оказать противоположное действие (примесь иона-антагониста по фармакологическому действию), а также сделать препарат более токсичным (наличие примеси броматов в калия бромиде), или опасным для здоровья (примесь минеральных кислот в кислоте борной, примесь растворимых солей бария в бария сульфате для рентгеноскопии).

Основным принципом в требованиях к чистоте лекарственных средств является отсутствие или ограниченное содержание тех примесей, которые могут отрицательно влиять на их физические, химические и фармакологические свойства.

Примеси в лекарственных средствах в зависимости от характера и свойств могут оказывать влияние на фармакологическое действие, или не имеют специфического действия, а их присутствие указывает на степень очистки вещества (например, примеси хлоридов, сульфатов). Однако, для такого рода примесей необходимо устанавливать предельное количество их содержания.

Нормирование содержания примесей предусмотрено в частных статьях ГФ в разделе «Испытания на чистоту». Уровень требований к качеству лекарственных средств зависит не только от технологического процесса их получения, но и способа назначения лекарственной формы. Например, к лекарственным веществам, используемым в инъекционных растворах, предъявляются дополнительные требования в отношении качества.

Источники примесей в лекарственных веществах – это технологический процесс получения (качество исходного сырья, растворители, аппаратура, полупродукты синтеза), окружающая среда, упаковка. Примеси появляются в лекарственных средствах и при их хранении, под действием O_2 , CO_2 , влаги, света и других факторов.

В частной статье на каждое лекарственное средство приведен перечень показателей, по которым устанавливается его чистота. Несоответствие лекарственного вещества хотя бы одному из предусмотренных НД показателей указывает на изменение его качества, наличие или появление примесей в процессе хранения.

Применяется в медицине только лекарственное средство, отвечающее всем требованиям ГФ.

В ГФ имеется общая статья «Испытания на чистоту и допустимые пределы примесей», в которой приведены унифицированные методики для определения примесей хлорид-ионов, сульфат-ионов, ионов аммония, кальция, железа, цинка, тяжелых металлов, мышьяка. Приготовление эталонных растворов на примесные соединения проводится по методикам частных статей ГФ (например, определение количества примеси салициловой кислоты в кислоте ацетилсалициловой).

ГФ использует два метода определения предела содержания примесей: безэталонный и эталонный.

1. Безэталонный метод

В тех случаях, когда в частной статье ГФ на лекарственное вещество указано, что примесного вещества или иона «не должно быть», проводится испытание на это примесное вещество или ион и положительным результатом будет отсутствие их в лекарственном веществе. Так, в лекарственном веществе натрия хлорид должны отсутствовать ионы калия (антагонисты по фармакологическому действию). Реакция с виннокаменной кислотой должна быть отрицательной. В воде очищенной не должно быть примесей ионов Cl^- , Ca^{2+} . Реакция на эти ионы должна быть отрицательной.

Причем отрицательная реакция на определяемый примесный ион или вещество может означать, что чувствительность реакции недостаточна для определения данной примеси, т.е. говорить о полном отсутствии данной примеси нельзя. То же самое можно сказать и о других методах анализа, используемых для определения примесей.

2. Эталонный метод

Если предел содержания примесей дан в числовом выражении (например, в процентах), то используется эталонный метод. Так, содержание примеси хлоридов в препарате «Меди сульфат» по требованию частной статьи должно быть не более 0,005%.

Для определения содержания допустимого предела примесей в лекарственных средствах проводят их количественную оценку с помощью эталонных растворов цветности, мутности, эталонных растворов на примесные вещества и ионы.

Эталонные растворы содержат определенное количество примесного иона или примесного вещества. Сравнение проводится колориметрическим (определение окраски) или нефелометрическим (определение мутности) методом.

Эталонные растворы готовятся из соответствующих веществ взятием навески с точностью до 0,001 г. Готовятся растворы А (для длительного хранения), из них готовятся рабочие растворы Б и В путем разведения до нужной концентрации.

Относительная ошибка эталонного метода определения предела содержания примеси составляет $\pm 10\%$. Эталонный метод более точен, чем безэталонный, поэтому часто используется для нормирования содержания

токсичных примесей (например, примеси мышьяка, тяжелых металлов и др.).

Допустимое количество примесей в лекарственном веществе может быть определено также путем титрования (например, количество HI в 10% спиртовом растворе йода определяют титрованием NaOH), хроматографическим методом (например, посторонние стероиды в преднизолоне), колориметрическим, спектрофотометрическим и др. методами.

Для определения примесей химическими реакциями используются специфические и высокочувствительные реакции. Специфическими являются реакции, позволяющие обнаружить одни вещества в присутствии других.

Специфичность реакции во многом зависит от выбора оптимальных условий (создание необходимой реакции среды и др.). Чувствительность реакции характеризуется наименьшим количеством исследуемого вещества, которое может быть определено с помощью соответствующих реактивов в определенных условиях.

При испытании на чистоту должны соблюдаться требования ГФ, изложенные в общих замечаниях:

1. Вода и реактивы должны быть свободны от ионов, на которые проводится испытание.

2. Пробирки, в которых проводятся наблюдения, должны быть бесцветными и иметь одинаковый диаметр, чтобы столб жидкости был одинаковым в обеих пробирках.

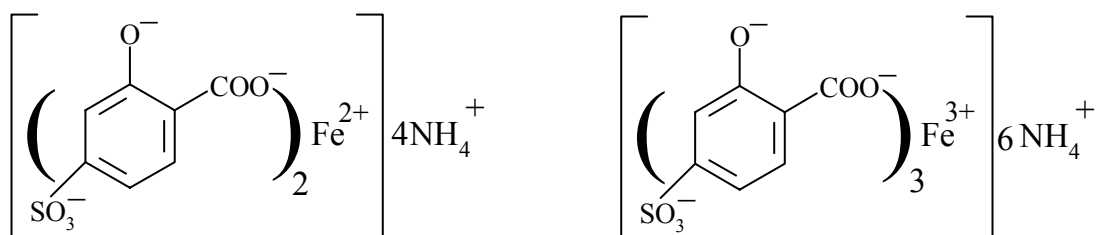
3. Добавление реактивов к испытуемому и эталонному растворам должно проводиться одновременно и в одинаковых количествах.

4. В случаях, когда в соответствующей статье ГФ указано, что в данной концентрации раствора не должно обнаруживаться той или иной примеси поступают следующим образом: к испытуемому раствору прибавляют применяемые для каждой реакции, приведенные в статье реактивы, кроме основного, открывающего данную примесь. Раствор делят на две равные части: к одной из них прибавляют основной реактив. Оба раствора сравнивают. Между ними не должно быть различий.

5. Окраску сравнивают при дневном отраженном свете на матово-белом фоне. Степень мутности определяют, сравнивая пробирки в проходящем свете на темном фоне.

Для проведения испытания на определение нормированного предела содержания примеси готовят раствор препарата (концентрация указана в соответствующей частной статье). Затем готовят эталонный раствор примесного иона или вещества той концентрации, которая соответствует требованию ГФ к содержанию данной примеси в препарате.

Для установления содержания примеси проводят цветную реакцию или реакцию осаждения на испытуемую примесь, как в анализируемом препарате, так и в эталонном растворе. Сравнивают интенсивность окраски или степень мутности в обеих пробирках. Например, содержание ионов железа определяют с сульфосалициловой кислотой в аммиачной среде, которая с ионами Fe^{3+} и Fe^{2+} образует феррилсульфосалицилатные комплексы, окрашенные в зависимости от концентрации примеси в желтый или коричнево-красный цвета:



Сравнивают окраску, полученную в анализируемом растворе с окраской в эталонном растворе, который содержит определенную, известную концентрацию ионов железа. Если окраска в испытуемом растворе превышает окраску эталонного раствора, то количество ионов железа превышает допустимый предел.

При определении примесей в частных статьях ГФ указана навеска препарата, которую нельзя уменьшать, поскольку в меньшем количестве вещества искомая примесь может быть не обнаружена. В некоторых случаях навески препаратов берутся довольно большие и, после приготовления растворов из них, проводят испытания на ряд примесей. Так, после растворения 16,0 г натрия хлорида в 160 мл воды проводят в отдельных частях этого объема испытания на: «Прозрачность и цветность», «Кислотность или щелочность», «Кальций», «Магний», «Барий», «Железо», «Тяжелые металлы».

Например, для натрия гидрокарбоната в частной статье в разделе «Прозрачность и цветность» указано, что раствор 0,5 г препарата в 10 мл воды должен быть бесцветным и по мутности не превышать эталон № 4.

Для определения бесцветности полученного раствора берут две одинаковые пробирки бесцветного стекла; в одну помещают 5 мл полученного раствора, в другую – 5 мл воды очищенной. Рассматривают сверху обе жидкости на матово-белом фоне через весь слой. Если нет различий, то раствор считается бесцветным.

Для определения менее растворимых примесей в натрия гидрокарбонате (нерастворимые карбонаты некоторых металлов), оставшиеся 5 мл раствора наливают в пробирку, в такую же пробирку наливают 5 мл этало-

на мутности № 4. Сравнивают растворы при освещении электрической лампой матового стекла мощностью 40 Вт на черном фоне при вертикальном расположении пробирок. Если муть в испытуемом растворе превышает муть в эталонном растворе, то количество менее растворимых примесей в натрия гидрокарбонате превышает допустимый предел.

На примере натрия гидрокарбоната видно, как ужесточаются требования к качеству лекарственных средств, используемых для инъекций. Для натрия гидрокарбоната, из которого готовят растворы для инъекций, также проводят дополнительное испытание. Его 5% раствор должен быть прозрачным и бесцветным.

Примесные соединения и ионы в лекарственных средствах могут быть в результате недостаточной очистки при получении лекарственных средств, или могут появиться в процессе хранения под действием таких факторов окружающей среды, как влага, свет, кислород или диоксид углерода воздуха, тара и др.

Для установления чистоты лекарственных веществ используют физические, химические и физико-химические методы анализа (см выше разделы «Характеристика внешнего вида» и «Растворимость»).

3. Определение прозрачности и степени мутности жидкостей.

Определение окраски жидкостей.

При оценке качества ряда лекарственных средств ГФ предусматривает определение прозрачности, бесцветности, степени мутности или окраски их растворов. Прозрачным считается раствор, в котором не наблюдается присутствие нерастворенных частиц, кроме единичных волокон. Раствор сравнивают с растворителем, взятым для приготовления данной жидкости, на черном фоне. Бесцветными считаются жидкости, не отличающиеся по цвету от воды, а при испытании иных растворов – от взятого растворителя. Испытание проводят, сравнивая жидкости при дневном отраженном свете на матово-белом фоне.

Если необходимо определить количество менее растворимых, чем лекарственное вещество примесей, или количество окрашенных примесей, то растворы сравнивают с эталонами мутности и цветности. Приготовление эталонных растворов описано в общих ФС: «Определение прозрачности и степени мутности жидкостей» и «Определение окраски жидкостей». При определении степени окраски или мутности жидкости берут в равных объёмах (не менее 5 мл). Пробирки, в которых проводится определение, должны быть одинакового диаметра, стекло их должно быть одинаковой окраски.

Освоение методик анализа чистоты лекарственных средств студентами осуществляется на примере воды очищенной.

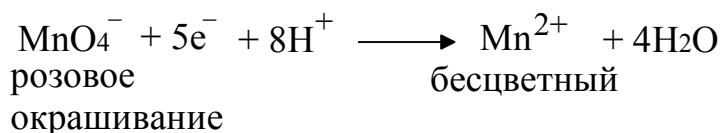
Aqua purificata. Вода очищенная.

Вода очищенная получается методом дистилляции, обратным осмосом, ионным обменом и др. методами. Это наиболее часто используемый растворитель для лекарственных веществ. На воде очищенной готовят микстуры, жидкости для наружного применения. На воде для инъекций готовят инъекционные растворы, глазные капли.

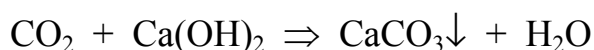
Вода очищенная должна соответствовать определенным требованиям в отношении чистоты. Это должна быть бесцветная, прозрачная жидкость без запаха и вкуса. Значение величины рН воды очищенной должно лежать в пределах 5 – 7. Определение, по требованиям ГФ, должно проводиться потенциометрическим методом.

В воде очищенной определяют сухой остаток после выпаривания 100 мл. После высушивания при 100 – 105°C до постоянного веса остаток не должен превышать 0,001%.

В воде очищенной не должно быть восстанавливающих веществ (остатки микроорганизмов). Это определение проводят путем кипячения 100 мл воды, 1 мл 0,01 н раствора KMnO_4 и 2 мл разведенной H_2SO_4 в течение 10 минут. Розовая окраска раствора должна сохраниться. Если же в воде очищенной присутствуют восстанавливающие вещества, то розовая окраска KMnO_4 исчезнет:



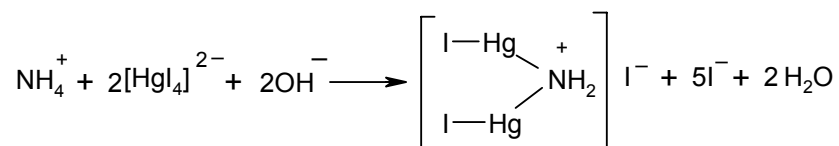
Вода легко поглощает CO_2 . Этого примесного вещества в воде очищенной не должно быть. Обнаруживают его по помутнению с известковой водой ($\text{Ca}(\text{OH})_2$). Определение ведут в закрытом сосуде, заполненном доверху равными объёмами испытуемой воды и воды известковой в течение часа. Помутнение укажет на наличие CO_2 в воде очищенной:



В воде очищенной должны отсутствовать нитраты и нитриты, которые определяют по посинению раствора дифениламина (химизм см. стр. 86).

Раствор дифениламина готовят на концентрированной H_2SO_4 .

Примесный ион аммония в воде очищенной допускается в количестве не более 0,00002%. Для оценки регламентированного количества аммиака в воде необходимо использовать эталонный раствор, содержащий 0,00002% аммиака. В испытуемой воде и в эталонном растворе проводим реакцию с реактивом Несслера (раствор K_2HgI_4 в KOH). Окраска в испытуемой воде не должна превышать окраску в эталонном растворе:



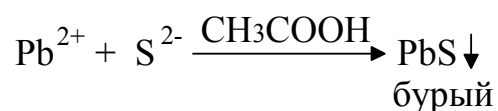
В воде очищенной должны отсутствовать хлориды, сульфаты, ионы кальция и тяжелых металлов. Хлорид-ионы открывают по реакции с раствором $AgNO_3$ в присутствии HNO_3 (химизм см. стр. 88).

Не должно быть помутнения или опалесценции. Азотная кислота делает реакцию специфичной, так как осадки $AgNO_3$ с другими ионами (за исключением Br^- и I^- -ионов) в HNO_3 растворяются.

Сульфаты обнаруживаются по реакции с раствором $BaCl_2$ в присутствии HCl , в которой растворяются осадки иона бария с другими ионами, например, SO_3^{2-} , CO_3^{2-} (химизм см. стр. 87). Не должно быть помутнения.

Ионы кальция обнаруживаются с раствором оксалата аммония в присутствии аммиачного буфера, создающего оптимальные условия для реакции, $pH = 6,0 - 7,5$ (химизм см. стр. 83). Не должно быть помутнения.

Ионы тяжелых металлов обнаруживаются по реакции с раствором натрия сульфида в среде кислоты уксусной. По данной реакции обнаруживают ионы тяжелых металлов, дающие с S^{2-} -ионами темные осадки. Так как концентрация ионов крайне мала, то наличие примесей ионов тяжелых металлов характеризуется появлением бурого окрашивания:



Микробиологическая чистота должна соответствовать требованиям на питьевую воду (не более 100 микроорганизмов в 1 мл) при отсутствии бактерий сем. *Enterobacteriaceae*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*. Испытания проводят в соответствии со статьей «Испытание на микробиологическую чистоту».

Хранится вода очищенная в закрытых емкостях, изготовленных из материалов, не изменяющих свойств воды и защищающих её от инородных частиц и микробиологических загрязнений.

Aqua pro injectionibus. Вода для инъекций.

Вода для инъекций должна отвечать требованиям, предъявляемым к воде очищенной. Кроме того, вода для инъекций должна быть апиrogenной, не содержать антимикробных веществ и других добавок. Определение пирогенности проводят в соответствии со статьей "«Испытание на пирогенность"»

Для определения пирогенности инъекционных препаратов и, в том числе, воды для инъекций в настоящее время используют ЛАЛ-реактив, наряду с испытаниями на кроликах. Имеется ФС «Бактериальные эндотоксины», в которой описаны требования к ЛАЛ-реактиву, процедура анализа, расчеты предельного содержания бактериальных эндотоксинов.

ЛАЛ-тест может быть использован в медицине для ранней диагностики заболеваний, вызванных грамотрицательными бактериями. С его помощью можно быстро обнаружить бактериальные эндотоксины. Основан тест на способности лизата амебоцитов (клеток крови) мечехвоста *Limulus polyphemus* (Лизат Амебоцитов Лимулюс – ЛАЛ-реактив) специфически реагировать с эндотоксинами бактерий (липополисахаридами). Реакция между эндотоксинами и лизатом дает помутнение реакционной смеси и увеличение её вязкости вплоть до образования плотного геля. Такой результат является доказательством присутствия эндотоксинов. Анализ называется гель-тромб-тест. Метод используется для определения реального содержания бактериальных эндотоксинов предельному содержанию бактериальных эндотоксинов, указанному в частной статье ГФ (качественный анализ), а также для определения содержания бактериальных эндотоксинов в испытуемом препарате (количественный анализ).

Основным методом проведения анализа на соответствие показателю «Бактериальные эндотоксины» является качественный анализ. Если в частной статье ГФ нет других указаний, анализ проводится с помощью качественного анализа. Этот метод является также арбитражным.

ЛАЛ-реактив представляет собой лиофилизированный препарат. Вода для ЛАЛ-теста должна соответствовать требованиям, которые предъявляются к «Воды для инъекций». Она не должна содержать бактериальные эндотоксины в количествах, определяемых используемым ЛАЛ-реактивом в данном тесте.

Преимущество данного теста перед тестом на кроликах заключается в его высокой чувствительности. Кроме того, определение не требует много времени, так как результат может быть получен через 30-60 минут.

Для производства ЛАЛ-реактивов используют кровь мечехвостов.

Используют воду для инъекций свежеприготовленной или хранят при температуре от 5°C до 10°C или от 80°C до 95°C в закрытых ёмкостях,

изготовленных из материалов, не изменяющих свойств воды, защищающих воду от попадания механических включений и микробиологического загрязнения, но не более 24 ч.

IV. КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

Для количественного определения индивидуальных лекарственных веществ предпочтительнее использовать титриметрические методы. При этом особое внимание, как правило, обращают на правильность и воспроизводимость метода, который может быть специфичным. Не потерял своего значения и гравиметрический метод.

В зависимости от типа реакций, лежащих в основе каждого метода, титриметрические методы разделяют на 4 группы: осадительные; кислотно-основные; комплексонометрические; окислительно-восстановительные. Они отличаются друг от друга природой используемых равновесий, индикаторами, стандартными растворами, а также способом определения эквивалентной массы.

Наряду с этой классификацией часто применяют разделение объемных методов соответствии с типом веществ, используемых в качестве титрантов, например алкалиметрия, ацидиметрия, аргентометрия, комплексонометрия, перманганатометрия, йодометрия и др.

По способу проведения титрования различают методы прямого и обратного титрования.

Химические титриметрические методы количественного анализа имеют относительную погрешность в пределах 0,3 – 0,5%, при массе определяемого вещества 0,1 – 0,5 г. Причинами ошибок являются измерительные инструменты (весы, мерные колбы, пипетки, бюретки) и фиксирование конечной точки титрования.

Расчеты при титровании

Концентрацию индивидуального лекарственного вещества рассчитывают в процентах.

Концентрацию ингредиента в смеси или его содержание рассчитывают в тех единицах, в каких данный ингредиент выписан в прописи.

При прямом титровании концентрацию индивидуального лекарственного вещества или ингредиентов смеси в процентах (в жидких лекарственных формах, мазях, порошках) рассчитывают по формуле:

$$C_{(\%)} = \frac{V \cdot k \cdot T \cdot 100}{a} \quad (21)$$

где C – концентрация определяемого вещества, в %;
 V – объем титрованного раствора, в мл;
 k – коэффициент поправки на титрованный раствор;
 T – титр по определяемому веществу (титриметрический фактор пересчета);
 a – масса (в г) или объем (в мл) анализируемого лекарственного вещества или масса (объем) лекарственной смеси.

Титр по определяемому веществу (или титриметрический фактор пересчета) – это масса анализируемого вещества (в г), взаимодействующая с 1 мл титрованного раствора.

Титриметрический фактор пересчета («титр») рассчитывают по формуле:

$$T = \frac{C \cdot M\left(\frac{1}{Z}\right)}{1000} \quad (22)$$

где C – молярная концентрация титранта в моль/л;

$M\left(\frac{1}{Z}\right)$ – молярная масса эквивалента определяемого вещества в г/моль.

Титриметрический фактор пересчета – величина постоянная для данного лекарственного вещества, определяемого конкретным титриметрическим методом с известной концентрацией титранта.

Содержание ингредиентов лекарственной смеси в граммах (в жидких лекарственных формах, порошках, мазях) рассчитывают по формулам:

$$X_{(г)} = \frac{V \cdot k \cdot T \cdot V_1}{a} \quad (23)$$

$$X_{(г)} = \frac{V \cdot k \cdot T \cdot P}{a} \quad (24)$$

где X – масса определяемого лекарственного вещества, в г;
 V – объем титрованного раствора, в мл;

V_1 – объем жидкой лекарственной формы по прописи, в мл;
 P – общая масса порошка, мази по прописи, в г;
 a – объем, в мл, или масса, в г, лекарственной формы,
 отобранные для анализа;
 k – поправочный коэффициент.

Если при анализе порошка или жидкой лекарственной формы предварительно делали разведение и для титрования использовали часть полученного разведения (A), то концентрацию определяемого вещества рассчитывают по формуле:

$$C_{(\%)} = \frac{V \cdot k \cdot T \cdot 100\% \cdot B}{a \cdot A} \quad (25)$$

где B – объем мерной колбы, в мл;
 A – объем разведенного раствора, отобранный для титрования
 (аликвотная доля), в мл.

При необходимости выразить содержание анализируемого вещества в граммах, в числитель вместо цифры 100 подставляют величину общей массы (P , в г) или объема (V_1 , в мл) лекарственной формы:

$$X_{(г)} = \frac{V \cdot k \cdot T \cdot B \cdot P}{a \cdot A} \quad (26)$$

$$X_{(г)} = \frac{V \cdot k \cdot T \cdot B \cdot V_1}{a \cdot A} \quad (27)$$

При *обратном титровании* (или титровании по избытку) используют два титрованных раствора. Тогда концентрацию ингредиентов в % (в жидких лекарственных формах, мазях, порошках) рассчитывают по формуле:

$$C_{(\%)} = \frac{(V_1 \cdot k_1 - V_2 \cdot k_2) \cdot T \cdot 100}{a} \quad (28)$$

где V_1 – объем первого титранта, взятого в избытке, в мл;

k_1 – коэффициент поправки на первый титрованный раствор;
 V_2 – объем второго титранта, затраченного на титрование избытка первого титрованного раствора, в мл;
 k_2 – коэффициент поправки на второй титрованный раствор;
 остальные обозначения см. в формуле (21).

Содержание ингредиентов в граммах (в жидких лекарственных формах, порошках, мазях) рассчитывают по формулам:

$$X_{(г)} = \frac{(V_1 \cdot k_1 - V_2 \cdot k_2) \cdot T \cdot V_3}{a} \quad (29)$$

$$X_{(г)} = \frac{(V_1 \cdot k_1 - V_2 \cdot k_2) \cdot T \cdot P}{a} \quad (30)$$

где V_3 – объем жидкой лекарственной формы по прописи, в мл;
 P – общая масса порошка, мази по прописи, в г;
 остальные обозначения см. в формуле (21).

В экспресс-анализе иногда проводят *контрольный (холостой) опыт* при прямом и обратном способах титрования. Контрольный опыт в случае *прямого титрования* проводят при:

- алкалиметрическом титровании веществ в мазях (контрольный опыт проводится с мазевой основой, обладающей собственной кислотностью);
- алкалиметрическом титровании с использованием растворителей, обладающих кислотными свойствами (спирт, ацетон);
- комплексонометрическом титровании в малых количествах солей Ca^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+} 0,01 М раствором трилона Б;
- нитритометрическом определении малых количеств лекарственных веществ 0,02 М раствором натрия нитрита с использованием внутренних индикаторов (например, тропеолина 00 в смеси с метиленовым синим, так как некоторое количество титранта расходуется на нитрозирование тропеолина 00).

В приведенных примерах концентрацию определяемого вещества в процентах и в граммах вычисляют с учетом контрольного опыта по формулам:

$$C_{(\%)} = \frac{(V_{o.o} - V_{k.o}) \cdot k \cdot T \cdot 100}{a} \quad (31)$$

$$X_{(г)} = \frac{(V_{o.o} - V_{k.o}) \cdot k \cdot T \cdot P}{a} \quad (32)$$

где $V_{o.o}$ – объем титрованного раствора, израсходованный на титрование определяемого вещества, в мл;

$V_{k.o}$ – объем титрованного раствора, израсходованный на титрование контрольного опыта, в мл;

P – масса порошка или мази, в г;

остальные обозначения см. в формуле (21).

При прямом ацидиметрическом титровании некоторых лекарственных веществ (гексаметилентетрамин, калия ацетат, натрия бензоат и др.) контрольный опыт проводится с целью сравнения перехода окраски индикатора в точке эквивалентности в анализируемом и контрольном растворах. В этом случае количество титрованного раствора, израсходованное на титрование в контрольном опыте, при расчетах не учитывается.

В экспресс-анализе проведение контрольного опыта в случае *обратного титрования* необходимо при:

– йодометрическом определении некоторых лекарственных веществ (антипирина, бензилпенициллина калиевой соли, глюкозы и др.);

– броматометрическом определении препаратов группы фенолов;

– при йодхлорметрическом определении метилурацила, этакридина-лактата;

– перманганатометрическом определении натрия нитрита.

Концентрацию определяемого вещества в процентах и в граммах вычисляют с учетом контрольного опыта по формулам:

$$C_{(\%)} = \frac{(V_{k.o} - V_{o.o}) \cdot k \cdot T \cdot 100}{a} \quad (33)$$

$$X_{(г)} = \frac{(V_{k.o} - V_{o.o}) \cdot k \cdot T \cdot P}{a} \quad (34)$$

где $V_{k.o}$ – объем второго титранта, пошедший на титрование контрольного опыта, в мл;

$V_{o.o}$ – объем второго титранта, пошедший на титрование

основного опыта, в мл;
 P – масса порошка или мази, в г;
 остальные обозначения см. в формуле (21).

Кроме того, *контрольный опыт* ставят, если необходимо отфильтровать осадок и титровать избыток раствора в аликвотной части фильтрата. В этом случае расчет ведут по формулам:

$$C_{(\%)} = \frac{(V_{к.о} - V_{о.о}) \cdot k \cdot T \cdot B \cdot 100}{a \cdot A} \quad (35)$$

$$X_{(г)} = \frac{(V_{к.о} - V_{о.о}) \cdot k \cdot T \cdot B \cdot P}{a \cdot A} \quad (36)$$

где B – объем мерной колбы (в мл);
 A – объем фильтрата, взятого на титрование (в мл);
 P – масса порошка или мази (в г);
 остальные обозначения см. в формуле (21).

При *заместительном титровании*, т.е. титровании вещества, образующегося в результате реакции в количестве, эквивалентом определяемому компоненту, расчет ведут, как при прямом титровании, но титриметрический фактор пересчета определяют не по титруемому заместителю, а по определяемому веществу. Например, при пропускании через катионитную колонку натрия цитрата образуется эквивалентное количество лимонной кислоты, которую титруют стандартным раствором натрия гидроксида. При расчете титр определяют по натрия цитрату, а не по лимонной кислоте.

При *определении по разности* лекарственные вещества титруют суммарно общим для них методом, а затем один из компонентов анализируют другим методом, при котором второй компонент не мешает определению. Вычисление по разности включает несколько вариантов в зависимости от типа протекающих реакций.

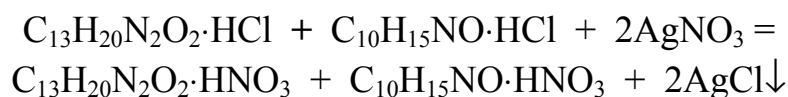
Если при титровании разными методами молярные массы эквивалентов – $M(1/z)$ – анализируемых веществ не меняются, то объем титрованного раствора (V_1), пошедший на титрование вещества, определяемого по разности, рассчитывают по алгебраической разности между объемом, затраченным на титрование суммы веществ (V_c), и объемом другого титрованного раствора (V_2), израсходованного на титрование второго вещества:

$$V_1 = V_c - V_2 \quad (37)$$

Такой расчет справедлив, если при титровании использовали одинаковые массы (объемы) лекарственной смеси и одинаковые концентрации титрованных растворов. Разберем это на примере прописи:

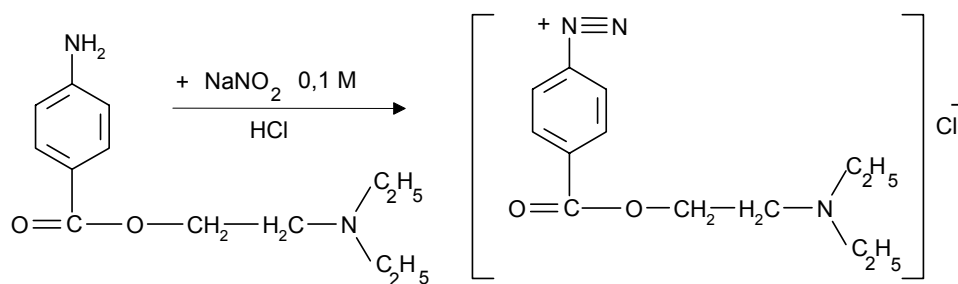
Эфедрина гидрохлорида 0,6
Новокаина 0,9
Воды очищенной до 120 мл

Для количественного определения новокаина и эфедрина гидрохлорида вначале в аликвотной доле титруют сумму двух лекарственных веществ 0,1 н. раствором серебра нитрата:



Согласно уравнению реакции, значение “z” при расчете M (1/z) для каждого лекарственного вещества равно 1.

Затем проводят второе титрование в аликвотной доле 0,1 М раствором натрия нитрита для определения новокаина:



Величина “z” для новокаина и в этой реакции равна 1. Эфедрин в этом случае не мешает определению новокаина и объем 0,1 М раствора натрия нитрита эквивалентен только количеству новокаина.

Расчет содержания новокаина проводят по формуле:

$$X_{\text{новокаин (г)}} = \frac{V_{\text{NaNO}_2} \cdot k_{\text{NaNO}_2} \cdot T_{\text{NaNO}_2/\text{новок}} \cdot V_{\text{лек. формы}}}{V_{\text{аликв.}}} \quad \text{см. формулу (23)}$$

Количество эфедрина гидрохлорида рассчитывают по разности между объемом 0,1 н. раствора серебра нитрата (пошедшего на титрование суммы новокаина и эфедрина гидрохлорида) и объемом 0,1 М раствора натрия нитрита, пошедшего на титрование новокаина:

$$X_{\text{эфедр. (г) / г/х}} = \frac{(V_{\text{AgNO}_3} \cdot k_{\text{AgNO}_3} - V_{\text{NaNO}_2} \cdot k_{\text{NaNO}_2}) \cdot T_{\text{AgNO}_3 / \text{эфедр}} \cdot V_{\text{лек. формы}}}{V_{\text{аликв.}}}$$

см. формулу (37)

В случае если для количественного определения используют *разные массы (объемы)* лекарственной смеси, то в расчетной формуле это учитывают следующим образом: предположим, что для определения суммы новокаина и эфедрина гидрохлорида взяли аликвотную долю объемом 2 мл (титрант – 0,1 н. раствор серебра нитрата), а для титрования новокаина – 1 мл (титрант – 0,1 М раствор натрия нитрита), тогда при расчете содержания эфедрина гидрохлорида объем раствора натрия нитрита, пошедший на титрование новокаина, умножают на два и расчетная формула приобретает вид:

$$X_{\text{эфедр. (г) / г/х}} = \frac{(V_{\text{AgNO}_3} \cdot k_{\text{AgNO}_3} - 2 V_{\text{NaNO}_2} \cdot k_{\text{NaNO}_2}) \cdot T_{\text{AgNO}_3 / \text{эфедр}} \cdot V_{\text{лек. формы}}}{2,0}$$

см. формулу (37)

И наоборот, когда для титрования суммы новокаина и эфедрина гидрохлорида берут 1,0 мл раствора лекарственной формы, а для определения новокаина – 2 мл, то объем натрия нитрита, пошедший на титрование, следует разделить на два:

$$X_{\text{эфедр. (г) / г/х}} = \frac{(V_{\text{AgNO}_3} \cdot k_{\text{AgNO}_3} - \frac{V_{\text{NaNO}_2}}{2} \cdot k_{\text{NaNO}_2}) \cdot T_{\text{AgNO}_3 / \text{эфедр}} \cdot V_{\text{лек. формы}}}{1,0}$$

см. формулу (37)

Данные формулы расчета справедливы при использовании титрованных растворов одинаковых концентраций, т.е. в данном случае необходимо только приведение к одному объему аликвотной части или к одной массе.

Использование *различных концентраций титрованных растворов* в процессе количественного определения ингредиентов смеси отражаются в формуле следующим образом: предположим, что для определения суммы новокаина и эфедрина гидрохлорида использовали 0,1 н. раствор серебра нитрата, а для титрования новокаина – 0,02 М раствор натрия нитрита. При этом аликвотные доли в первом и во втором случаях были равны. В данном примере на титрование навески новокаина пойдет в пять раз больше 0,02 М раствора натрия нитрита, чем 0,1 н. раствора серебра нитрата. Поэтому при расчете содержания эфедрина гидрохлорида по разности для приведения объемов титрантов к одной концентрации объем раствора натрия нитрита делят на пять:

$$X_{\text{эфедр. (г) / г/х}} = \frac{(V_{\text{AgNO}_3} \cdot k_{\text{AgNO}_3} - \frac{V_{\text{NaNO}_2}}{5} \cdot k_{\text{NaNO}_2}) \cdot T_{\text{AgNO}_3/\text{эфедр}} \cdot V_{\text{ллек. формы}}}{V_{\text{аликв.}}}$$

см. формулу (37)

Более сложным случаем расчета является схема анализа, когда для определения содержания ингредиентов берут *разные аликвотные доли и титрование проводят стандартными растворами различной концентрации*.

Например, для анализа новокаина берут аликвотную долю 2,0 мл и титрование проводят 0,02 М раствором натрия нитрита; сумму новокаина и эфедрина гидрохлорида определяют в аликвотной доле 0,5 мл и титрование проводят 0,1 н. раствором серебра нитрата. Для пересчета объема 0,02 М раствора натрия нитрита, эквивалентного 0,1 н. раствору серебра нитрата, объем натрия нитрита делят на пять. Объем раствора натрия нитрита при определении новокаина в 2,0 мл смеси будет в четыре раза превышать объем этого же титранта, пошедший на титрование новокаина в навеске, равной 0,5 мл смеси. Расчет по разности приобретает следующий вид:

$$X_{\text{эфедр. (г) / г/х}} = \frac{(V_{\text{AgNO}_3} \cdot k_{\text{AgNO}_3} - \frac{V_{\text{NaNO}_2}}{5 \cdot 4} \cdot k_{\text{NaNO}_2}) \cdot T_{\text{AgNO}_3/\text{эфедр}} \cdot V_{\text{ллек. формы}}}{0,5}$$

см. формулу (37)

Т.е. в данном случае необходимо сделать приведение к одному объему аликвотной доли и одной концентрации титрантов.

При использовании *расчетов по разности* необходимо максимально устранить неточности при определении сопутствующих ингредиентов (особенно если их три и более в составе одной смеси), так как допущенные ошибки существенно сказываются на результате количественного определения вещества, рассчитываемого по разности.

При разработке схемы количественного анализа необходимо учесть, как определить по разности вещество, содержащееся в прописи в значительно большем количестве. Так, определение натрия тиосульфата проводят методом йодометрии, кальция хлорид титруют раствором трилона Б, а натрия хлорид определяют по методу Фольгарда. Количества натрия тиосульфата и кальция хлорида рассчитывают отдельно по объемам йода (V_{I_2}) и трилона Б ($V_{Тр.Б}$). Количество натрия хлорида рассчитывают по разности ($V_{AgNO_3} - V_{NH_4CNS}$) – ($V_{I_2} - V_{Тр.Б}$):

$$C_{NaCl (г)} = \frac{(V_1 \cdot k_1 - V_2 \cdot k_2) - (V_3 \cdot k_3 + V_4 \cdot k_4) \cdot T_{AgNO_3 / NaCl} \cdot V_{\text{лек. формы}}}{V_{\text{аликв.}}}$$

см. формулу 37

где V_1 – объем 0,1 н. раствора серебра нитрата, взятого в избытке, в мл;

V_2 – объем 0,1 н. раствора аммония роданида, пошедшего на титрование избытка серебра нитрата, в мл;

V_3 – объем 0,1 н. раствора йода, пошедшего на титрование натрия тиосульфата, в мл;

V_4 – объем 0,01 М раствора трилона Б, пошедшего на титрование кальция хлорида, в мл.

Концентрация трилона Б выражена в молярных единицах, а остальных растворов – в виде нормальной концентрации. Поскольку при титровании кальция хлорида раствором трилона Б значение «z» равно 2, необходимо молярную концентрацию трилона Б (C_M) перевести в нормальную (C_N) и только после этого объем трилона Б использовать при вычислении по разности:

$$C_M = \frac{C_N \cdot M \left(\frac{1}{Z}\right)}{M}, \text{ отсюда } C_N = \frac{C_M \cdot M}{M \left(\frac{1}{Z}\right)} \quad (38)$$

Подробно титриметрические методики рассматриваются в соответствующих главах данного пособия.

Анализ лекарственных форм все чаще проводят с помощью физико-химических методов (ВЭЖХ, ГЖХ, УФ-спектрофотометрия, рефрактометрия), которые были рассмотрены выше. Именно при анализе многокомпонентных смесей, каковыми и является большинство лекарств в соответствующих лекарственных формах, раскрываются преимущества физико-химических методов.

Тема 2. АНАЛИЗ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ НЕОРГАНИЧЕСКОЙ ПРИРОДЫ. ПРЕПАРАТЫ ВОДОРОДА ПЕРОКСИДА. ПРОИЗВОДНЫЕ ГАЛОГЕНОВ. НАТРИЯ НИТРИТ. НАТРИЯ ТИОСУЛЬФАТ

Большинство лекарственных веществ неорганической природы являются электролитами, поэтому их анализ (качественный и количественный) связан с определением ионов. Идентификация специфических примесей также связана с определением посторонних катионов или анионов.

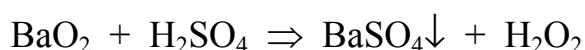
1. ПРЕПАРАТЫ ВОДОРОДА ПЕРОКСИДА

Водорода пероксид (H_2O_2) – бесцветная жидкость с температурой кипения $152\text{ }^\circ\text{C}$. Повышение температуры кипения (по сравнению с водой) связано с ассоциацией молекул за счет образования водородных связей, что приводит к повышению вязкости жидкости.

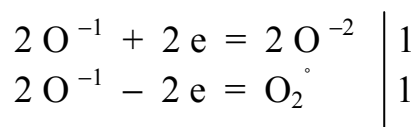
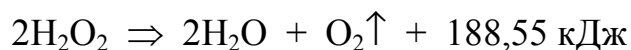
В отличие от воды водорода пероксид проявляет слабые кислотные свойства:



Соли водорода пероксида неустойчивы. При действии на них растворов минеральных кислот выделяется водорода пероксид:



Водорода пероксид обладает свойствами, как окислителя, так и восстановителя и диспропорционирует с образованием воды и кислорода:

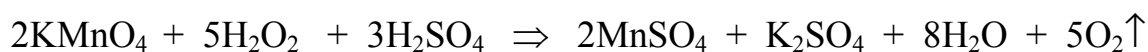


Процесс катализируют свет, марганца (IV) оксид, ионы тяжелых металлов, щелочи. Кислоты карбоновые и их амиды стабилизируют растворы водорода пероксида. В качестве стабилизатора раствора водорода пероксида концентрированного используют натрия бензоат.

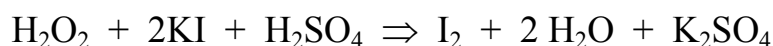
Препаратами водорода пероксида являются:

- раствор водорода пероксида концентрированный, пергидроль (Solutio Hydrogenii peroxydi concentrata), содержание водорода пероксида 30%;
- раствор водорода пероксида (Solutio Hydrogenii peroxydi diluta), содержание водорода пероксида 3%;
- магния пероксид (Magnesii peroxydum), смесь пероксида и оксида магния;
- гидроперит (Hydroperitum), комплексное соединение водорода пероксида с мочевиной.

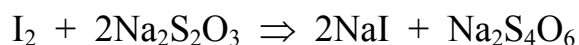
Окислительно-восстановительные свойства водорода пероксида используют для идентификации и количественного определения его в препаратах. Так реакция окисления водорода пероксида стандартным раствором марганца перманганата лежит в основе его количественного перманганатометрического количественного определения:



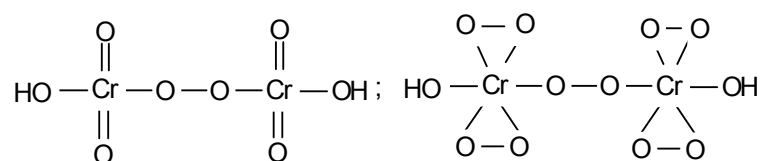
При взаимодействии с выраженными восстановителями (например, с калия йодидом) водорода пероксид ведет себя как окислитель:



Данную реакцию можно использовать как для идентификации, так и для количественного определения водорода пероксида и его препаратов. В последнем случае выделившийся йод оттитровывают стандартным раствором натрия тиосульфата:



Специфичной реакцией на водорода пероксид является образование кислот надхромовых, образующихся при взаимодействии его с раствором калия дихромата. Состав кислот надхромовых зависит от условий проведения реакции (температуры, pH, концентрации водорода пероксида):



Данные вещества, содержащие пероксидную цепочку, крайне неустойчивы, особенно в таком полярном растворителе, как вода. Синий цвет,

характерный для них быстро исчезает в воде и раствор приобретает зеленую окраску за счет образования солей трехвалентного хрома. Добавление неполярного растворителя – эфира диэтилового, в котором кислоты надхромовые устойчивы, сохраняет синий цвет продуктов реакции.

2. ПРОИЗВОДНЫЕ ГАЛОГЕНОВ

Неорганические лекарственные вещества производные галогенов делятся на две группы. К первой принадлежат препараты свободного (в молекулярном состоянии) галогена – йода. Действие таких препаратов, как известь хлорная (действующее вещество – кальция хлорид-гипохлорит), хлорамин и пантоцид (хлорпроизводные бензолсульфамида) также основано на выделении молекулярного галогена – хлора. Препараты свободных галогенов применяют в качестве антисептиков. Препараты йода используют и перорально при лечении атеросклероза, хронических воспалительных процессов в дыхательных путях, гипертиреоза и некоторых других заболеваний, для профилактики эндемического зоба.

Ко второй группе относятся кислота хлороводородная и лекарственные средства, являющиеся солями галогеноводородных кислот (калия и натрия хлориды, бромиды и йодиды, натрия фторид).

Йод и его спиртовые растворы

Таблица 1. Общие свойства йода и его препаратов

Название лекарства	Описание
Iodum. Йод. (I)	Серовато-черные с металлическим блеском пластинки или сrostки кристаллов характерного запаха. Летуч при комнатной температуре, при нагревании возгоняется, образуя фиолетовые пары. Очень мало растворим в воде, легко растворим в водном растворе йодидов, растворим в 10 ч. 95% спирта, эфире и хлороформе.
Solutio Iodi spirituosa 1%, 2%, 3% aut 5%. Раствор йода спиртовой 1%, 2%, 3% или 5%	Прозрачная жидкость красно-бурого цвета с характерным запахом.

Йод

Практически во всех химических взаимодействиях йод проявляет окислительные свойства. Исключение составляют реакции, где йод реагирует с сильными окислителями, такими как молекулярный хлор, калия перманганат и некоторыми другими. При этом образуются соединения, в которых атомы йода имеют положительную степень окисления – йодмоноклорид, гипойодиты и йодаты. Как и другие галогены, йод диспропорционирует в растворах щелочей.

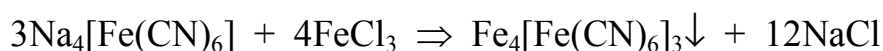
Подлинность йода подтверждают реакцией водных растворов лекарственного вещества с крахмалом, в результате которой образуется синее окрашивание.

Для определения примесей нерастворимых и окрашенных веществ к указанной в НД навеске растертого йода добавляют раствор с избыточным по отношению к лекарственному веществу количеством натрия тиосульфата. Получившийся раствор должен быть прозрачным и бесцветным.

В соответствии с НД йод не должен содержать примеси йодистого циана. Наличие примеси йодистого циана определяют в несколько этапов по образованию берлинской лазури – гексацианоферрат (II) железа (III). Вначале йод обесцвечивают раствором кислоты сернистой:

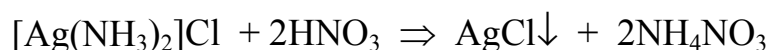


Затем проводят реакцию образования берлинской лазури. Для этого прибавляют 1 каплю раствора железа (II) сульфата, 1 каплю раствора железа (III) хлорида и 0,5 мл раствора натрия гидроксида. Смесь слабо нагревают и подкисляют кислотой хлороводородной разведенной. Появление синего окрашивания свидетельствует о наличии в лекарственном веществе примеси йодистого циана:



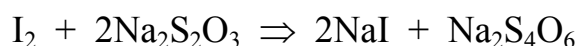
Для определения примеси хлоридов йод предварительно обесцвечивают раствором кислоты сернистой (см. выше). Далее к полученному раствору добавляют в избыточном количестве по отношению к кислоте сернистой раствор аммиака и избыток по отношению к галогенидам раствор серебра нитрата. В среде аммиака серебра йодид и серебра бромид выпа-

дают в осадок, а серебра хлорид растворяется с образованием комплексного соединения $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]\text{Cl}$ – серебра диаммиохлорида. После фильтрования к бесцветному фильтрату добавляют избыток кислоты азотной концентрированной. При наличии хлоридов появляется муть из-за образования нерастворимого в среде кислоты азотной серебра хлорида:



В соответствии с требованиями НД содержание хлоридов не должно превышать 0,02%.

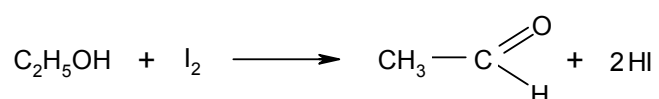
Количественно йод определяют титрованием раствора лекарственного вещества (в присутствии калия йодида для лучшего растворения йода) стандартным раствором натрия тиосульфата:



В качестве индикатора используют крахмал, поэтому титрование ведут до обесцвечивания раствора.

Спиртовые растворы йода

10% спиртовой раствор йода готовят путем растворения йода кристаллического в 95% спирте. Препарат относится к нестойким и скоропортящимся лекарственным средствам, поскольку йод вступает в окислительно-восстановительную реакцию со спиртом:



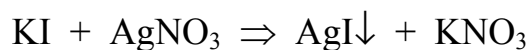
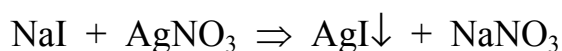
Степень изменения препарата определяют путем установления в нем содержания кислоты йодоводородной титрованием последней стандартным раствором натрия гидроксида после обесцвечивания йода раствором натрия тиосульфата.

Количественное определение йода в препарате проводят титрованием навески стандартным раствором натрия тиосульфата.

Готовят препарат на непродолжительное время – до одного месяца.

5% и 2% растворы йода более устойчивы при хранении, так как их готовят на разбавленном (до 46%) спирте с добавлением калия йодида. При количественном анализе данных растворов определяют содержание как йода, так и калия йодида. Сначала навеску препарата титруют 0,1 М рас-

твором натрия тиосульфата для определения йода (химизм см. выше). Далее сумму йодидов оттитровывают стандартным раствором серебра нитрата (индикатор – натрия эозинат):



Разность между объемами раствора серебра нитрата и натрия тиосульфата включают в расчет содержания калия йодида:

$$X(\%) = \frac{(V_{\text{AgNO}_3} \cdot k - V_{\text{Na}_2\text{SO}_3} \cdot k) \cdot T \cdot 100}{a}$$

где X – содержание калия йодида, в %;

V – объемы стандартных растворов серебра нитрата и натрия тиосульфата, пошедших на титрование, в мл;

k – поправочные коэффициенты титрантов;

T – титр по определяемому веществу (титриметрический фактор пересчета);

a – объем раствора, взятого для анализа, в мл.

Кислота хлороводородная

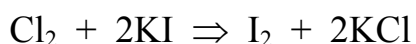
Лекарственными средствами являются растворы хлороводорода: кислота хлороводородная (содержание хлороводорода 24,8 – 25,2%) и кислота хлороводородная разведенная (8,2 – 8,4%).

Оба препарата – бесцветные прозрачные жидкости с кислой реакцией среды. Кислота хлороводородная – летучая жидкость, поэтому ее хранят в склянках с притертыми пробками. Относится к сильным кислотам, поэтому количественное определение хлороводорода в препарате можно провести методом алкаиметрии.

Хлорид-ион в препарате определяют качественной реакцией на галогениды с серебра нитратом или по взаимодействию с окислителями. Хлорид-ион проявляет слабые восстановительные свойства и окисляется до молекулярного хлора при действии сильных окислителей, таких как калия перманганат, марганца оксид (IV), калия дихромат:

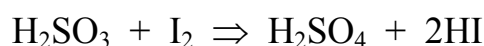


Выделяющийся хлор можно обнаружить по реакции с калия йодидом:



С помощью этой же реакции определяют недопустимую примесь хлора в кислоте хлороводородной.

Специфическую недопустимую примесь в препарате – кислоту сернистую – открывают по реакции с молекулярным йодом. Обесцвечивание реактива указывает на присутствие последней:

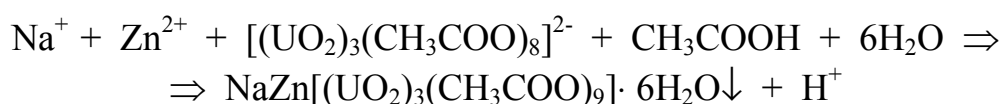


Фармакопейной методикой количественного определения кислоты хлороводородной является алкалиметрия.

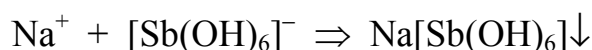
Натрия и калия хлориды

Натрия и калия хлориды относятся к сильным электролитам. Их водные растворы имеют нейтральную реакцию среды, так соли образованы сильной кислотой и сильными основаниями и, поэтому, не подвергаются гидролизу. Химические свойства данных лекарственных веществ обусловлены наличием соответствующих ионов. Так, катионы натрия и калия окрашивают пламя соответственно в желтый и фиолетовый цвета.

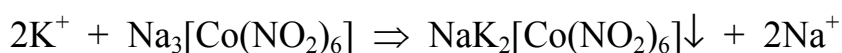
Соли натрия образуют желтый кристаллический осадок (нерастворимый в кислоте уксусной) с цинка уранилацетатом:



Гексагидроксостибат-ион в строго нейтральной среде образует с ионами натрия белый кристаллический осадок натрия гексагидроксостибата:



Соли калия с раствором гексанитрокобальтата (III) натрия образуют желтый кристаллический осадок гексанитрокобальтата (III) натрия и калия:

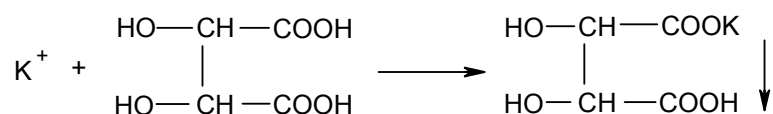


Осадок не растворяется в кислоте уксусной; растворяется в минеральных кислотах. В сильноокислой среде образуется нестойкая кислота гексанитрокобальтовая $H_3[Co(NO_2)_6]$, разлагающаяся в момент выделения.

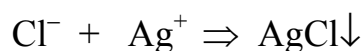
В щелочной среде образуется бурый осадок гидроксида кобальта (III).

Проведению реакции мешают ионы аммония, также дающие с реактивом осадок. Для удаления ионов аммония соль калия предварительно прокаливают.

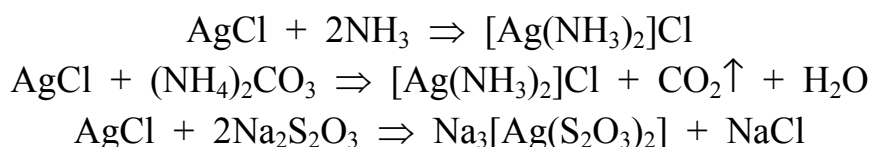
С раствором кислоты винно-каменной соли калия образуют осадок калия гидротартрата, который не растворяется в кислоте уксусной, но растворяется в минеральных кислотах и щелочах:



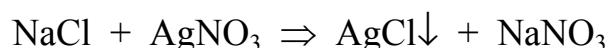
Хлорид-ион в данных лекарственных веществах определяют по взаимодействию с раствором серебра нитрата; образуется белый творожистый осадок:



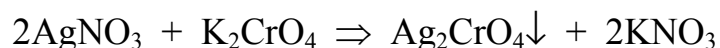
Реакцию проводят в присутствии кислоты азотной в качестве вспомогательного реактива, в котором не растворяются галогениды серебра. Особенность серебра хлорида, в отличие от бромида и йодида, заключается в способности легко растворяться в растворах аммиака, натрия карбоната и натрия тисосульфата:



Количественное определение индивидуальных натрия хлорида и калия хлорида по фармакопее проводят методом прямой аргентометрии по Мору. Титрование ведут в нейтральной среде стандартным раствором серебра нитрата в присутствии калия хромата в качестве индикатора. Серебра хлорид ($PP_{AgCl} = 1,78 \cdot 10^{-10}$) значительно менее растворим, чем серебра хромат ($PP_{\text{серебра хромата}} = 2 \cdot 10^{-12}$). Поэтому хлорид-ионы осаждаются первыми:

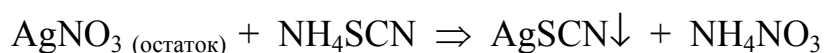
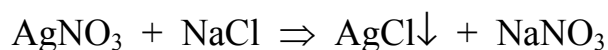


Далее, после полного осаждения хлорид-ионов, выпадает красно-оранжевый осадок серебра хромата:

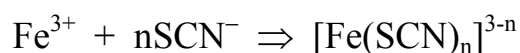


Обязательное условие проведения методики – соблюдение нейтральной или слабо щелочной реакции среды (pH 7,0 – 10,0). В противном случае, в кислой среде, хромат-ион переходит в дихромат-ион и чувствительность индикатора резко понижается.

Если определение хлоридов методом Мора невозможно (например, при анализе лекарственных смесей, имеющих кислую реакцию среды, или содержащих вещества реагирующих, наряду с хлоридами, с ионами серебра), применяют метод обратного аргентометрического определения по Фольгарду. При этом хлориды осаждают избытком титрованного раствора серебра нитрата и оттитровывают остаток серебра нитрата стандартным раствором аммония тиоцианата:



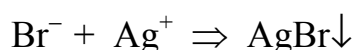
В качестве индикатора используют растворы солей трехвалентного железа, например аммония железа (III) сульфата (квасцы железоаммониевые – $\text{NH}_4\text{Fe}(\text{SO}_4)_2 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$), которые с избыточной каплей аммония тиоцианата образуют комплексные соли красного цвета:



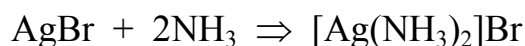
Натрия и калия бромиды

Бромиды натрия и калия – белые кристаллические порошки хорошо растворимые в воде; реакция среды водных растворов нейтральна. Натрия бромид гигроскопичен. Степень увлажнения его регламентируется путем определения потери в массе при высушивании.

Для идентификации применяют реакции на катионы и анионы, так как бромиды натрия и калия (как и хлориды) являются сильными электролитами. Бромиды с раствором серебра нитрата образуют желтоватый творожистый осадок:

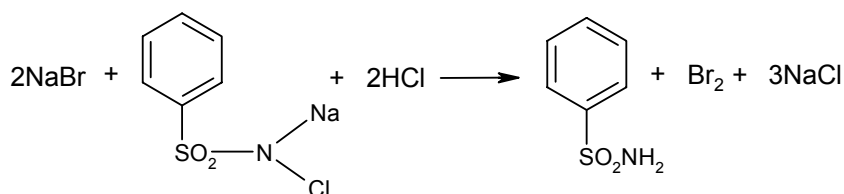


Серебра бромид, в отличие от серебра хлорида, не растворяется в растворе аммония карбоната и трудно растворяется в избытке концентрированного раствора аммиака:

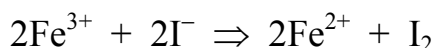


Серебра бромид растворяется (как и хлориды и йодиды) в растворе натрия тиосульфата.

Бромиды окисляются до свободного галогена легче хлоридов, поэтому их идентифицируют также по реакции выделения брома в результате окислительно-восстановительной реакции с хлорамином в кислой среде. Выделяющийся в результате реакции бром извлекают хлороформом, в котором он растворяется лучше, чем в воде, окрашивая его в желто-бурый цвет:



Специфическими примесями в калия и натрия бромиде могут быть ионы йодидов, бария, кальция, броматов. Йодиды определяют с помощью слабого окислителя, каким является железа (III) хлорид, не окисляющий бромидов:



Выделяющийся йод обнаруживают в присутствии крахмала по возникновению синего окрашивания.

Ионы бария, кальция и бромат-ион идентифицируют одним реактивом – кислотой серной концентрированной. При добавлении реактива к испытуемому раствору не должно, согласно требованиям ГФ, появляться помутнения или окрашивания (соли бария и кальция образуют нерастворимые сульфаты, а броматы в присутствии бромидов в кислой среде выделяют бром, придающий раствору желтый цвет):

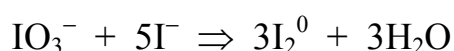


Количественное определение калия и натрия бромидов (как и калия и натрия хлоридов) по ГФ проводят методом прямого аргентометрического титрования по Мору.

Натрия и калия йодиды

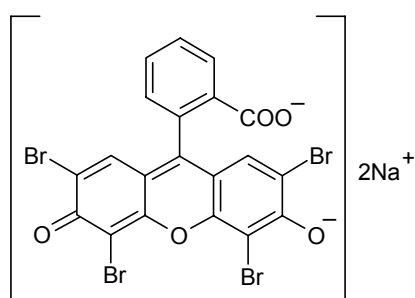
Калия и натрия йодиды – бесцветные или белые кристаллические порошки; гигроскопичны, отсыревают на влажном воздухе. Являясь энергичными восстановителями, вступают в реакцию с кислородом воздуха, выделяя при этом йод, вследствие чего порошки и растворы данных лекарственных веществ желтеют при неправильном хранении. Свет, примеси тяжелых металлов, кислород воздуха инициируют процессы окисления йодидов.

ГФ регламентирует определение специфических примесей калия и натрия йодидов, таких как ионы бария, йодата, тиосульфата. Ионы бария определяют по реакции с кислотой серной (в течение 15 минут раствор должен оставаться прозрачным). Для определения йодатов вместе с кислотой серной добавляют крахмал; при наличии примеси возникает синее окрашивание:



Появление синего окрашивания после добавления 1 капли 0,1 М раствора йода (в присутствии крахмала) указывает на отсутствие тиосульфата.

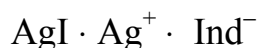
Общий способ количественного определения йодидов по ГФ – прямая аргентометрия с применением адсорбционного индикатора (метод Фаянса). Сущность метода заключается в том, что адсорбционный индикатор (по ГФ – натрия эозинат) не меняет своего окрашивания (желтовато-красного) до наступления точки эквивалентности.



натрия эозинат

Затем, в точке эквивалентности, индикатор адсорбируется на осадке серебра йодида и цвет осадка становится красно-фиолетовым. Это объясняется тем, что до точки эквивалентности на осадке серебра йодида адсорбируется неоттитрованный йодид-ион (как ион, входящий в состав осадка). Возникающий на поверхности осадка отрицательный заряд препятствует адсорбции на нем индикатора в виде аниона. После того как йодид будет

оттитрован полностью – на поверхности осадка будут адсорбироваться ионы серебра (также входящие в состав осадка). При этом на поверхности осадка возникает вызванный ионами серебра положительный заряд и тогда происходит адсорбция анионов индикатора, вызывающая переход окрашивания осадка. В итоге соединение, находящееся в осадке, примет следующий вид:



Наряду с аргентометрическим, возможно применение и других методов для количественного определения йодидов (перманганатометрия и другие окислительно-восстановительные методы).

Натрия фторид

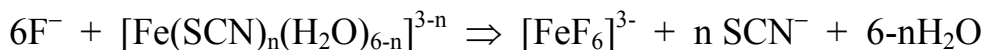
Натрия фторид – бесцветные кристаллы или белый кристаллический порошок; растворим в воде. Являясь солью средней по силе кислоты фтороводородной, подвергается гидролизу.

Испытания подлинности связаны с аналитическими реакциями на фторид-ион: взаимодействие с ионами щелочно-земельных металлов и тиоцианатными комплексами железа (III), реакция с комплексным соединением циркония (IV) и ализарина.

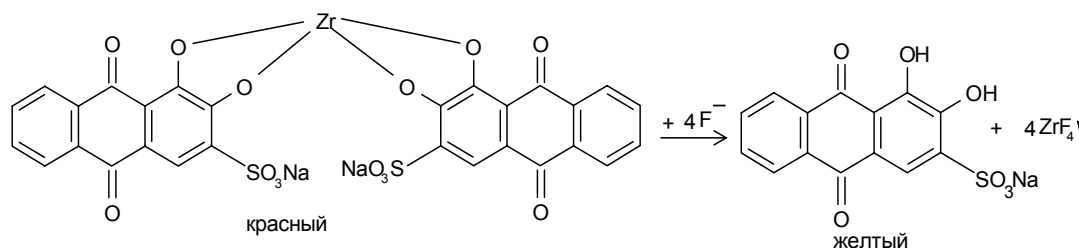
С солями бария и кальция фториды дают белые осадки:



Под действием фторидов тиоцианатные комплексы железа (III) красного цвета разрушаются и переходят в бесцветные соединения:



Цирконий-ализариновый комплекс красного цвета разрушается фторидами. При этом выделяется свободный ализарин желтого цвета:



Выделяющийся при этом белый осадок циркония (IV) фторида может растворяться в избытке фторидов с образованием бесцветного $[\text{ZrF}_6]^{2-}$.

3. НАТРИЯ НИТРИТ

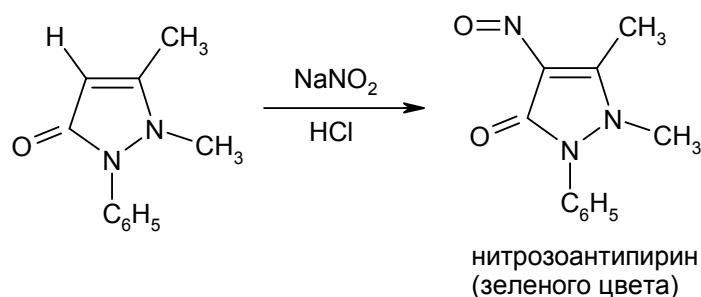
Натрия нитрит – белые или белые со слабым желтоватым оттенком кристаллы. Гигроскопичен. Водный раствор имеет слабо щелочную реакцию вследствие гидролиза. Дает характерные реакции на натрий и нитрит-ион.

Натрия нитрит, в зависимости от условий, проявляет свойства окислителя или восстановителя. В кислой среде диспропорционирует с образованием двух оксидов азота (II и IV), высший оксид выделяется в виде желто-бурых паров:



Эту реакцию используют как для определения подлинности нитритов, так и для отличия их от нитратов.

Подлинность нитритов подтверждают также их взаимодействием в кислой среде с антипирином. В результате образуется окрашенный в зеленый цвет нитрозоантипирин:



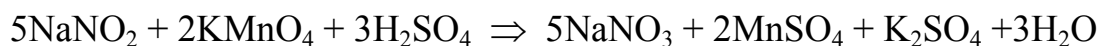
Нитриты можно открыть по взаимодействию с дифениламином в среде кислоты серной концентрированной (возникает синее окрашивание).

При нанесении капли подкисленного раствора, содержащего нитрит-ион, на пропитанную калия йодидом и крахмалом бумагу появляется пятно синего цвета из-за образующегося в результате реакции йода:

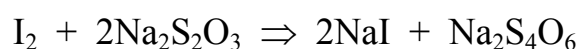
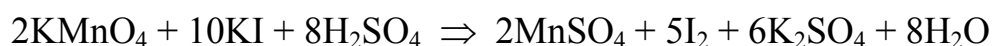


Количественное определение натрия нитрита по ГФ проводят с помощью метода обратной перманганатометрии. При этом в колбу для титрования сначала помещают отмеренный объем раствора калия перманганата

ната и кислоты серной, а затем туда же добавляют аликвотную долю натрия нитрита. Такой порядок определения предотвращает разложение натрия нитрита в кислой среде до его взаимодействия с титрантом:



Далее (через 20 минут) в реакционную среду добавляют избыток калия йодида и выделившийся йод титруют стандартным 0,1 М раствором натрия тиосульфата:

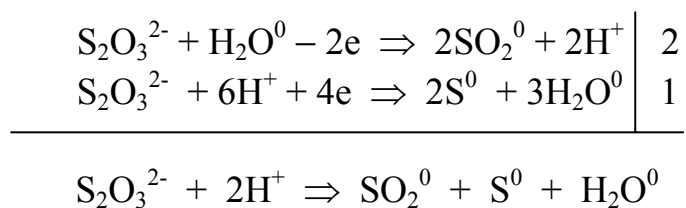


4. НАТРИЯ ТИОСУЛЬФАТ

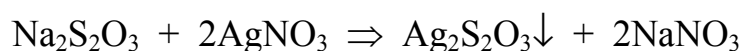
По агрегатному состоянию представляет собой бесцветные прозрачные кристаллы состава $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$. Легко растворим в воде. В теплом сухом воздухе выветривается, во влажном воздухе слегка расплывается. При температуре около 50 °С плавится в кристаллизационной воде.

Натрия тиосульфат является солью средней по силе и крайне неустойчивой кислоты тиосерной. Обладает сильными восстановительными свойствами и способностью к комплексообразованию.

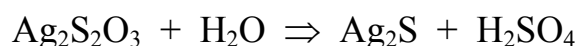
В кислой среде разлагается с образованием свободной серы и оксида серы (IV):



При взаимодействии раствора натрия тиосульфата с водным раствором серебра нитрата сначала образуется белого цвета нерастворимая соль – серебра тиосульфат:



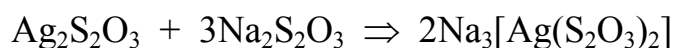
Затем серебра тиосульфат разлагается в результате внутримолекулярной окислительно-восстановительной реакции до серебра сульфида:



Цвет осадка при этом меняется последовательно от белого через желтый и бурый до черного.

Реакции с кислотой хлороводородной и серебра нитратом ГФ регламентирует в качестве испытаний подлинности натрия тиосульфата.

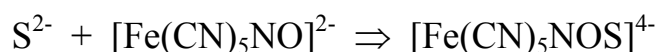
Если реакцию натрия тиосульфата с серебра нитратом проводить по другой методике, а именно к раствору серебра нитрата добавлять раствор натрия тиосульфата, то выпавший вначале белый осадок растворится в избытке реактива:



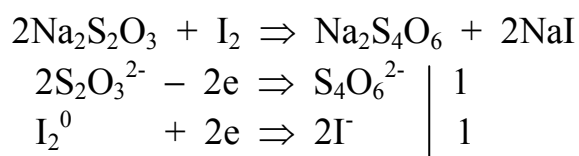
Натрия тиосульфат взаимодействует также с солями Cu^{2+} , Fe^{3+} , Hg^{2+} . Эти реакции (как и взаимодействие с серебра нитратом) идут в два этапа: солеобразование и окисление-восстановление.

Специфическими примесями натрия тиосульфата являются сульфиты, сульфаты и сульфиды. Сульфиты и сульфаты определяются в одной пробе. При этом к испытуемому раствору добавляют по каплям раствор йода до желтоватого окрашивания (сульфиты при этом окисляются до сульфатов) и затем прибавляют раствор бария нитрата; жидкость должна оставаться прозрачной (возникновение помутнения укажет на наличие примеси сульфитов или сульфатов).

Для обнаружения сульфидов ГФ использует способность последних (как восстановителей) взаимодействовать с натрия нитропруссидом с образованием комплексного аниона состава:



Фармакопейный метод количественного определения натрия тиосульфата – йодометрия:



Хранят натрия тиосульфат в герметически закрытой таре.

Тема 3. АНАЛИЗ НАТРИЯ ГИДРОКАРБОНАТА, ЛИТИЯ КАРБОНАТА, СОЛЕЙ МАГНИЯ И КАЛЬЦИЯ, БАРИЯ СУЛЬФАТА, ПРОИЗВОДНЫХ БОРА

К данной группе лекарственных средств относятся широко применяемые в медицине неорганические препараты магния, используемые парэнтерально как успокаивающее, спазмолитическое, гипотензивное средство и перорально как слабительное (магния сульфат); магния оксид – антацидное средство.

Кальция хлорид применяют в качестве источника ионов Ca^{2+} , антиаллергического и кровеостанавливающего средства. Кальция сульфат, имеющего формулу $\text{CaSO}_4 \cdot \frac{1}{2} \text{H}_2\text{O}$ используют для наложения твердых повязок при переломах, так он обладает способностью затвердевать при смешивании с водой, образуя при этом дигидрат кальция сульфата.

Натрия гидрокарбонат применяют как антацидное средство. Его также используют в качестве наполнителя при таблетировании лекарственных средств. Натрия гидрокарбонат применяют и как стабилизатор при изготовлении некоторых инъекционных растворов (раствор натрия тиосульфата). Лития карбонат применяют в психиатрии для купирования приступов.

Производные бора – наружные антисептические средства.

Применение бария сульфата основано на его способности не пропускать рентгеновские лучи. Его используют при рентгенологических исследованиях желудка и кишечника.

Свойства лекарственных веществ изучаемой группы приведены в таблице 1.

Таблица 1. Натрия гидрокарбонат, лития карбонат, производные магния, кальция, бария сульфат, производные бора

Химическая формула	Описание
NaHCO_3	Natrii hydrocarbonas. Натрия гидрокарбонат. Белый кристаллический порошок без запаха, растворим в воде, практически нерастворим в спирте. Устойчив в сухом воздухе, медленно разлагается во влажном. Антацидное средство.

Li_2CO_3	<p>Lithii carbonas. Лития карбонат. Белый кристаллический порошок, трудно растворим в воде, практически нерастворим в спирте. Психотропное средство.</p>
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	<p>Magnesii sulfas. Магния сульфат. Белый порошок или бесцветные призматические кристаллы. Выветривается на воздухе. Легко растворим в воде, очень легко – в кипящей воде, практически нерастворим в спирте. Гипотензивное (в виде инъекций) и слабительное (перорально) средства.</p>
MgO	<p>Magnesii oxydum. Магния оксид. Белый мелкий легкий порошок без запаха. Практически нерастворим в воде и спирте. Растворим в разведенных хлороводородной, серной и уксусной кислотах. Антацидное средство.</p>
$\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	<p>Calcii chloridum. Кальция хлорид. Бесцветные призматические кристаллы без запаха. Очень легко растворим в воде, легко растворим в спирте. Гигроскопичен, на воздухе расплывается. Противоаллергическое, противовоспалительное, гемостатическое.</p>
$\text{CaSO}_4 \cdot \frac{1}{2}\text{H}_2\text{O}$	<p>Calcii sulfas ustus. Кальция сульфат жженный. Сухой мелкий аморфный порошок белого или слегка сероватого цвета. Плохо растворим в воде. Применяют для изготовления гипсовых повязок.</p>

$BaSO_4$	<p>Barii sulfas pro roentgeno. Бария сульфат для рентгеноскопии.</p> <p>Белый, тонкий, рыхлый порошок без запаха. Практически нерастворим в воде разведенных кислотах и щелочах, органических растворителях.</p>
H_3BO_3 $B(OH)_3$	<p>Acidum boricum. Кислота борная.</p> <p>Бесцветные, блестящие слегка жирные на ощупь чешуйки или мелкий кристаллический порошок без запаха. Растворим в воде, спирте и глицерине.</p> <p>Антибактериальное, противогрибковое, вяжущее средство.</p>
$Na_2B_4O_7 \cdot 10H_2O$	<p>Natrii tetraboras. Натрия тетраборат.</p> <p>Бесцветные, прозрачные, легко выветривающиеся кристаллы или белый кристаллический порошок. Растворим в воде, очень легко растворим в кипящей воде, практически нерастворим в спирте, легко растворим в глицерине.</p>

АНАЛИЗ ИНДИВИДУАЛЬНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

1. Натрия гидрокарбонат и лития карбонат.

Данные лекарственные вещества являются солями, образованными щелочными металлами и слабой кислотой угольной. Растворимая в воде соль – натрия гидрокарбонат имеет слабо щелочную реакцию среды.

Подлинность лекарственных средств проводится по катиону и аниону:

1) Реакции на ион Na^+ см. стр. 97.

2) Реакции на ион Li^+ проводят после растворения лития карбоната в кислоте, так как в воде вещество не растворяется:



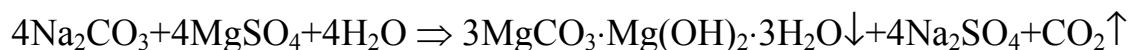
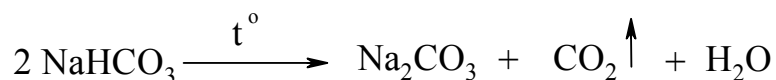
Растворимые соли лития с гидрофосфатами в слабо щелочной среде дают белый осадок лития фосфата:



Соли лития окрашивают бесцветное пламя горелки в карминово-красный цвет.

3) Реакции на анионы HCO_3^- и CO_3^{2-} основаны на вытеснении сильной минеральной кислотой углекислоты угольной из ее солей. Кислота угольная нестойка и выделяет CO_2 (в виде пузырьков газа), который дает белый осадок при пропускании его через известковую воду (см. стр...).

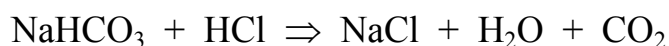
При кипячении с насыщенным раствором магния сульфата гидрокарбонат-ион (как и карбонат-ион, так как при кипячении гидрокарбонат-ион переходит в карбонат) дает белый осадок:



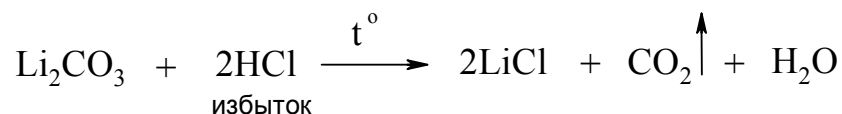
Чистота. У натрия гидрокарбоната определяют наличие менее растворимых примесей по эталону мутности №4. Если натрия гидрокарбонат используют для инъекций, или для стабилизации инъекционных растворов, то раствор его должен быть прозрачным.

Примесь карбонатов определяют прокаливанием. Потеря в массе при этом должна быть не менее 36,6%. Чем больше примеси карбонатов, тем меньше потеря в массе при прокаливании.

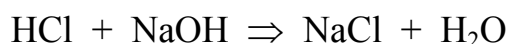
Количественное определение. Натрия гидрокарбонат и лития карбонат количественно определяют ацидиметрически; титрант – 0,1 М раствор кислоты хлороводородной, индикатор – метиловый оранжевый. Определение натрия гидрокарбоната проводят прямым методом:



Лития карбонат определяют обратным способом, так как препарат в воде не растворяется. Кроме того, необходимо удалить выделяющийся CO_2 , который может повлиять на результат количественного определения:



Полученный раствор кипятят до удаления CO_2 и остаток кислоты хлороводородной оттитровывают стандартным раствором натрия гидроксида:



Хранят лекарственные вещества в хорошо закупоренной таре.

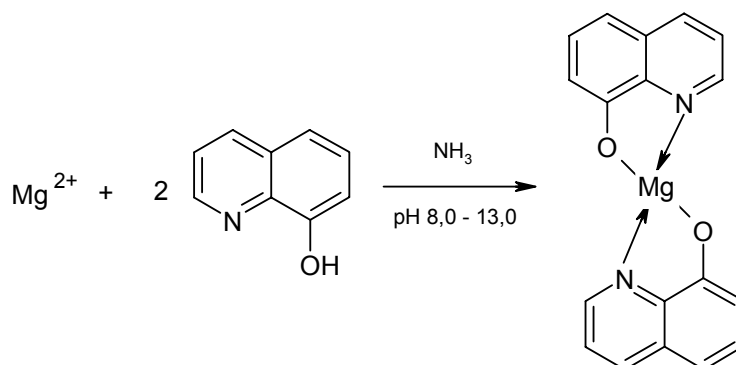
2. Производные магния и кальция

Магний и кальций обладают ярко выраженными металлическими свойствами.

Со щелочами ионы магния и кальция образуют осадки гидроксидов белого цвета $\text{Mg}(\text{OH})_2$ и $\text{Ca}(\text{OH})_2$. Ион магния, в отличие от иона кальция, образует нерастворимый гидроксид с раствором аммиака.

Определение подлинности

Общие фармакопейные реакции подлинности на соединения магния и кальция см. стр. ... и ... соответственно. На соединения магния часто проводят реакцию с 8-оксихинолином. Испытание проводят в среде аммиачного буферного раствора (pH 8,0 – 13,0; нагревание ускоряет процесс) в результате выпадает желто-зеленый кристаллический осадок внутримолекулярного хелата – 8-оксихинолината магния:



Реакции на анионы – хлориды и сульфаты – см. стр. ... и ... соответственно.

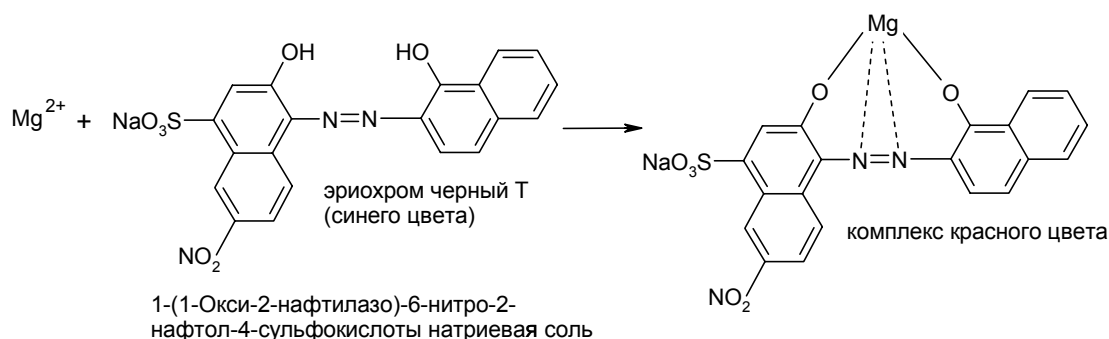
Количественное определение

Общим методом количественного определения лекарственных веществ группы магния и кальция является комплексометрия. стандартный раствор – раствор этилендиаминтетраацетата в виде динатриевой соли (ЭДТА). Ионы металлов образуют с ЭДТА прочные бесцветные комплексы в соотношении 1:1. Индикаторы, применяемые в данном методе образуют с ионами металлов комплексы, окрашенные в иной цвет, чем сами свободные индикаторы.

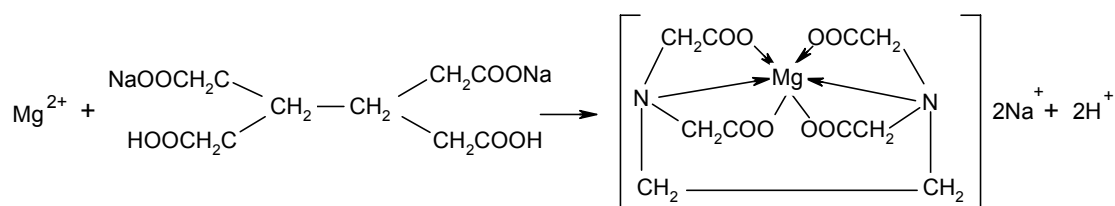
Определение солей Mg^{2+}

Условия определения: стандартный раствор – раствор ЭДТА; индикатор – эриохром черный Т; аммиачный буферный раствор, pH 9,5 – 10,0.

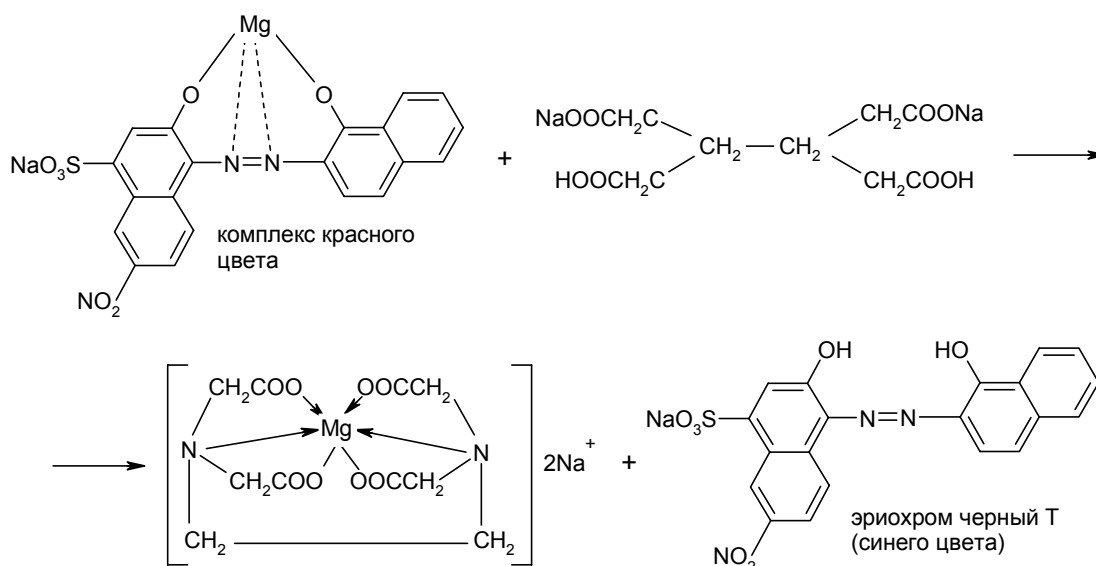
К навеске препарата, растворенной в воде, добавляют аммиачный буферный раствор и индикатор. Около 1% ионов Mg^{2+} связывается с индикатором, образуя окрашенный в красный цвет комплекс:



Затем полученный раствор титруют стандартным раствором ЭДТА:



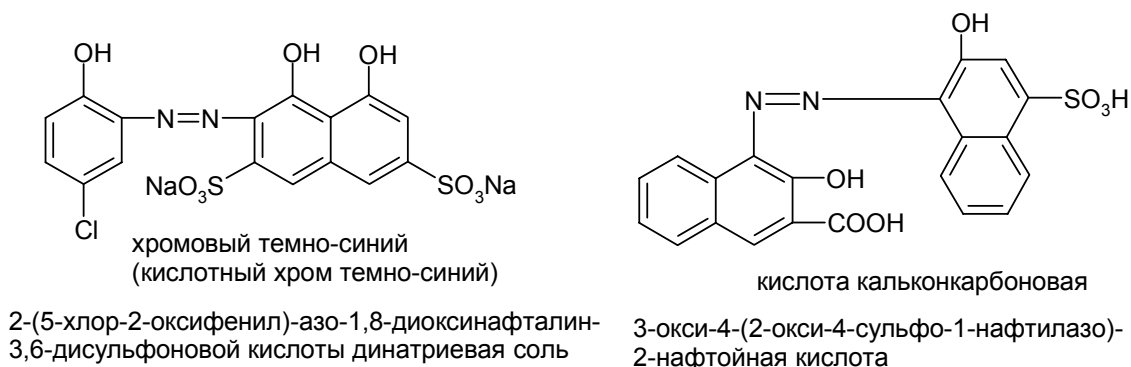
Когда все ионы Mg^{2+} оттитрованы, под действием ЭДТА начинает разрушаться менее прочный комплекс металла с индикатором:



Появление окраски свободного индикатора (синей при данном значении рН 9,5 – 10,0) покажет конец титрования.

Определение солей кальция

Количественное определение солей кальция проводят в присутствии индикатора хромового темно-синего и аммиачного буферного раствора (рН 9,5 – 10,0), или с индикатором кислотой кальконкарбоновой в щелочной среде (рН > 12,0), которую добавляют в конце титрования:



Хранение

При хранении учитывают, что кристаллогидраты, например, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, $CaSO_4 \cdot \frac{1}{2}H_2O$ выветриваются, $CaCl_2 \cdot 6H_2O$ – расплывается на воздухе. Магния оксид поглощает оксид углерода (IV) из воздуха, превращаясь в магния карбонат. Поэтому указанные лекарственные вещества хранят в хорошо укупленной таре.

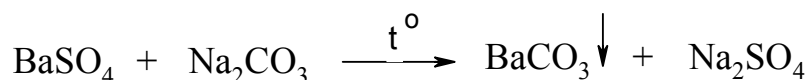
3. Бария сульфат для рентгеноскопии

Это вещество непроницаемо для рентгеновских лучей, что позволяет применять его для рентгенологических исследований желудочно-кишечного тракта.

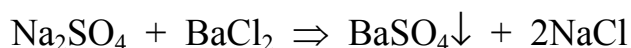
Бария сульфат относится к числу практически нерастворимых соединений (ПР $1,1 \cdot 10^{-10}$).

Соли бария окрашивают пламя горелки в желтовато-зеленый цвет.

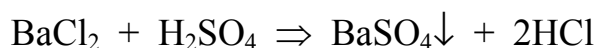
Для проведения анализа на подлинность необходимо вначале получить ионы Ba^{2+} и SO_4^{2-} , что достигается кипячением препарата с насыщенным раствором натрия карбоната:



Нерастворимый в воде бария карбонат отфильтровывают. В фильтрате определяют сульфат-ионы:

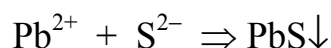


Осадок на фильтре растворяют в кислоте хлороводородной и в фильтрате определяют ионы бария:



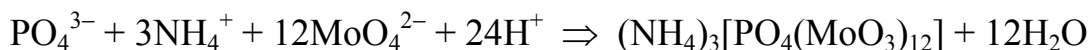
Ионы бария токсичны, вызывают паралич сердечной мышцы. Поэтому анализ чистоты предусматривает обнаружение ионов бария, соединений бария, растворимых в кислотах таких как бария карбонат, так как эти примеси токсичны из-за возможности их растворения в кислой среде желудка. Определение проводят путем добавления к определенному количеству препарата кислоты уксусной. Бария сульфат отфильтровывают, а в фильтрате обнаруживают ионы бария после добавления к пробе кислоты серной (жидкость должна оставаться прозрачной).

Определение примеси сульфидов проводят в вытяжке из препарата после добавления к нему кислоты хлороводородной и нагревания:



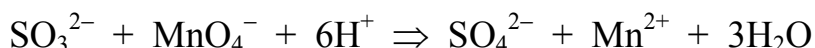
На фильтровальной бумаге смоченной раствором свинца ацетата и поднесенной к горлу колбы не должно наблюдаться потемнения.

Примесь фосфатов обнаруживают в азотнокислой вытяжке из препарата после прибавления аммония молибдата:



Не должно наблюдаться образования желтого осадка в течение часа.

Сульфиты и другие восстановители определяют в подкисленной водной вытяжке по реакции с калия перманганатом:



В течение 10 минут не должно наблюдаться обесцвечивания жидкости.

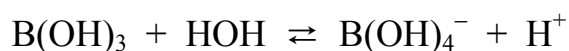
Способ применения бария сульфата для рентгеноскопии требует определенной дисперсности этого вещества, которую определяют путем встряхивания препарата с водой в мерном цилиндре. Через 15 минут граница осадка в мерном цилиндре на 50 мл должна быть не ниже отметки 12 мл.

Количественное определение бария сульфата проводят после кипячения навески препарата с кислотой хлороводородной. Осадок переносят на бумажный фильтр, промывают горячей водой до отрицательной реакции на хлориды. Осадок вместе с фильтром прокаливают во взвешенном тигле. Тигель после прокаливания взвешивают. Содержание бария сульфата должно быть в пределах 97,5 – 100,5%.

4. Производные бора

Кислота борная

Кислота борная является слабой одноосновной кислотой. Кислотные свойства она проявляет, присоединяя гидроксид-ион:

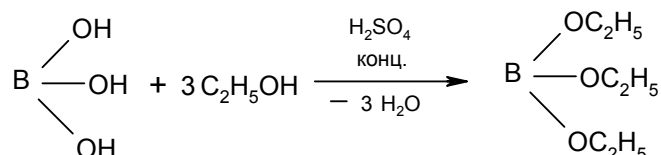


Водный раствор имеет слабо кислую реакцию. Кислотные свойства кислоты борной усиливаются при ее взаимодействии с полиолоами (например, с глицерином), что используется в ее анализе.

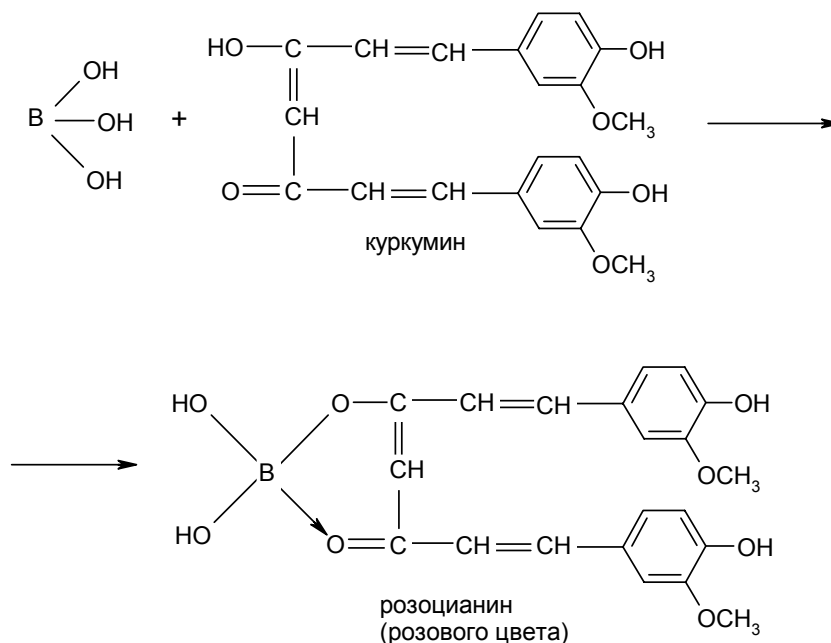
Подлинность. 1) при прокаливании кислоты борной наблюдается появление характерной стеклообразной массы оксида бора (B_2O_3):



2) С этанолом образуется в присутствии кислоты серной концентрированной эфир борноэтиловый, который горит пламенем с характерной зеленой каймой:



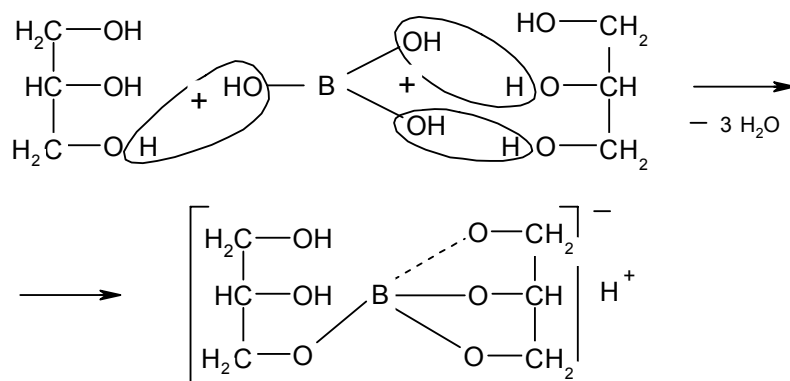
3) Реакция с куркумином. Кислота борная с природным красителем куркумином, нанесенном на фильтровальную бумагу, образует комплексное соединение – розоцианин, окрашенный в розовый цвет. При дальнейшем смачивании полученного комплекса раствором аммиака образуется зеленое окрашивание, переходящее в черное:



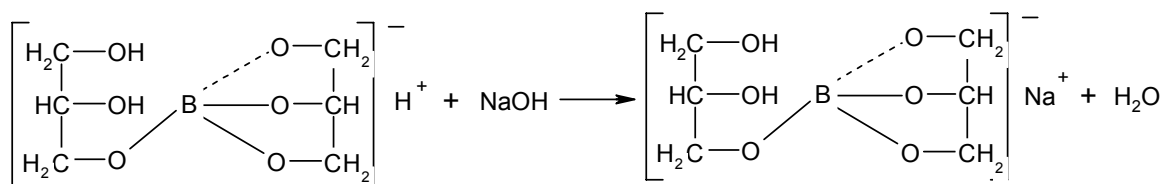
Чистота. В кислоте борной должна отсутствовать примесь минеральной кислоты, что устанавливается по индикатору метиловому оранжевому. Сама кислота борная не меняет окраску этого индикатора, как очень слабая кислота.

Количественное определение. Для количественного определения кислоты борной используют ее свойство образовывать комплексную кислоту с глицерином, которую можно оттитровать щелочью, как более сильную,

чем исходную кислоту борную. Глицерин необходимо предварительно нейтрализовать щелочью, так как имеет слабо-кислую реакцию среды из-за наличия нескольких спиртовых гидроксильных групп:



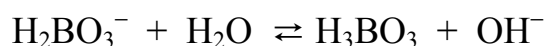
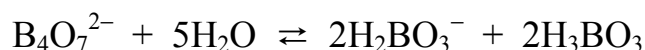
Далее полученную кислоту глицероборную оттитровывают стандартным раствором натрия гидроксида в присутствии индикатора фенолфталеина:



Глицерин добавляют частями, так как он является ассоциирующим растворителем и препятствует диссоциации кислоты глицероборной.

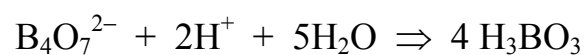
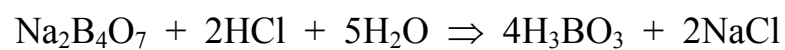
5. Натрия тетраборат

Натрия тетраборат при растворении в воде дает щелочную реакцию среды вследствие гидролиза:



Анализ подлинности включает все реакции, используемые для кислоты борной, а также реакцию на Na^+ .

Количественное определение натрия тетрабората проводят методом ацидиметрии в присутствии индикатора метилового оранжевого:



Верхний предел содержания натрия тетрабората (не более 103%), связан с тем, что ГФ регламентирует степень выветривания кристаллизационной воды.

Хранят натрия тетраборат в хорошо укупоренной таре.

Тема 4. АНАЛИЗ СОЕДИНЕНИЙ ВИСМУТА, ЦИНКА, МЕДИ, СЕРЕБРА, ЖЕЛЕЗА, КОМПЛЕКСНЫХ СОЕДИНЕНИЙ ЖЕЛЕЗА, ПЛАТИНЫ И ГАДОЛИНИЯ

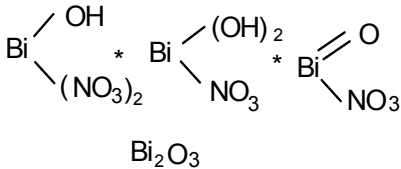
Лекарственные средства – соединения висмута, цинка, серебра, меди, железа обладают широкой терапевтической активностью – они применяются как антисептические, подсушивающие, вяжущие, прижигающие, противовоспалительные и антианемические средства. В последнее время интенсивно разрабатываются лекарственные средства на основе платины (цитостатические препараты), гадолиния (рентгеноконтрастные средства).

Многие металлы являются необходимыми микроэлементами для жизнедеятельности организма и входят в состав ферментов. Известно, что железо и медь участвуют в окислительно-восстановительных реакциях в организме. Они необходимы для синтеза гемоглобина. При недостатке железа или меди развивается гипохромная анемия. Цинк регулирует иммунные и метаболические процессы. Недостаток цинка может привести к снижению иммунитета, нарушению роста волос, дерматиту.

ФИЗИЧЕСКИЕ И ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА

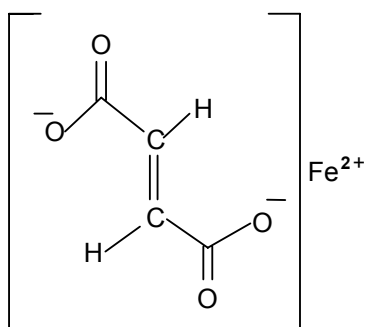
Свойства лекарственных веществ соединений металлов приведены в таблице 1.

Таблица 1. Общие свойства лекарственных веществ – соединений висмута, цинка, меди, серебра, железа, платины, гадолиния

Химическая структура	Описание
 <p style="text-align: center;">Bi_2O_3</p>	<p>Bismuthi subnitras. Висмута нитрат основной.</p> <p>Белый аморфный или микрокристаллический порошок. Практически нерастворим в воде и спирте, легко растворим в кислотах азотной и хлороводородной; порошок, смоченный водой, окрашивает синюю лакмусовую бумагу в красный цвет.</p> <p>Лекарственные формы: таблетки, присыпки, мази.</p> <p>Входит в состав викалина, викаира и ряда других препаратов.</p> <p>Гастропротектор, обволакивающее, вяжущее, противовоспалительное.</p> <p>Наряду с висмута нитратом основным применяют висмута субгаллат, субсалицилат, трикалия дицитрат.</p>
<p style="text-align: center;">$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$</p>	<p>Zinci sulfas. Цинка сульфат.</p> <p>Цинка сульфат, гептагидрат.</p> <p>Бесцветные прозрачные кристаллы или мелкокристаллический порошок без запаха. На воздухе выветривается. Водный раствор имеет кислую реакцию среды.</p> <p>Очень легко растворим в воде, практически нерастворим в спирте.</p> <p>Лекарственные формы: капли глазные; внутрь в виде растворов.</p> <p>Антисептическое, противовоспалительное, вяжущее, раздражающее, прижигающее, рвотное.</p>

<p style="text-align: center;">ZnO</p>	<p>Zinci oxidum. Цинка оксид. Белый или белый с желтоватым оттенком аморфный порошок без запаха. Поглощает углекислоту воздуха. Практически нерастворим в воде и спирте, растворим в растворах щелочей, разведенных минеральных кислотах, а также в уксусной кислоте. Лекарственные формы. Наружно присыпки, мази, пасты, линименты. Подсушивающее, антисептическое, противовоспалительное.</p>
<p style="text-align: center;">AgNO₃</p>	<p>Argenti nitras. Серебра нитрат. Бесцветные прозрачные кристаллы в виде пластинок или белых цилиндрических палочек, без запаха. Под действием света препарат темнеет. Очень легко растворим в воде, трудно растворим в спирте. Бактерицидное, антисептическое, вяжущее, прижигающее. Список А.</p>
	<p>Protargolum (Argentum proteinicum). Протаргол. Коричнево-желтый или коричневый легкий порошок без запаха, слегка вяжущего вкуса. Легко растворим в воде, практически нерастворим в 95% спирте, эфире и хлороформе. Гигроскопичен. Лекарственные формы: растворы в глазных каплях, и каплях для носа; растворы для промывания (в урологии). Антисептическое, противовоспалительное, вяжущее.</p>

	<p>Collargolum (Argentum colloidalе). Колларгол.</p> <p>Зеленовато или синевато-черные пластинки с металлическим блеском.</p> <p>Растворим в воде с образованием коллоидного раствора. Золь препарата (1:2000) имеет желтовато или красновато-бурый оттенок, прозрачен в проходящем и слегка опалесцирует в отраженном свете.</p> <p>Лекарственные формы: капли глазные, капли в нос, растворы для промывания гнойных ран и в урологии, мази.</p> <p>Антисептическое, противовоспалительное, вяжущее.</p>
<p>$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$</p>	<p>Cupri sulfas. Меди сульфат.</p> <p>Меди (II) сульфат, пентагидрат.</p> <p>Синие кристаллы или синий кристаллический порошок без запаха, металлического вкуса. Выветривается на воздухе.</p> <p>Легко растворим в воде и глицерине, почти нерастворим в 95% спирте.</p> <p>Лекарственные формы: глазные капли, растворы для промывания желудка.</p> <p>Антисептическое, вяжущее, рвотное.</p>
<p>$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$</p>	<p>Ferri sulfas. Железа сульфат.</p> <p>Железа (II) сульфат, гептагидрат.</p> <p>Призматические прозрачные кристаллы светлого голубовато-зеленого цвета или кристаллический бледно-зеленый порошок.</p> <p>Растворим в воде с образованием раствора слабокислой реакции. На воздухе выветривается.</p> <p>Входит в состав комплексных препаратов в виде таблеток, растворов для инъекций (ферроплекс, феррум-лек и др.).</p>



Ferri fumaras. Железа фумарат.

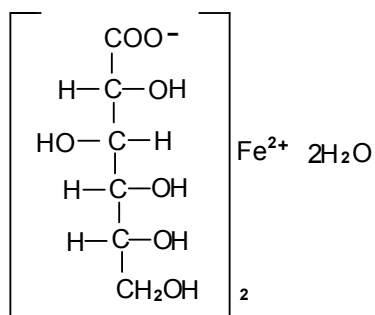
Железа (II) бутендиоат, соль (1:1).

Порошок красновато-оранжевого до красно-коричневого цвета. Без запаха. Может содержать мягкие комки, которые при раздавливании оставляют жёлтый след.

Мало растворим в воде, очень мало в спирте.

Лекарственные формы: таблетки; таблетки железа фумарата и натрия докузата пролонгированного действия.

При лечении железодефицитных анемий.



Ferri gluconas. Железа глюконат.

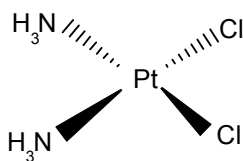
Железа (II) D-глюконат (2:1) дигидрат.

Желтовато-серый или бледно зеленовато-жёлтый тонкий порошок или гранулы, со слабым запахом жженого сахара.

Растворим в воде при слабом нагревании, практически нерастворим в спирте. Раствор 1:20 имеет кислую среду по лакмусу.

Лекарственные формы: Капсулы, таблетки, эликсир.

При лечении железодефицитных анемий.



Cisplatinum. Цисплатин.

цис-Дихлородиамминплатина (II).

Кристаллический порошок жёлтого до жёлто-оранжевого цвета. Мало растворим в изотоническом 0,9% растворе натрия хлорида и в 0,1 М растворе кислоты хлороводородной, очень мало растворим в воде, практически нерастворим в спирте 95%.

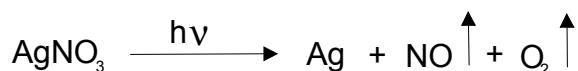
Лекарственные формы: раствор для инъекций.

Противоопухолевое средство.

Список А.

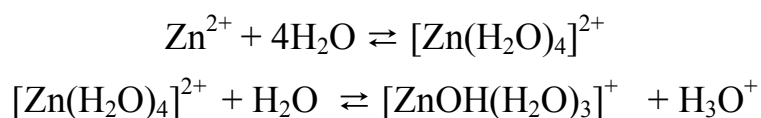
Лекарственные вещества данной группы хранят в хорошо закупоренной таре с притёртой пробкой во избежание выветривания кристаллогидратов (цинка сульфат, меди сульфат, железа сульфат), или поглощения углерода диоксида (цинка оксид).

Такие препараты как серебра нитрат, колларгол, протаргол, железо (II) сульфат, препараты платины необходимо хранить в склянках тёмного стекла. Например, под действием света бесцветные кристаллы серебра нитрата темнеют в результате восстановления до металлического серебра:

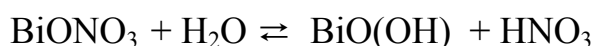


Железа (II) сульфат – $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ – под действием света и кислорода воздуха может окисляться.

Растворимые соли: цинка сульфат, меди сульфат и железа (II) сульфат образованы сильной кислотой и слабым основанием, поэтому при гидролизе дают кислую реакцию среды (показано на примере цинка сульфата):



При смачивании водой порошок висмута нитрата основного, окрашивает синюю лакмусовую бумажку в красный цвет, вследствие выделившейся кислоты азотной:



ОБЩИЕ ХИМИЧЕСКИЕ РЕАКЦИИ, ИСПОЛЬЗУЕМЫЕ В АНАЛИЗЕ

В анализе лекарственных средств данной группы используются наиболее характерные общие химические свойства катионов тяжёлых металлов:

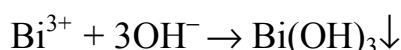
- реакции с растворами щёлочи и аммиака;
- осаждение сульфидами;
- комплексообразование;
- окисление-восстановление.

1. Соединения висмута (III)

Bismuthi subnitras. Висмута нитрат основной

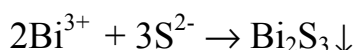
Реакция с растворами щёлочи и аммиака

Растворимые соли висмута (III) с растворами щёлочи или аммиака образуют осадок висмута гидроксида белого цвета, нерастворимый в избытке реактива и растворимый в минеральных кислотах:



Реакция осаждения сульфидами

Растворы солей висмута, слегка подкисленные кислотой хлороводородной, дают коричневато-чёрный осадок с сульфид ионом:



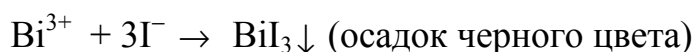
Осадок нерастворим в минеральных кислотах, за исключением разбавленной кислоты азотной, в которой он растворяется с выделением свободной серы:



Реакция используется ГФ для определения подлинности ионов висмута и при определении примеси солей щелочных и щелочноземельных металлов. Для этого вначале осаждают ион висмута сероводородом до висмута сульфида, осадок отфильтровывают, а в фильтрате количественно по остатку после прокаливанию определяют примесь.

Реакция комплексообразования с раствором калия йодида

Ион висмута с раствором калия йодида образует осадок черного цвета, растворимый в избытке реактива с образованием раствора желто-оранжевого цвета, содержащего ионы тетрайодидвисмутата (III) общей формулы $[\text{BiI}_4]^-$:



ГФ рекомендует реакцию для определения ионов висмута.

Тетрайодидвисмутат (III) калия (реактив Драгендорфа) служит общим регентом для доказательства азотсодержащих органических веществ.

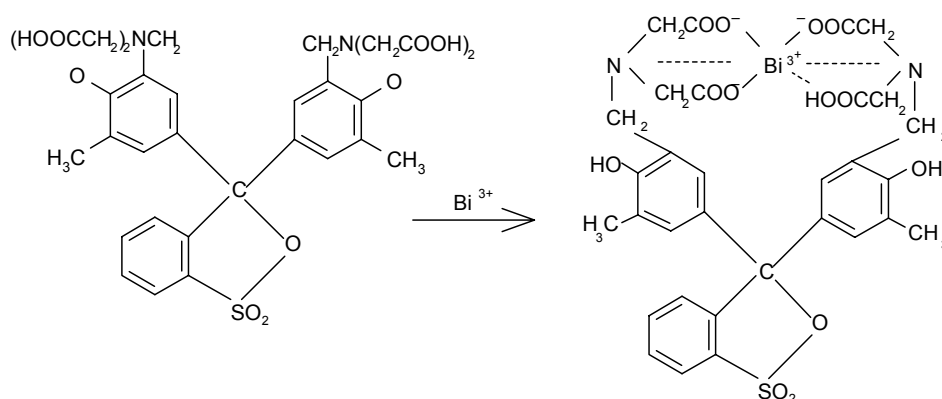
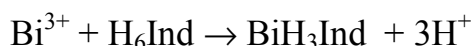
Прокаливание

При прокаливании порошка висмута нитрата основного образуется остаток ярко-желтого цвета и выделяются бурые пары азота (IV) оксида:



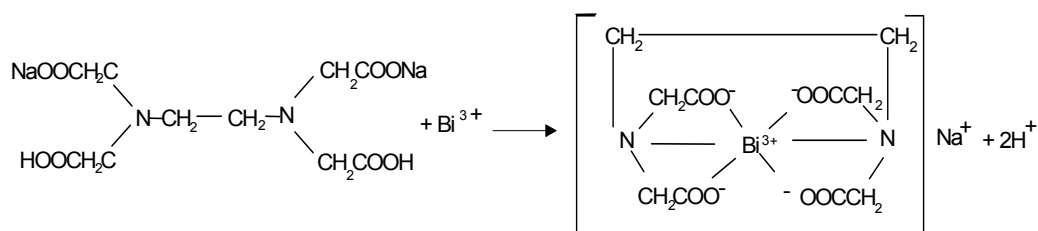
Количественное определение

Метод комплексонометрии – способ титрования прямой. В качестве титранта используют стандартный раствор динатриевой соли кислоты этилендиаминатетрауксусной – ЭДТА (динатрия эдетат или трилон Б). Индикатор ксиленоловый оранжевый:

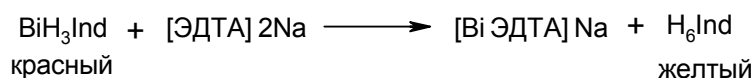


Ксиленоловый оранжевый образует комплекс с металлом, окрашенный в красный цвет.

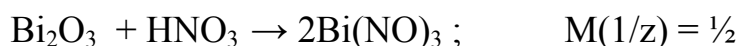
Далее проводят титрование стандартным раствором ЭДТА свободных ионов висмута. При этом образуется бесцветный растворимый комплекс титранта с металлом:



На последней стадии происходит 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 висмута будут оттитрованы и добавлен избыток раствора ЭДТА (1 – 2 капли). При этом красная окраска раствора переходит в жёлтую (цвет свободного индикатора):



Висмута нитрат основной не имеет постоянного состава, поэтому расчёт количественного содержания ведут по висмута оксиду (Bi_2O_3), которого в препарате должно быть не менее 79,0 % - 82,0 %.



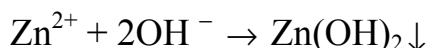
$$T(\text{ЭДТА}/\text{Bi}_2\text{O}_3) = \frac{C_{\text{ЭДТА}} \cdot M(1/z)_{\text{Bi}_2\text{O}_3}}{1000} = \frac{0,05 \cdot \frac{466}{2}}{1000} = 0,01165 \text{ г/мл}$$

2. Соединения цинка

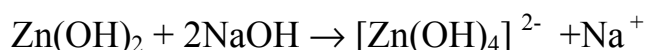
Цинка оксид (Zinci oxydum) и цинка сульфат (Zinci sulfas)

Реакции с растворами щёлочи и аммиака

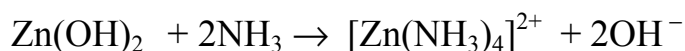
Растворимые соли цинка с растворами щелочи и аммиака образуют осадок цинка гидроксида белого цвета:



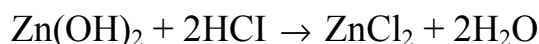
Цинка гидроксид амфотерен и при избытке щёлочи осадок растворяется с образованием бесцветного гидроксокомплекса:



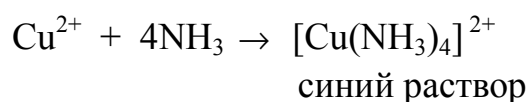
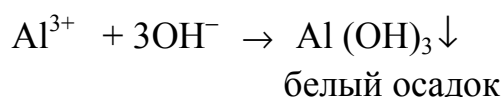
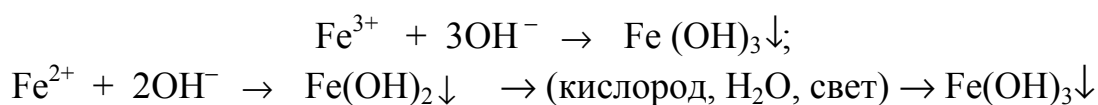
При добавлении избытка раствора аммиака образуется растворимый в избытке реактива бесцветный комплексный ион тетраамминцинк:



Цинка гидроксид растворим в минеральных кислотах:

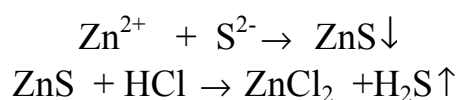


Реакция с раствором аммиака используется ГФ в анализе чистоты при определении примесей железа, меди и алюминия. Примесь не должна обнаруживаться в пределах чувствительности реакции с раствором аммиака. При наличии примесей соединений железа, меди и алюминия с раствором аммиака выпадают осадки гидроксидов соответствующих металлов, и образуется ион тетраамминмеди тёмно-синего цвета:



Осаждение сульфидами

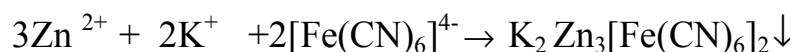
Растворы солей цинка образуют с сульфид ионом осадок цинка сульфида белого цвета, легко растворимый в растворе разведённой кислоты хлороводородной и нерастворимый в кислоте уксусной:



Данная реакция используется ГФ при определении примеси тяжелых металлов, дающих с реактивом осадки черного цвета.

Осаждение калия гексацианоферратом (II)

Ион цинка с реактивом образует белый студенистый осадок цинка-калия гексацианоферрата (II), нерастворимый в кислоте хлороводородной разведенной:



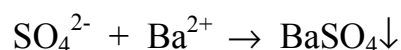
Реакция используется для определения подлинности соединений цинка и доказательства примеси солей цинка в лекарственных препаратах.

Для соединений цинка используют также реакцию образования “зелени Ринмана”. Фильтровальная бумага, смоченная растворами соли цинка и кобальта нитрата, после сжигания, даёт золу, окрашенную в зелёный цвет (реакция образования смешанного оксида кобальта и цинка CoZnO_2 , “зелени Ринмана”):



Реакция на сульфат ион

К раствору препарата прибавляют 0,5 мл бария хлорида, образуется белый осадок, нерастворимый в разведённых минеральных кислотах:



Количественное определение (комплексометрия)

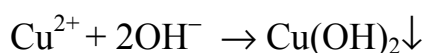
По ГФ титрование проводят в присутствии гексаметилентетрамина, который добавляют до создания раствора с pH 5-6; индикатор – ксиленоловый оранжевый.

3. Соединения меди

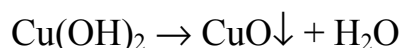
Меди сульфат (Cupri sulfas)

Реакции с раствором щёлочи и аммиака

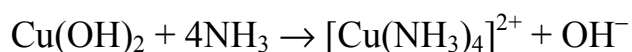
Ион меди с растворами щёлочи и аммиака образует осадок меди гидроксида голубого цвета:



При нагревании $\text{Cu}(\text{OH})_2$ происходит отщепление воды с образованием меди (II) оксида черного цвета:



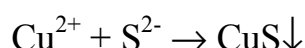
При добавлении к меди (II) гидроксиду избытка раствора аммиака образуется растворимый комплексный ион тетраамминмеди (II) синего цвета:



Реакция с раствором аммиака рекомендована ГФ для доказательства подлинности меди сульфата.

Осаждение сульфидами

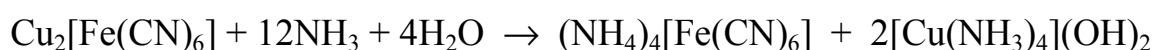
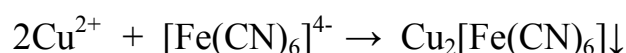
Растворимые соли меди (II) с сульфид-ионом образуют осадок меди (II) сульфида чёрного цвета, нерастворимый в разведённой кислоте хлороводородной:



Реакция используется ГФ при определении примесей солей металлов, не осаждаемых сероводородом (ионы Na^+ ; K^+) для предварительного осаждения ионов меди в виде меди сульфида.

Реакция с калия гексацианоферратом (II)

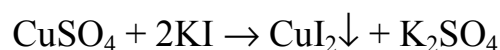
Растворимые соли меди с гексацианоферратом (II) ионом образуют красно-бурый осадок комплексной соли, нерастворимый в разбавленных кислотах и растворимый в растворе аммиака с образованием комплексного иона тетраамминмеди (II) – $[\text{Cu}(\text{NH}_3)_4]^{2+}$:



Реакция рекомендована ГФ для доказательства подлинности меди сульфата.

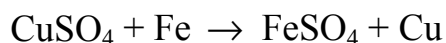
Реакция с калия йодидом

Растворимые соли меди (II) с калия йодидом образуют меди (II) йодид, который диспропорционирует с выделением свободного йода и труднорастворимого осадка меди (I) йодида белого цвета:



Восстановление металлами

Металлы (железо, цинк, алюминий) восстанавливает Cu^{2+} до металлической меди. Раствор препарата меди сульфата при соприкосновении с железом покрывает его красным налётом металлической меди:



Окрашивание пламени

Соли меди (II) окрашивают пламя в зелёный цвет в присутствии кислоты хлороводородной.

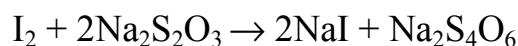
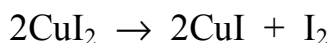
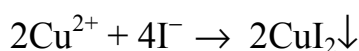
Реакция на сульфат-ион

Раствор препарата с раствором бария нитрата образует белый осадок, нерастворимый в кислотах.

Сульфат меди входит в состав реактива Фелинга, применяемого в реакциях подлинности на лекарственные средства, обладающих восстанавливающими свойствами, таких как глюкоза, кислота аскорбиновая, производные альдегидов и др.

Количественное определение

ГФ регламентирует метод йодометрии. В основе метода лежит реакция восстановления Cu^{2+} до Cu^{1+} избытком калия йодида. Образующийся меди (II) йодид, вследствие диспропорционирования, выделяет йод в количестве, эквивалентном количеству прореагировавшего меди сульфата. Титрант – 0,1 М раствор натрия тиосульфата; индикатор – крахмал:

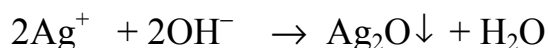


4. Соединения серебра

Серебра нитрат (Argenti nitras), протаргол (Protargolum), колларгол (Collargolum).

Реакции с растворами щёлочи и аммиака

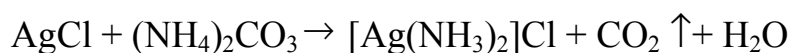
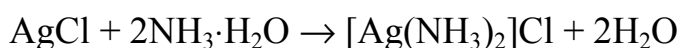
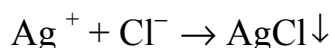
Серебра нитрат с раствором щёлочи и аммиака образует осадок чёрного цвета – серебра оксид:



С избытком раствора аммиака ион серебра образует растворимый бесцветный комплекс $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]^+$ – ион диамминсеребра. Реакция с раствором аммиака применяется при определении примесей висмута, меди, свинца; при наличии примесей ионы висмута и свинца образуют белые осадки гидроксидов, ионы меди – комплексный ион тетраамминмеди(II) $[\text{Cu}(\text{NH}_3)_4]^{2+}$, окрашенный в синий цвет.

Реакции осаждения

Ион серебра с хлорид-ионом образует белый творожистый осадок серебра хлорида, нерастворимый в кислоте азотной, растворимый в растворах аммиака и аммония карбоната с образованием диамминсеребра хлорида:

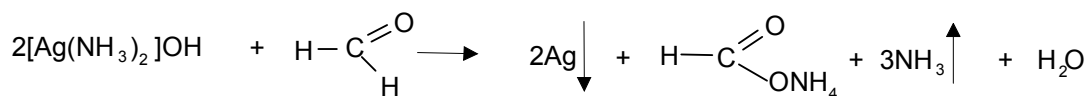


Реакция рекомендована ГФ в качестве испытания подлинности на ион серебра.

Для иона серебра характерны реакции осаждения с ионами S^{2-} , SO_3^{2-} , SO_4^{2-} , CrO_4^{2-} , PO_4^{3-} , $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$, Br^- , I^- и другими, но все осадки растворимы в разведённой кислоте азотной за исключением галогенидов серебра.

Реакция серебряного зеркала

Аммиачный раствор соли серебра вступает в реакцию с альдегидами, восстанавливающими серебро до металлического, вследствие чего образуется налёт серебра на стенках пробирки в виде серебряного зеркала:

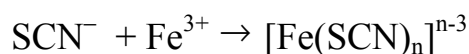
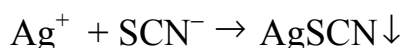


Реакция на нитрат-ион

С дифениламином в концентрированной кислоте серной; образуется синее окрашивание дифенилдифенохинондиимина гидросульфат (см. стр....)

Количественное определение

Метод тиоцианатометрии (роданометрия). Способ прямой. Титрант – 0,1 М раствор аммония тиоцианата; индикатор – железоаммонийные квасцы. Титрование ведут до слабо-розовой окраски раствора вследствие образования комплексных ионов:



Для предотвращения гидролиза иона Fe^{3+} титрование ведут в слабо кислой среде с добавлением кислоты азотной.

Коллоидные соединения серебра

Серебро в коллоидных соединениях серебра: протаргол, колларгол – не находится в диссоциированном состоянии в виде иона. Для того чтобы провести анализ на серебро, необходимо перевести его в ионное состояние, а затем открыть реакциями, характерными для иона серебра. Для этого проводят минерализацию полным озолением. Полученный серовато-белый остаток обрабатывают кислотой азотной, в результате чего серебро, связанное с белком, переходит в ионное состояние. Далее проводят реакции на ион серебра.

Определение белка

1) При сжигании 0,1 – 0,2 г препарата происходит обугливание и распространяется запах жжёного рога.

2) Биуретовая проба. Реакция основана на способности белков (аминокислот) образовывать окрашенный в фиолетовый цвет комплекс с меди сульфатом.

Количественное определение

В колбе Кьельдаля проводят минерализацию концентрированными серной и азотной кислотами при нагревании для перевода связанного серебра в ионное состояние. Затем проводят определение методом тиоцианатометрии, (см. серебра нитрат).

5. Соединения железа

Ferri (II) sulfas. Железо (II) сульфат.

Реакция с растворами щёлочи и аммиака

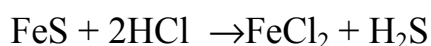
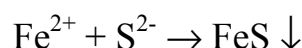
Растворимые соли железа (II) с раствором щёлочи и аммиака образуют осадок железа (II) гидроксида белого цвета, постепенно переходящий на воздухе в железа (III) гидроксид бурого цвета.



Реакция с раствором аммиака рекомендована ГФ при определении примеси солей меди. При наличии примеси образуется окрашенный комплекс тетраамминмеди $[\text{Cu}(\text{NH}_3)_4]^{2+}$ тёмно-синего цвета.

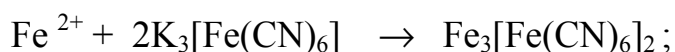
Осаждение сульфидами

Растворимые соли железа (II) с сульфид-ионом дают осадок чёрного цвета, растворимый в кислоте хлороводородной:



Реакция осаждения калия гексацианоферратом (III)

Растворы солей железа (II) с калия гексацианоферратом (III) образуют синий осадок железа (II) гексацианоферрата (III):



возможно также образование: $\text{KFe}[\text{Fe}(\text{CN})_6]$; $\text{Fe}_4[\text{Fe}(\text{CN})_6]_3$

Осадок нерастворим в минеральных кислотах. В щелочной среде образуется железа (II) гидроксид.

Реакция на сульфат-ион

Раствор препарата с раствором бария хлорида дает осадок белого цвета, нерастворимый в минеральных кислотах.

Количественное определение

Метод перманганатометрии. Способ прямой. Титрантом и индикатором служит 0,1 М раствор калия перманганата, титрование ведут до устойчивой розовой окраски раствора:



6. Комплексные соединения железа, платины и гадолиния

Методы анализа лекарственных веществ данной группы представлены в таблице 2.

Таблица 2. Комплексные соединения железа, платины, гадолиния

Название	Подлинность	Количественное определение
Железа фумарат	1)доказательство фумарат-иона (ИК-спектр); 2) доказательство иона Fe^{2+} (см. железа (II) сульфат).	Цериметрия. Прямое титрование. Титрант – 0,1М раствор церия сульфата. Индикатор – о-фенантролин, который с Fe^{2+} образует комплекс красного цвета (ферроин). В точке эквивалентности цвет меняется до зеленого.

<p>Железа глюконат</p>	<p>1) доказательство глюконат-иона: а) раствор препарата дает с железа (III) хлоридом светло-зеленое окрашивание; б) ТСХ 2)) доказательство иона Fe^{2+} (см. железа (II) сульфат).</p>	<p>Цериметрия (см. выше железа фумарат)</p>
<p>Цисплатин</p>	<p>1) УФ-спектр препарата должен совпадать с УФ-спектром раствора стандартного образца; 2) доказательство аммиака: кипячение препарата в смеси цинковой пыли и натрия гидроксида приводит к выделению аммиака (обнаруживают красным лакмусом): $H_6Cl_2N_2Pt + 4NaOH + Zn + 2H_2O \Rightarrow 2NH_3\uparrow + Na_2[Pt(OH)_2Cl_2] + H_2\uparrow + Na_2[Zn(OH)_4]$ 3) восстановление платины кислотой муравьиной (выпадает черный осадок металлической платины): $H_6Cl_2N_2Pt + HCOOH \Rightarrow Pt\downarrow + 2NH_4Cl + CO_2\uparrow$ 3) доказательство хлорид-иона (с серебра нитратом)</p>	<p>1) Гравиметрия; 2) метод Кьельдаля; 3) ВЭЖХ</p>

<p>Циклоплатам</p>	<p>1) Доказательство платины: препарат дает с раствором $SbCl_2$ желтое окрашивание; 2) доказательство остатка кислоты яблочной: препарат с раствором β-нафтола в кислоте серной концентрированной при нагревании дает желто-зеленое окрашивание с синей флуоресценцией; 3) определение аммиака: к препарату прибавляют цинковую пыль, кислоту серную и нагревают; затем добавляют избыток натрия гидроксида и реактив Несслера – выделяется осадок красно-бурого цвета; 4) доказательство сложно-эфирной группы – образование окрашенных гидроксаматов железа, меди, кобальта.</p>	<p>1) Гравиметрия 2) Спектрофотометрия</p>
<p>Гадодиамид</p>	<p>1) ИК-спектроскопия; 2) атомно-адсорбционная спектроскопия</p>	<p>1) Атомно-адсорбционная спектроскопия; 2) ВЭЖХ</p>

Тема 5. АНАЛИЗ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ ГРУППЫ АЛИФАТИЧЕСКИХ АЛКАНОВ, ИХ ГАЛОГЕНО- И КИСЛОРОДОСОДЕРЖАЩИХ СОЕДИНЕНИЙ

Освоение человеком органических веществ и выделение их из природных источников диктовалось практическими потребностями. С давних пор известны масла, жиры, сахар, крахмал и многие другие вещества.

Первый период развития органической химии, называемый эмпирическим, охватывает большой промежуток времени: от первоначального знакомства человека с органическими веществами до возникновения органической химии как науки. В этот период познание органических веществ, способов их выделения и переработки происходило опытным путем. К концу эмпирического периода были известны многие органические соединения.

Следующий период, аналитический, связан с появлением методов установления состава органических веществ. Именно в этот период было установлено, что все органические соединения содержат углерод. Кроме углерода, в составе органических соединений были обнаружены такие элементы как водород, азот, фосфор, которые в настоящее время называют элементами-органогенами. Стало ясно, что органические соединения отличаются от неорганических прежде всего по составу.

Лекарственные средства органического происхождения составляют большую часть фармацевтических препаратов. В отличие от неорганических, большинство органических соединений не являются электролитами, поэтому для их анализа обычно не могут быть применены реакции ионного типа, как в случае неорганических соединений. В то время как реакции между неорганическими соединениями в большинстве своем протекают мгновенно вследствие обмена ионами, реакции органических веществ, как правило, идут медленно и часто их можно остановить на образовании промежуточных продуктов.

Характерной особенностью органических соединений является наличие в их молекуле определенных функциональных групп. Характер функциональных групп органических лекарственных средств не только определяет реакции подлинности, но и лежит в основе метода количественного определения.

В исследовании органических лекарственных средств большое значение имеет определение физических констант. Так для твердых лекарственных средств характерным показателем является температура плавления. Для характеристики отдельных лекарственных средств служат: показатель

температурных интервалов перегонки, плотность, показатель преломления и удельное вращение. Для идентификации масел и жиров характерны такие химические константы как кислотное число, число омыления, йодное число и т.д. Эти показатели являются не только важными в определении подлинности лекарственных средств, но и являются критериями чистоты.

Классификация

Лекарственные вещества производные ациклических алканов, их галогено- и кислородосодержащие соединения разделяют на следующие подгруппы:

- **парафины и их галогенопроизводные** (галотан, хлорэтил);
- **спирты и эфиры** (спирт этиловый, глицерин, нитроглицерин, диэтиловый эфир);
- **альдегиды и их производные** (раствор формальдегида, метенамин, хлоралгидрат);
- **углеводы** (глюкоза, сахароза, лактоза, крахмал).

1. ГАЛОГЕНОПРОИЗВОДНЫЕ УГЛЕВОДОРОДОВ

К данной группе относятся производные углеводородов, в которых один или несколько атомов водорода заменены атомами галогена (табл. 1).

Таблица 1. Галогенопроизводные углеводородов

Химическая структура	Описание
$ \begin{array}{c} \text{F} \qquad \text{Cl} \\ \qquad \\ \text{F} - \text{C} - \text{C} - \text{H} \\ \qquad \\ \text{F} \qquad \text{Br} \end{array} $	<p>Halothanum (Phthorothanum) Галотан (Фторотан) 1,1,1-Трифтор-2-хлор-2-бромэтан. Прозрачная бесцветная, тяжелая, подвижная, легко летучая жидкость с запахом, напоминающим хлороформ; не воспламеняется. Содержит 0,01% тимола, добавляемого в качестве стабилизатора. Мало растворим в воде, смешивается с безводным спиртом, эфиром, хлороформом, трихлорэтиленом и с летучими маслами. Средство для ингаляционного наркоза.</p>

C_2H_5Cl	<p>Aethylii chloridum. Хлорэтил. Прозрачная бесцветная, легко летучая жидкость, своеобразного запаха. Горит, окрашивая пламя в зеленый цвет.</p> <p>Трудно растворим в воде (приблизительно в 50 частях). Смешивается во всех соотношениях со спиртом и эфиром.</p> <p>Средство для ингаляционного (кратковременного) наркоза и местного охлаждения тканей.</p>
------------	---

По характеру галогена различают фтор-, хлор-, бром- и йодпроизводные.

В соответствии со шкалой Полинга галогены являются более электроотрицательными элементами, чем атом углерода, находящийся в состоянии sp^3 -гибридизации. Вследствие этого электронная плотность ковалентной связи углерод-галоген смещена в сторону атома галогена, другими словами связь $C-Hal$ полярная. Пара валентных электронов, образующих эту связь, сдвинута к более электроотрицательному атому. Следовательно, повышается вероятность того, что при разрыве полярной связи оба электрона отойдут к более электроотрицательному атому.

Таблица 2. Основные характеристики ковалентных связей в галогеналканах

Связь	Энергия связи, кДж/моль	Длина связи, нм
$C-H$		
$C-C$	414	0,112
$C-F$	347	0,154
$C-Cl$	448	0,142
$C-Br$	326	0,177
$C-I$	285	0,191
	213	0,213

Однако, кроме электроотрицательности нужно учитывать и другие факторы, в частности энергию связи. Энергия связи является мерой ее прочности. Связь $C-F$ намного прочнее даже, чем связь $C-C$, не гово-

ря уже о связях C — Cl и C — Br и особенно C — I . Наблюдаемое явление объясняется поляризуемостью атомов, связанной с их размерами. Чем больше диаметр атома, тем легче он поляризуется и тем легче происходит гетеролитический разрыв связи (см. табл. 2).

ПРЕДВАРИТЕЛЬНЫЕ ИСПЫТАНИЯ

Проба Бельштейна

Предварительная проба Бельштейна служит для подтверждения наличия галогена в молекуле вещества органической природы. При прокаливании препарата на медной проволоке происходит окрашивание пламени в зеленый цвет (галоидные соединения меди).

Медную проволоку длиной 10-12 см с загнутым в форме ушка концом или медную проволоку, предварительно обработанную азотной кислотой, промывают дистиллированной водой, прокаливают в пламени спиртовки до исчезновения окраски пламени. После охлаждения проволоки в ее ушко помещают 3-5 мг вещества и снова вносят в пламя. Если пламя спиртовки или газовой горелки окрашивается в зеленый цвет, то можно сделать вывод о наличии в испытуемом веществе галогена. При его отсутствии характерной окраски пламени не наблюдается.

В случае положительного эффекта пробы Бельштейна для подтверждения наличия галогена в молекуле неизвестного вещества и для определения наличия хлора, брома и йода проводят дополнительные испытания путем минерализации веществ в присутствии безводного карбоната натрия. Образующиеся галогенид-ионы обнаруживают и идентифицируют известными реакциями.

Способы перевода ковалентно связанных галогенов в ионное состояние и идентификация галогенов

Минерализация фторсодержащих соединений:

- 1) Сплавление с металлическим натрием.
- 2) Сжигание в колбе с кислородом.

М е т о д и к а (по ГФ). Метод сжигания веществ в атмосфере кислорода применяется для определения галогенов (хлора, брома, йода, фтора) а также серы и фосфора).

Сущность метода состоит в разрушение органических веществ сжиганием в атмосфере кислорода, растворении образующихся продуктов

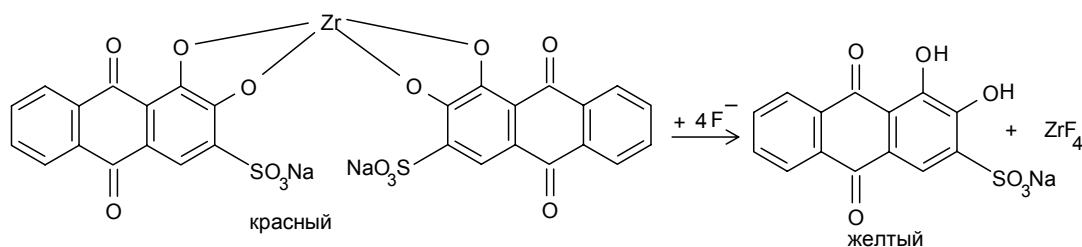
сгорания в поглощающей жидкости и последующим определением элементов, находящихся в растворе в виде ионов.

В колбу для сжигания наливают воду или другую поглощающую жидкость (для хлора и брома – это раствор пероксида водорода, для йода - раствор гидроксида натрия, для фтора – это вода) и пропускают в течение 3-5 минут 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 минут при периодическом перемешивании, после чего проводят определение тем или иным методом, подходящим для данного элемента.

Доказательство фтора

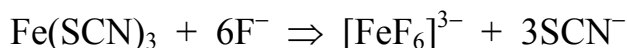
1) С цирконий-ализариновым реактивом.

После нагревания с расплавленным металлическим натрием реакционную смесь разводят водой, добавляют раствор кислоты уксусной для нейтрализации щелочи и затем добавляют смесь, состоящую из равных объемов растворов ализаринового красного С и циркония (IV) нитрата в кислоте хлороводородной; красный цвет раствора переходит в желтый:



2) Обесцвечивание раствора железа (III) тиоцианата.

Фториды обесцвечивают красного цвета раствор железа (III) тиоцианата:



3) Образование опалесценции или белого осадка кальция фторида.

Фториды при взаимодействии с растворимыми солями кальция и бария дают белые осадки:



4) Для всех фторсодержащих соединений.

Нагревание фторсодержащих органических соединений в смеси калия хромата и кислоты серной концентрированной приводит к образованию кислоты фтороводородной (плавиковой). Последняя взаимодействует со стеклом, образуя маслянистые капли.

М е т о д и к а: 0,5 мл 1% раствора хромата калия нагревают с концентрированной кислотой серной в пробирке на водяной бане в течение 5 минут. Раствор легко смачивает стенки пробирки, не оставляя масляных капель. К раствору добавляют 0,01 г фторсодержащего препарата и снова нагревают в течение 5 минут. Раствор не смачивает стенки пробирки, оставаясь в виде масляных капель.

Минерализация хлор- и бромсодержащих соединений

- 1) Нагревание с кристаллическим натрием гидрокарбонатом.
- 2) Нагревание с водным (левомецетин) или спиртовым (хлорэтил) раствором натрия гидроксида.
- 3) Восстановление цинковой пылью в кислой или щелочной среде при нагревании (бромкамфора).
- 4) Сжигание в колбе с кислородом

Минерализация йодсодержащих соединений

- 1) Нагревание кристаллического препарата в сухой пробирке (выделение фиолетовых паров йода).
- 2) Нагревание с концентрированной кислотой серной.
- 3) Нагревание со спиртовым раствором серебра нитрата
- 4) Сжигание в колбе с кислородом

АНАЛИЗ ИНДИВИДУАЛЬНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ

Галотан (Фторотан).

Подлинность. 1) Минерализация с последующим определением фторид-иона по реакции с цирконий-ализариновым комплексом.

М е т о д и к а: 0,5 мл препарата нагревают с 0,05 г расплавленного металлического натрия, охлаждают, осторожно прибавляют 2 мл воды, раствор фильтруют и к фильтрату прибавляют 0,5 мл кислоты уксусной ледяной. 0,1 мл полученного раствора прибавляют к 0,2 мл смеси, состоящей из равных объемов свежеприготовленного раствора ализаринового

красного С и 0,1% раствора циркония нитрата в кислоте хлороводородной; красный цвет раствора переходит в светло-желтый.

2) После прибавления раствора фторотана к кислоте серной концентрированной препарат должен находиться в нижнем слое. Плотность фторотана (1,865 – 1,870) больше, чем у кислоты серной концентрированной (1,8300 – 1,8350). Это испытание позволяет также отличить фторотан от хлороформа, имеющего плотность 1,474 – 1,483.

3) Инфракрасные спектры препарата и стандартного образца фторотана должны быть идентичны.

У фторотана определяют также показатель преломления и температуру кипения.

Чистота. ФС на фторотан регламентирует определение предела кислотности или щелочности, хлоридов и бромидов, свободных хлора и брома, нелетучего остатка.

1) *Кислотность или щелочность.* Препарат встряхивают с охлажденной водой. На нейтрализацию водной вытяжки должно расходоваться определенное количество стандартных растворов натрия гидроксида и кислоты хлороводородной.

2) *Хлориды и бромиды.* К водной вытяжке из препарата добавляют кислоту азотную и раствор серебра нитрата. Не должна появляться опалесценция.

3) *Свободные хлор и бром.* К водной вытяжке из препарата прибавляют раствор калия йодида и крахмал. Если хлор и (или) бром присутствуют в водной вытяжке, то пройдет реакция их (как окислителей) с калия йодидом (восстановителем) с образованием свободного йода и появлением синего окрашивания.

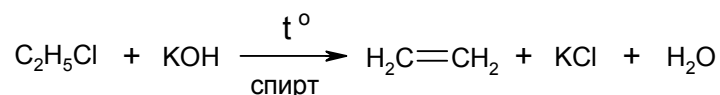
4) *Летучие примеси* определяют методом газожидкостной хроматографии.

В препарате определяют также содержание тимола, добавляемого в качестве консерванта. Количественное определение примеси проводят с помощью метода фотоэлектроколориметрии, измеряя оптическую плотность окрашенного соединения, полученного при взаимодействии галотана с титана диоксидом.

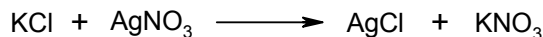
Статья Британской фармакопеи регламентирует определение тимола в галотане с помощью метода газо-жидкостной хроматографии.

Хлорэтил

Подлинность. Идентификацию хлорэтила проводят после предварительной минерализации спиртовым раствором гидроксида калия при нагревании с обратным холодильником:



Охлажденный раствор дает характерную реакцию на хлориды:



Препарат испаряется при комнатной температуре. Температура кипения хлорэтила 12 – 13 °С. Для определения температуры кипения в цилиндр, снабженный пробкой и трубкой, охлаждаемый снаружи ледяной водой, наливают 5 мл хлорэтила, закрывают пробкой, в трубке которой находится термометр, шарик которого обернут марлей. Конец марли опускают в жидкость, а шарик термометра находится на поверхности хлорэтила. Ледяную воду заменяют на воду с температурой 24 – 26° и наблюдают за температурой кипения. Препарат должен испариться при 12-13 °С.

Плотность 0,919 – 0,923 при 0 °С (определяют предварительно охлажденным ареометром в цилиндре, который охлаждается ледяной водой).

Чистота. 1) *Кислотность.* Препарат встряхивают в делительной воронке с ледяной водой. К водному слою добавляют индикатор бромтимоловый синий. Окраска раствора должна измениться от прибавления определенного количества 0,05 н. раствора натия гидроксида.

2) *Спирт этиловый.* Недопустимую примесь спирта этилового определяют по реакции образования йодоформа:



Так как примесь спирта этилового является недопустимой, добавление реактивов к водной вытяжке из препарата не должно приводить к появлению мути.

3) *Органические примеси.* Препарат смешивают с концентрированной серной кислотой в пробирке, погруженной в ледяную воду. Полученный раствор должен оставаться бесцветным (органические примеси обугливаются).

2. СПИРТЫ

Спиртами называют производные углеводов, в которых один или несколько атомов водорода заменены на гидроксильные группы. В зависимости от числа гидроксильных групп спирты подразделяются на одно-,

двух-, трехатомные и др., а в зависимости от характера углеводородного радикала – на алифатические, алициклические и ароматические.

К лекарственным веществам группы алифатических спиртов относятся спирт этиловый и глицерин. Свойства данных лекарственных веществ приведены в таблице 2.

Таблица 2. Лекарственные вещества группы алифатических спиртов.

Химическая структура	Описание
C_2H_5OH	<p>Spiritus aethylicus 95%. Спирт этиловый 95% Прозрачная, бесцветная, подвижная жидкость с характерным спиртовым запахом. Кипит при 78 °С. Легко воспламеняется, горит синеватым, слабо светящимся бездымным пламенем. Смешивается во всех отношениях с водой, эфиром, хлороформом, ацетоном и глицерином.</p>
$ \begin{array}{c} CH_2 - CH - CH_2 \\ \quad \quad \\ OH \quad OH \quad OH \end{array} $	<p>Glycerinum. Глицерин. Густая, прозрачная, бесцветная или почти бесцветная гигроскопичная жидкость. Смешивается с водой и спиртом, мало смешивается с эфиром.</p>

Физические свойства спиртов существенно зависят от строения углеводородного радикала и положения гидроксильной группы. Так, этанол и глицерин смешиваются с водой во всех отношениях. С ростом молекулярной массы растворимость спиртов в воде резко падает.

С увеличением числа гидроксильных групп происходит повышение относительной плотности и температуры кипения спиртов. Спирты обладают очень высокими температурами кипения по сравнению с представителями таких классов органических соединений, как алканы, тиолы, амины. Например, температура кипения этанола 78 °С, тогда как хлорэтана – 13 °С, а этана – 88,5 °С. Эти различия объясняются особенностями строения спиртов. Атом кислорода в молекуле спирта обладает большой электроотрицательностью и оттягивает на себя электронную плотность свя-

занных с ним атомов, в частности атома водорода. Связь O—H в молекуле спирта сильно поляризована.

Электронная плотность на атоме водорода оказывается пониженной. Поэтому он может взаимодействовать с неподеленной парой электронов атома кислорода другой молекулы спирта. Между двумя молекулами возникает водородная связь. Молекулы, связанные между собой водородными связями, образуют ассоциаты.

Прочность водородных связей невелика, но для их разрыва при переходе молекулы из газообразного состояния требуется дополнительная энергия. Этим и объясняются высокие температуры кипения спиртов. Наибольшую склонность к образованию водородных связей проявляют первичные спирты. Для вторичных и особенно для третичных спиртов способность к ассоциации уменьшается, поскольку образованию водородных связей препятствуют разветвленные углеводородные радикалы.

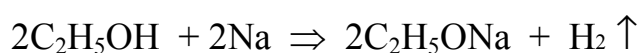
ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА

Следствием большой электроотрицательности атома кислорода в молекуле спирта является поляризация связей O—H и C=O. На атомах водорода и углерода, непосредственно связанных с атомом кислорода, возникают частичные положительные заряды. Полярность связи O—H определяет ее склонность к гетероциклическому разрыву. Атом водорода гидроксильной группы становится подвижным, способным отщепляться в виде протона. Следовательно, спирты могут выступать в роли OH-кислот. В то же время, наличие в молекуле спирта атома кислорода, имеющего неподеленную пару электронов, предопределяет проявление спиртами свойств оснований.

Связь C=O вследствие ее полярности способна к гетеролитическому разрыву. Атом углерода, связанный с гидроксильной группой, несет частичный положительный заряд и может выступать в роли электрофильного центра, а следовательно, подвергаться атаке нуклеофильным реагентом, а благодаря наличию в молекуле спирта атома кислорода с неподеленной парой электронов, спирты способны выступать в роли нуклеофильных реагентов в реакциях с другими соединениями.

Кислотные свойства

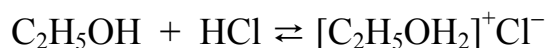
Спирты как кислоты взаимодействуют с активными металлами (K, Na, Ca) с образованием алкоголятов:



В присутствии следов влаги алкоголяты разлагаются до исходных спиртов. Это доказывает, что спирты являются более слабыми кислотами, чем вода. Другим доказательством слабых кислотных свойств спиртов является то, что они не способны образовывать алкоголяты при действии щелочей.

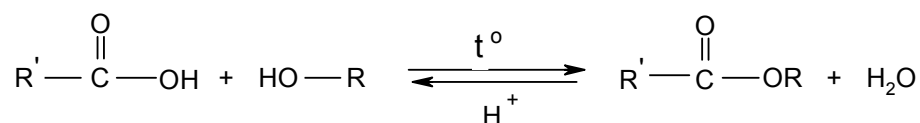
Основные свойства

Основным центром в молекуле спирта является гетероатом кислорода, обладающий неподеленной парой электронов. При действии на спирты сильными кислотами происходит присоединение к нему протона и образуется неустойчивый алкилоксониевый ион:



Нуклеофильное замещение

При действии на спирты минеральной или органической кислоты образуются сложные эфиры:



Реакции окисления

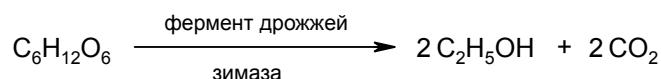
Первичные спирты окисляются до альдегидов, которые в свою очередь могут окисляться до карбоновых кислот. Вторичные спирты окисляются до кетонов. Третичные спирты более устойчивы к окислению. Если окисление все же происходит, то при этом наблюдается разрыв углеродной цепи и образуются карбоновые кислоты (или кетоны), содержащие меньшее число атомов углерода, чем исходный спирт.

Окисление спиртов обычно проводят сильными окислителями – хромовой смесью или смесью перманганата калия с серной кислотой.

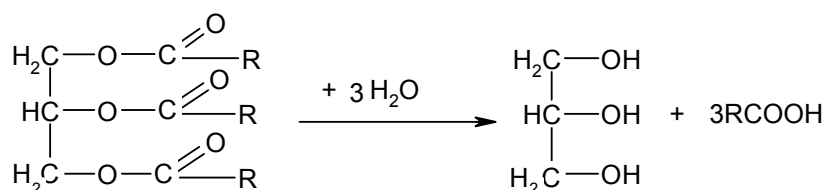
Получение

Спирт этиловый для медицинских целей получают из природного сырья богатого сахарами или полисахаридами (картофель, злаки, фрукты и др.). Процесс сводится к обогащению углеводной фракции, гидролизу

полисахаридов до мальтозы или глюкозы и получению спирта в результате брожения последней:



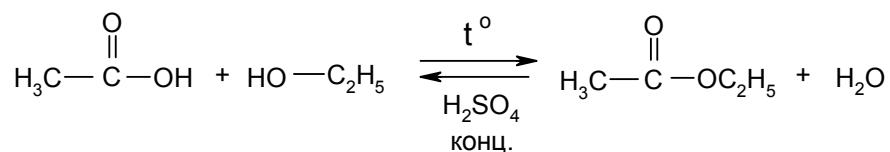
Глицерин впервые был выделен из жиров К. Шееле в 1779 г. Этот способ, заключающийся в гидролизе жиров как триглицеридов под действием липаз или других катализаторов, лежит в основе современного получения глицерина:



АНАЛИЗ ИНДИВИДУАЛЬНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ

Спирт этиловый 95%

Подлинность. 1) *Образование этилацетата.* Испытание основано на способности спиртов (и спирта этилового в частности) к реакции этерификации. Сложные эфиры, полученные при взаимодействии этанола с карбоновыми кислотами с малым числом атомов углерода, приводит к образованию продуктов с приятным фруктовым или цветочным запахом:



2) *Образование йодоформа.* При нагревании спирта этилового с йодом в щелочной среде ощущается характерный запах йодоформа и постепенно образуется желтый осадок йодоформа:

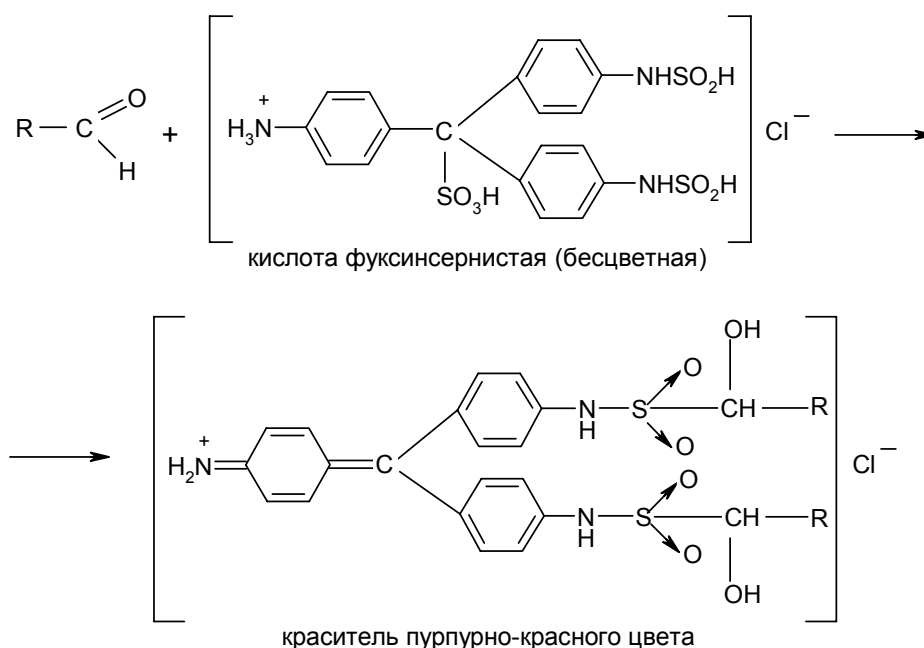


Данная реакция неспецифична. В нее вступают и некоторые другие вещества (например, кетоны, оксикислоты).

При действии сильных окислителей спирт этиловый окисляется до ацетальдегида и далее до кислоты уксусной. Так, спирт этиловый окисляют калия перманганатом в среде кислоты серной в пробирке и одновременно пробирку накрывают фильтровальной бумагой, смоченной растворами натрия нитропруссида и пиперидина. Образующийся в результате окисления спирта летучий ацетальдегид дает с указанными реактивами синее пятно.

Чистота. У спирта этилового определяют такие показатели, как плотность, предел кислотности или щелочности. Спирт этиловый не должен содержать примесей метанола, сивушных масел, альдегидов, фурфурола.

Примесь альдегидов определяют с помощью метода фотоэлектроколориметрии по реакции с кислотой фуксинсернистой. При взаимодействии альдегидов с бесцветной кислотой фуксинсернистой образуется краситель арилметанового ряда пурпурно-красного цвета:

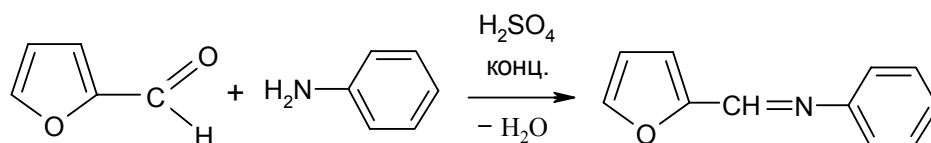


Спирт метиловый и другие летучие вещества определяют методом газо-жидкостной хроматографии (ГЖХ).

Наличие примеси *восстанавливающих веществ* устанавливают по реакции испытуемого спирта с калия перманганатом. Для этого к пробе спирта этилового при температуре 15 °С добавляют определенное количество калия перманганата. При стоянии красно-фиолетовая окраска смеси постепенно изменяется и должна достигнуть окраски эталона не ранее, чем через 20 минут.

Для определения *сивушных масел* полоску фильтровальной бумаги смачивают смесью, состоящей из испытуемого спирта, воды и глицерина. После испарения жидкости не должен ощущаться посторонний запах.

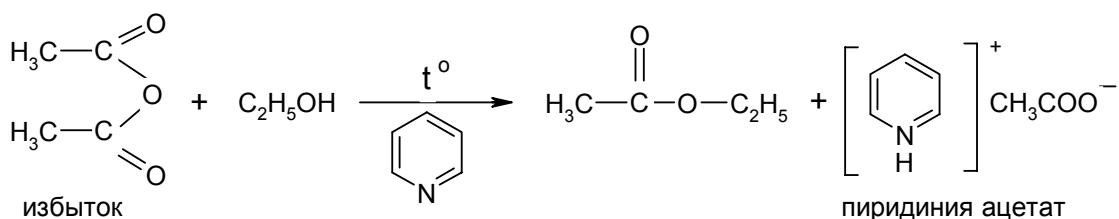
Фурфурол определяют реакцией образования окрашенного основания Шиффа с анилином:



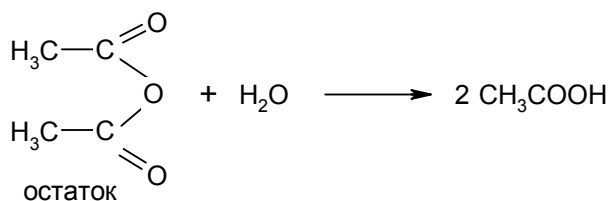
Количественное определение. ФС на спирт этиловый 95% не предусматривает его количественного определения. Среди известных методов количественного анализа препарата оптимальным является ГЖХ.

Титриметрически спирт этиловый можно определить методом ацетилирования. Сущность метода, проходящего три этапа, заключается в образовании сложного эфира при взаимодействии спиртов (а также фенолов и енолов) с ангидридом уксусным, гидролизом избытка ангидрида уксусного и титрования получившейся после гидролиза кислоты уксусной.

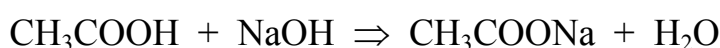
На первом этапе спирт этиловый кипятят с ангидридом уксусным в присутствии безводного пиридина на песчаной бане с обратным холодильником:



На втором этапе остаток ангидрида уксусного подвергают гидролизу:



На третьем, последнем, этапе выделившуюся кислоту уксусную оттитровывают стандартным раствором натрия гидроксида:



Параллельно проводят контрольный опыт, данные которого учитывают при расчете:

$$C_{(\%)} = \frac{(V_{к.о} - V_{о.о}) \cdot k \cdot T \cdot 100}{a}$$

где $V_{к.о}$ – объем 0,1М раствора NaOH, пошедший на титрование контрольного опыта, мл;

$V_{о.о}$ – объем 0,1М раствора NaOH, пошедший на титрование основного опыта, мл;

k – поправочный коэффициент;

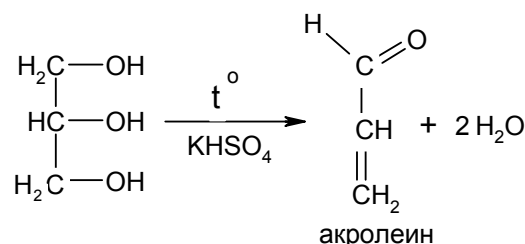
T – титриметрический фактор пересчета;

a – объем анализируемой пробы, мл;

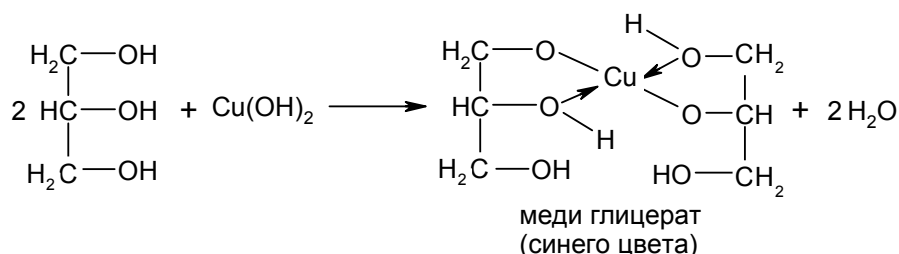
$C_{(\%)}$ – содержание этанола, %.

Глицерин

Подлинность. Дегидратация глицерина в присутствии калия гидросульфата приводит к образованию непредельного альдегида – акролеина, характеризующегося неприятным специфическим и раздражающим запахом:



Глицерин как многоатомный спирт, проявляет более сильные кислотные свойства и взаимодействует не только с металлическим натрием, но и с гидроксидами металлов. Так с меди гидроксидом образуется комплекс синего цвета:



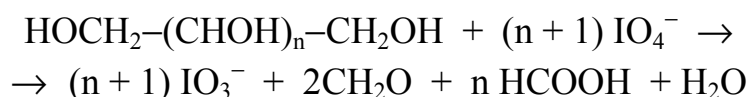
Чистота. ФС на препарат регламентирует определение таких показателей как плотность, температура кипения, предел кислотности и щелочности.

У глицерина определяют примеси альдегидов, эфиров, этиленгликоля и др.

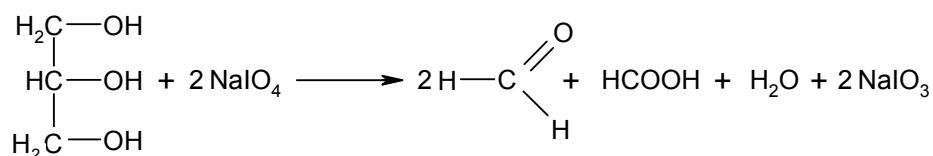
Количественное определение глицерина можно провести с помощью различных методов, например, кислотного-основного титрования или по реакции окисления препарата перйодатами.

Вариантами кислотного-основного титрования глицерина являются ацетилирование и алкалиметрия. При алкалиметрическом определении глицерина навеску препарата нагревают с избытком титрованного раствора натрия гидроксида. Затем остаток натрия гидроксида оттитровывают стандартным раствором кислоты хлороводородной.

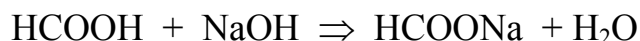
Окисление глицерина перйодатами (реакция Малапрада), как многоатомного спирта со смежными гидроксильными группами, происходит по общей схеме:



В соответствии с этой схемой, окисление глицерина стандартным раствором натрия перйодата приводит к образованию двух молекул формальдегида и одной молекулы кислоты муравьиной:



Выделившуюся в эквивалентном количестве к глицерину кислоту муравьиную оттитровывают стандартным раствором натрия гидроксида:



Параллельно проводят контрольный опыт.

3. ПРОСТЫЕ ЭФИРЫ

Простыми эфирами называют производные спиртов и фенолов, в которых атом водорода гидроксильной группы заменен на углеводородный радикал.

Простые эфиры имеют общую формулу R—O—R

Медицинскими препаратами алифатического простого эфира – диэтилового – являются эфир медицинский и эфир для наркоза (см. табл. 3).

Таблица 3. Препараты эфира диэтилового

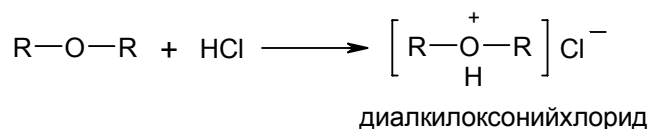
Описание	Свойства
$\text{C}_2\text{H}_5\text{—O—C}_2\text{H}_5$	<p>Aether medicinalis. Эфир медицинский</p> <p>Бесцветная, прозрачная, весьма подвижная, легко воспламеняющаяся летучая жидкость, своеобразного запаха. Пары эфира с воздухом, кислородом и оксидом азота (I) в определенных концентрациях образуют взрывчатую смесь.</p> <p>Растворим в 12 частях воды, смешивается во всех соотношениях со спиртом 95%, бензолом, хлороформом, петролейным эфиром, жирными и эфирными маслами.</p>
	<p>Aether pro narcosi stabilisatum. Эфир для наркоза стабилизированный</p> <p>Препарат стабилизирован антиоксидантом п-фенилендиамином</p>

Простые эфиры представляют собой бесцветные жидкости, плотность которых меньше воды. Простые эфиры кипят при более низких температурах, чем спирты, из которых они могут быть получены, несмотря на то, что содержат удвоенное количество атомов углерода. Например, температура кипения этанола 78 °С, а эфира диэтилового – 36 °С. Это различие объясняется неспособностью простых эфиров образовывать водородные связи. По той же причине плотность эфиров меньше, чем соответствующих спиртов.

Основные свойства

Простые эфиры проявляют свойства оснований за счет наличия в молекуле атома кислорода, имеющего неподеленную электронную пару. Основные свойства у алифатических простых эфиров выражены сильнее, чем

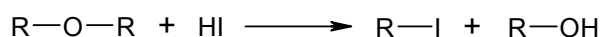
у спиртов. Алифатические эфиры – более сильные основания, чем ароматические. Поэтому при действии минеральных кислот на простые эфиры образуются оксониевые соли:



Оксониевые соли легко гидролизуются при действии воды.

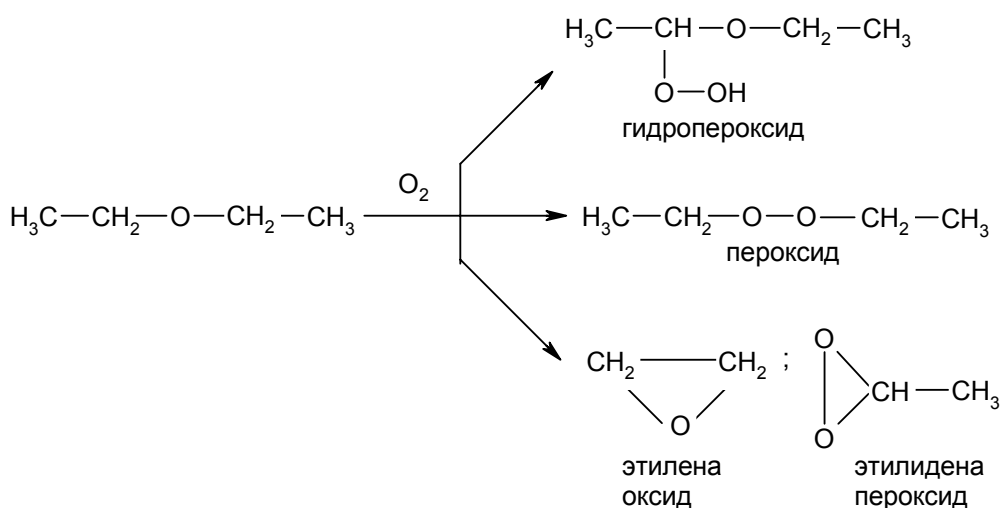
Расщепление простых эфиров

Простые алифатические эфиры и арилалифатические эфиры (в отличие от диарилловых эфиров) расщепляются при действии бромоводородной или йодоводородной кислот. В результате реакции получают соответствующие галогеналкан и спирт:

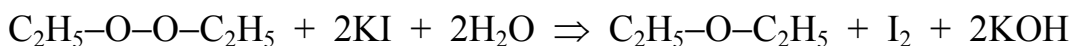


Окисление простых эфиров

При хранении, особенно на свету, простые эфиры медленно окисляются кислородом воздуха с образованием пероксидов и гидропероксидов:



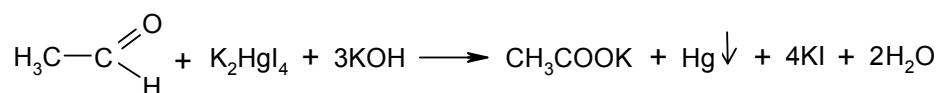
Способность эфира медицинского к окислению необходимо учитывать при работе с ним. Проба на наличие пероксидных соединений проводится с раствором калия йодида. Если в эфире содержатся перекисные соединения, то они окисляют калия йодид до свободного йода, окрашивающего и эфирный, и водный слои в желтый цвет:



При проведении анализа поблизости не должно находиться источников огня.

При определении температуры кипения и нелетучего остатка эфира следует предварительно проверить на содержание перекисей. При наличии перекисей указанные определения проводить нельзя.

Кроме пероксидов в эфире медицинском проверяют наличие примесей альдегидов (наличие их также обусловлено процессом окисления эфира). При добавлении к пробе эфира медицинского реактива Несслера допускается возникновение желто-бурой окраски, а также помутнение нижнего слоя, но не допускается образование осадка:



При анализе на эту же примесь эфира для наркоза добавление реактива Несслера не должно вызывать ни окраски, ни помутнения реактива. Допускается слабая опалесценция.

У эфира медицинского и эфира для наркоза определяют такие показатели, как плотность, кислотность, нелетучий остаток, содержание воды.

Содержание п-фенилендиамина в эфире для наркоза определяют с помощью метода УФ-спектрофотометрии.

Хранят препараты эфира по списку Б в герметически укупоренных склянках оранжевого стекла в защищенном от света месте, вдали от огня.

4. СЛОЖНЫЕ ЭФИРЫ (АЛИФАТИЧЕСКИЕ)

К данной группе относятся нитроглицерин и его препараты (см. таблицу 4), а также эринит (пентаэритрита тетранитрат).

Нитроглицерин применяется в различных лекарственных формах:

– пероральных: таблетки нитрогранулонга мите – 2,9 мг и форте – 5,2 мг; нитрокор – 6,5 мг в микрокапсулах, сустак мите и форте – 2,6 и 6,4 мг соответственно, сустонит по 2,6, 6,5 и 15 мг, нитронг мите и форте – 2,6 и 6,5 мг соответственно, нитро-мак ретард – капсулы по 2,5 и 5 мг;

– трансдермальных: нитро 2% мазь, мазь нитронг, пластыри и диски – депонит по 16 или 32 мг, нитродерм TTS по 25 и 50 мг, нитродиск, нитродур, трансдерм-нитро;

– буккальные: тринитролонг по 1, 2 и 4 мг, сусадрин и сускард по 1, 2, 3 и 5 мг;

– аэрозольные: нитролингвал-аэрозоль.

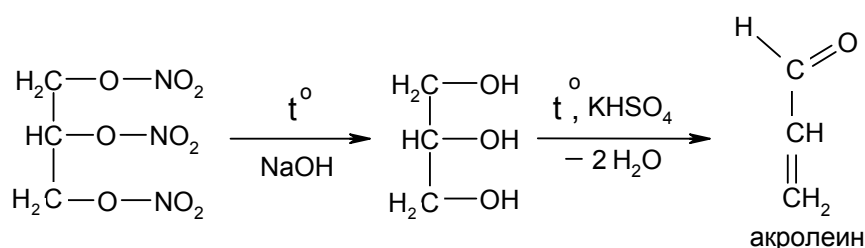
Таблица 4. Свойства нитроглицерина и его препаратов

Химическая структура	Описание
$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{C}-\text{O}-\text{NO}_2 \\ \\ \text{HC}-\text{O}-\text{NO}_2 \\ \\ \text{H}_2\text{C}-\text{O}-\text{NO}_2 \end{array}$	<p>Nitroglycerinum. Нитроглицерин. Глицерина тринитрат. Бесцветная или бледно-желтая масляобразная жидкость. Практически нерастворим в воде, растворим в спирте, эфире. Антиангинальное средство.</p>

Соприкосновение с кожей даже малого количества препарата может вызвать сильные головные боли.

Обращаться с осторожностью при переливании, отвешивании, хранении, так как препарат взрывоопасен.

Подлинность нитроглицерина (спиртового раствора) доказывают по образованию акролеина. Для этого 10 мл препарата смешивают с 1 мл раствора натрия гидроксида и выпаривают на водяной бане до полного удаления спирта, остаток смешивают 1,5 г измельченного калия гидросульфата и нагревают до вспенивания и начинающегося обугливания; появляется острый характерный запах акролеина:



Нитроглицерин дает также характерную реакцию на нитраты (см. стр. 89)

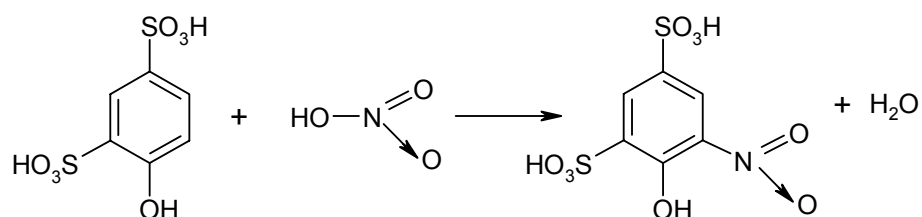
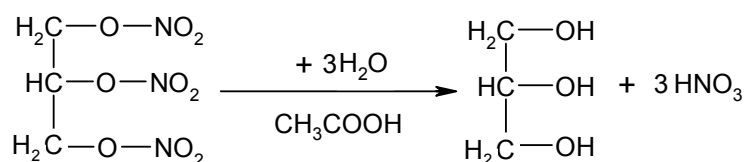
Чистота. В препарате определяют предел кислотности, неорганические нитраты, сопутствующие вещества.

Количественное определение нитроглицерина в его препаратах можно проводить с помощью физико-химических и титриметрических методов.

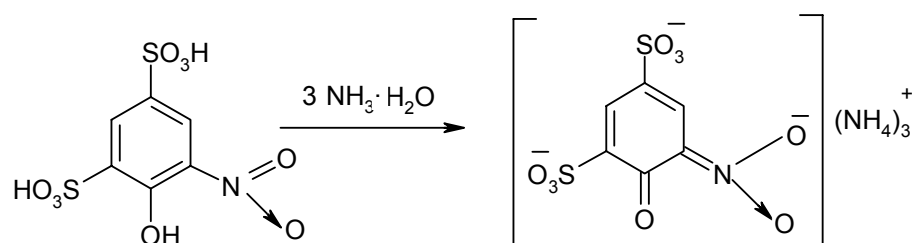
Так, нитроглицерин в спиртовом растворе определяют в присутствии пиридина титрованием стандартным раствором тетрабутиламмония гидро-

ксида. Конец титрования определяют потенциометрически (Британская Фармакопея, 2001).

Спектрофотометрически нитроглицерин определяют после гидролиза в присутствии кислоты уксусной с последующим взаимодействием образовавшейся кислоты азотной с реактивом – кислотой фенолдисульфоновой:



В кислой среде окраска продукта менее интенсивна, чем в щелочной. Поэтому добавление избытка аммиака приводит к перегруппировке с образованием более интенсивно окрашенной аци-формы:



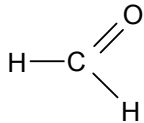
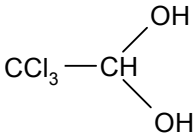
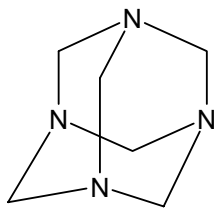
Оптическую плотность полученного раствора, окрашенного в желтый цвет, измеряют при длине волны 410 нм.

Хранение. Список Б. Небольшими количествами, в хорошо закупоренных склянках, в прохладном, защищенном от света месте, вдали от огня.

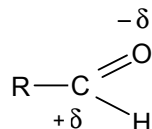
5. АЛЬДЕГИДЫ

Органические лекарственные вещества, содержащие альдегидную группу, или их функциональные производные очень разнообразны по своей химической структуре и применению. Свойства лекарств, относящихся к алифатическим альдегидам и их производным, представлены в таблице 5.

Таблица 5. Свойства лекарственных веществ группы альдегидов

Химическая структура	Описание
	<p>Solutio Formaldehydi. Раствор формальдегида. Прозрачная, бесцветная жидкость своеобразного острого запаха. Смешивается во всех соотношениях с водой и спиртом. Стабилизируют прибавлением спирта метилового, не более 1%. Антисептическое средство.</p>
	<p>Chloralum hydratum. Хлоралгидрат. 2,2,2-трихлорэтандиол-1,1 Бесцветные, прозрачные кристаллы или мелкокристаллический порошок с характерным острым запахом. Гигроскопичен. На воздухе медленно улетучивается. Очень легко растворим в воде, спирте 95% и эфире, легко растворим в хлороформе. Снотворное, противосудорожное средство.</p>
	<p>Methenaminum (Hexamethylentetraminum). Метенамин (Гексаметилентетрамин) 1,3,5,7-Тетраазатрицикло[3.3.1.1.^{3.7}]декан. Бесцветные кристаллы или белый кристаллический порошок без запаха, при нагревании улетучивается, не плавясь. Легко растворим в воде, растворим в спирте 95% и хлороформе, очень мало растворим в эфире. Уроантисептическое средство.</p>

Структура альдегидной группы (дипольный момент карбонила, частично положительный заряд на атоме углерода, поляризуемость двойной связи) обуславливает высокую реакционную способность веществ, содержащих эту функциональную группу:

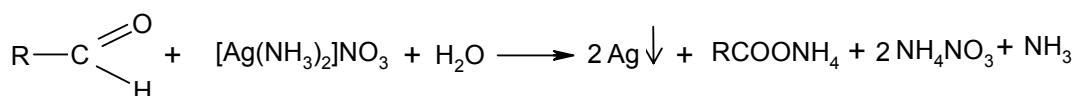


Наиболее характерны для них реакции окисления и нуклеофильного присоединения.

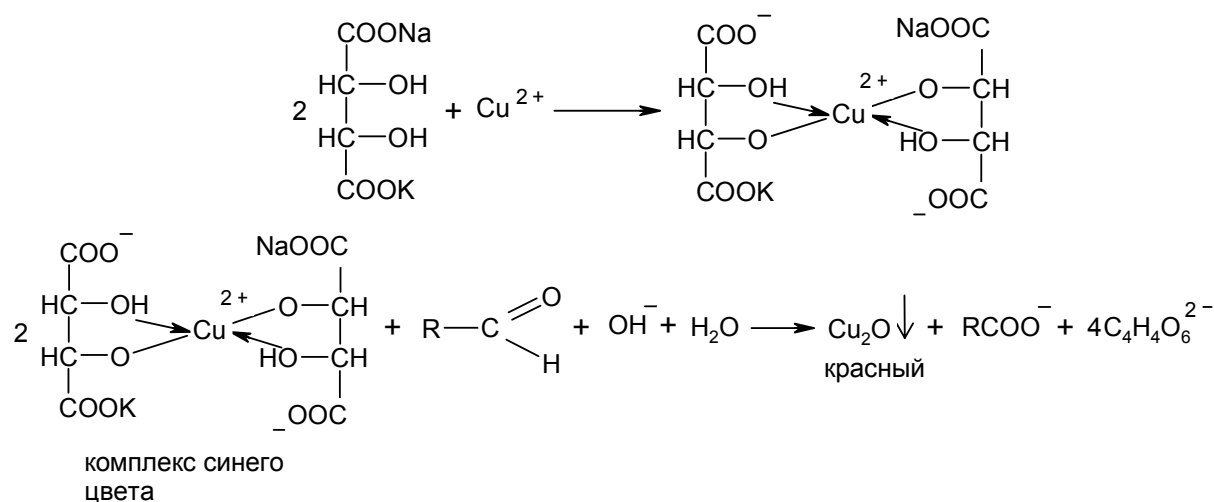
Реакции окисления

Для альдегидов характерно окисление слабыми окислителями в щелочной среде (реакция ускоряется при нагревании).

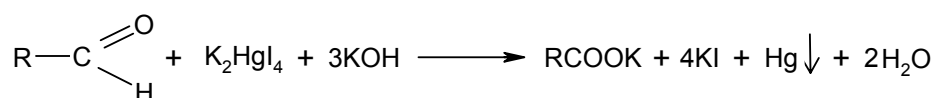
1) *Реакция «серебряного зеркала».* При действии на альдегиды аммиачного раствора серебра нитрата (реактив Толленса) на стенках пробирки выделяется тонкий слой серебряного зеркала или выпадает серый осадок:



2) *Реакция с реактивом Фелинга.* Реактив Фелинга состоит из двух растворов. Раствор № 1 представляет собой водный раствор меди сульфата подкисленный малым количеством кислоты серной. 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:



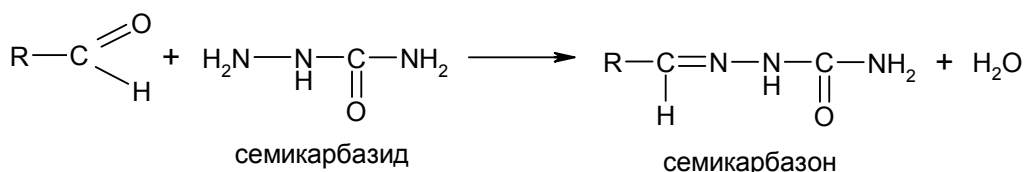
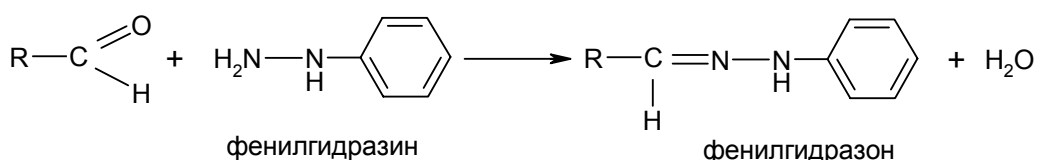
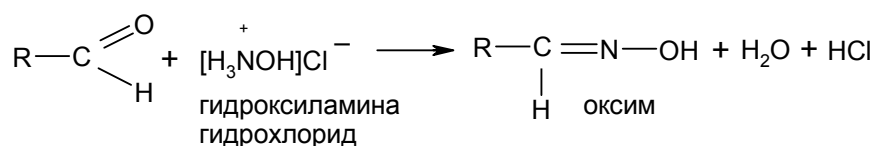
3) *Реакция с реактивом Несслера.* Реактив является щелочным раствором калия тетраодмеркурата. При взаимодействии с ним альдегиды дают осадок металлической ртути серого или черного цвета:



Следует отметить, что реакция с реактивом Несслера является более чувствительной, поэтому она применяется, главным образом, для обнаружения примесей альдегидов в других лекарственных средствах.

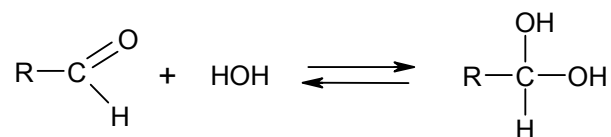
Нуклеофильное присоединение

1) *Присоединение аминов.* Из реакций присоединения наибольший интерес представляет присоединение аминов и их производных. В качестве реагентов применяют гидроксилламин, фенилгидразин, семикарбазид. При взаимодействии с альдегидами получают соответствующие азометины (основания Шиффа): оксимы, фенилгидразоны, семикарбазоны:



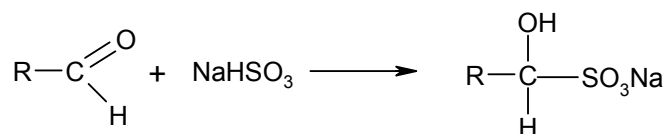
Оксимы, гидразоны и семикарбазоны, как правило, являются нерастворимыми соединениями с характерными температурами плавления. Поэтому данные реакции применяют для качественного и количественного (гравиметрического) определения альдегидов. Образование оксимов лежит в основе оксимного титрования, используемого для количественного определения лекарственных веществ. Выделяющаяся в результате реакции кислота хлороводородная оттитровывается стандартным раствором щелочи. Эти же реакции используют и в синтезе лекарственных веществ.

2) *Присоединение воды.* Альдегиды обратимо взаимодействуют с водой, образуя гидратные формы:

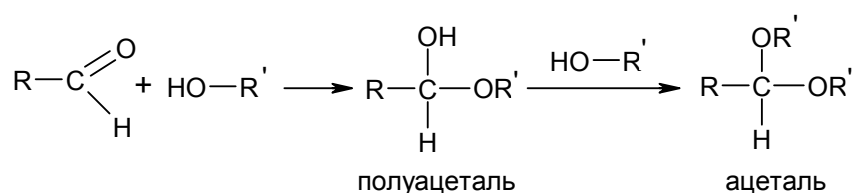


Иногда, при наличии некоторых атомов или функциональных групп, можно получить устойчивые соединения, например, хлоралгидрат.

3) *Присоединение натрия гидросульфита.* Данную реакцию используют для получения лекарственных веществ с лучшей, чем у предшественников, растворимостью (например, стрептоцид растворимый, анальгин).



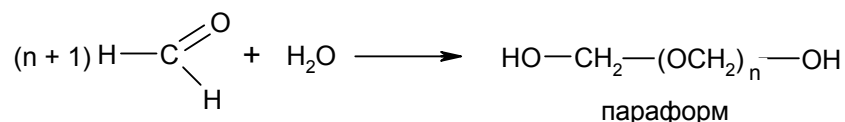
4) *Присоединение спиртов.* Альдегиды присоединяют спирты с образованием полуацеталей и ацеталей:



В кислой среде полуацетали гидролизуются до исходных альдегидов и спиртов. Однако в умеренно щелочной среде они стабильны.

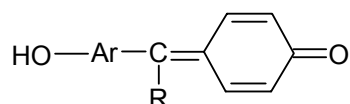
Полуацетали являются некоторые лекарственные вещества (например, углеводы, гликозиды). Реакцию используют также в синтезе, в частности, для защиты карбонильной группы (в щелочной среде).

5) *Полимеризация.* В водных растворах при определенных условиях альдегиды, в том числе формальдегид, могут полимеризоваться:

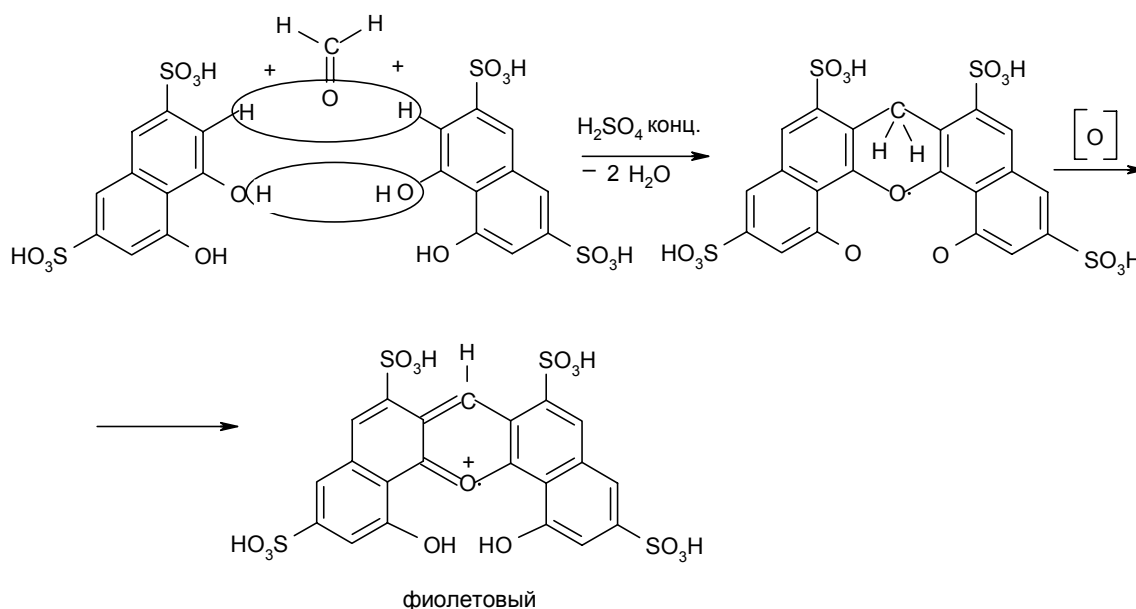


Данное свойство лекарств группы альдегидов учитывают при их хранении, так как в результате полимеризации получаются вещества с иными физико-химическими, а также фармакологическими свойствами, чем исходные лекарственные вещества.

б) *Конденсация с фенолами.* Со многими веществами разнообразной структуры альдегиды реагируют 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 и от структуры альдегида и реагента. Очень чувствительной и избирательной является реакция формальдегида с кислотой хромotropовой (1,8-диоксинафталин-3,6-дисульфоновой):



Данную реакцию можно использовать и для определения подлинности лекарственных веществ, образующих формальдегид при гидролитическом расщеплении (анальгин, дихлотиазид, гексаметиленetetрамин и др.).

По реакции с наиболее активными альдегидами, например формальдегидом, определяют морфина гидрохлорид, кодеин, кислоту салициловую, кислоту ацетилсалициловую, сульфаниламиды, барбитураты.

Ароматические альдегиды, такие как *p*-диметиламинобензальдегид и ванилин, дают характерно окрашенные соединения атропина сульфат, ментол, камфора, платифиллин и др.

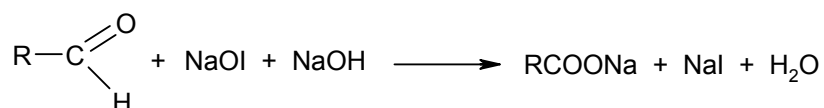
С помощью этой же реакции определяют примесь метанола (после его окисления до формальдегида) в лекарственных веществах, например в барбитале-натрия.

Количественное определение (йодометрия)

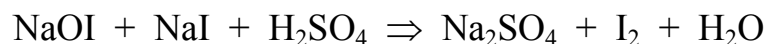
Определение основано на окислении альдегидной группы стандартным раствором йода в щелочной среде, где образуется гипойодит:



Образовавшийся гипойодит окисляет альдегиды в щелочной среде до солей соответствующих карбоновых кислот:



Затем в раствор прибавляют избыток кислоты серной, чтобы выделить йод из не вступившего в реакцию взаимодействия с альдегидом гипойодита:



Выделившийся йод оттитровывают стандартным раствором натрия тиосульфата.

Известны и другие методики количественного определения альдегидов, в основе которых лежат реакции окисления-восстановления.

АНАЛИЗ ИНДИВИДУАЛЬНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

Раствор формальдегида

Данное лекарственное средство является водным раствором формальдегида с содержанием действующего вещества 36,5 – 37,5%. В качестве стабилизатора добавляют спирт метиловый (до 1%).

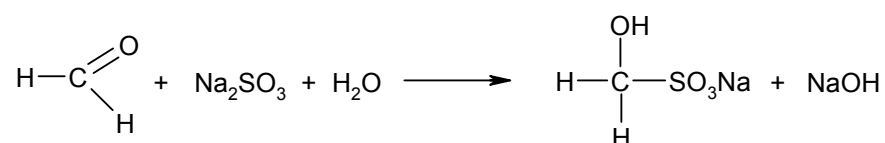
Подлинность. 1) Реакция «серебряного зеркала». Испытание проводят с реактивом Толленса (аммиачный раствор серебра нитрата).

2) Образование арилметанового красителя. Формальдегид вступает в реакцию конденсации и окисления с кислотой салициловой (фенолом) в среде кислоты серной концентрированной. В результате получается краситель красного цвета.

Чистота. Специфической примесью в препарате является кислота муравьиная. Предел ее содержания определяют алкалиметрически.

Количественное определение. Содержание формальдегида в препарате определяют йодометрически.

В лекарственном средстве «Формидрон» – 4% спирто-водном растворе формальдегида – количественное определение лекарственного вещества осуществляют сульфитным методом. По данной методике к раствору препарата добавляют избыток натрия сульфита; в результате реакции образуется эквивалентное количество натрия гидроксида:

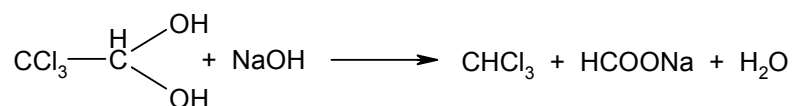


Выделившийся натрия гидроксид титруют стандартным раствором кислоты хлороводородной.

Хлоралгидрат

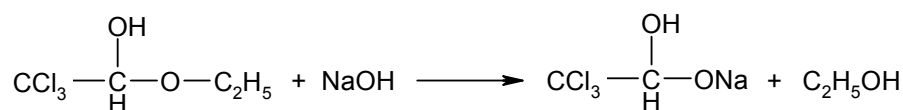
Хлоралгидрат – 2,2,2,-трихлорэтандиол-1,1 – является устойчивой гидратной формой трихлорацетальдегида, благодаря наличию в молекуле атомов галогена. Так, дегидратировать хлоралгидрат можно уже только при действии кислоты серной концентрированной.

Подлинность. 1) Нагревание хлоралгидрата с раствором щелочи приводит к образованию хлороформа (обнаруживается по запаху) и натрия формиата:



2) Образование «серебряного зеркала» с полученным натрия формиатом.

Чистота. Специфической примесью в хлоралгидрате может быть хлоралалкоголят (полуацеталь). Обнаружение его проводят по образованию йодоформа из полученного после щелочного гидролиза препарата этанола:



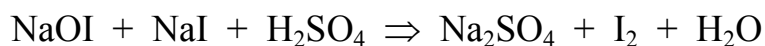
Наличие йодоформа подтверждается характерным запахом и осадком желтого цвета.

Количественное определение. Хлоралгидрат количественно определяют обратным методом. Сначала на навеску хлоралгидрата действуют определенным объемом титрованного раствора натрия гидроксида (химизм см. определение подлинности). Затем избыток натрия гидроксида оттитровывают стандартным раствором кислоты хлороводородной в присутствии фенолфталеина в качестве индикатора.

Кроме приведенной выше методики известны и другие способы количественного определения хлоралгидрата. Так, хлоралгидрат, как и другие альдегиды, можно определять йодометрически в щелочной среде:



Затем в реакционную среду добавляют избыток кислоты серной:

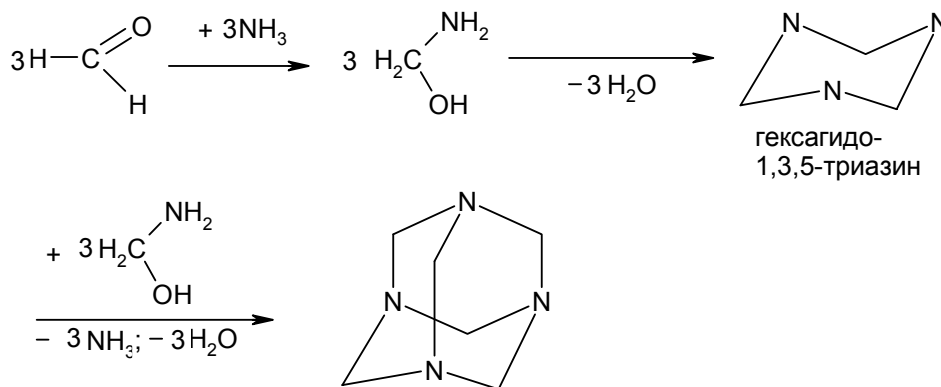


Выделившийся при этом йод оттитровывают стандартным раствором натрия тиосульфата.

Метенамин (Гексаметилентетрамин)

Гексаметилентетрамин был впервые синтезирован А.М. Бутлеровым в 1860 г. при взаимодействии водных растворов формальдегида и аммиака. Как лекарственное средство он стал применяться только спустя 35 лет.

Получение идет в несколько стадий. Сначала образуется гексагидро-1,3,5-триазин, а затем и гексаметилентетрамин:

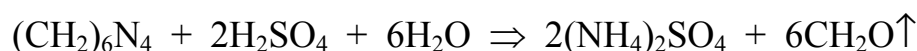


Гексаметилентетрамин по структуре сходен с адамантаном и его можно рассматривать как тетраазаадамантан. Кристаллическая решетка гексаметилентерамина напоминает кристаллическую решетку алмаза.

Гексаметилентерамин подвергается гидролизу в кислой среде с образованием формальдегида и солей аммония; в щелочной среде он относительно устойчив.

Подлинность. 1) ИК-спектр (сравнение со спектром стандартного образца).

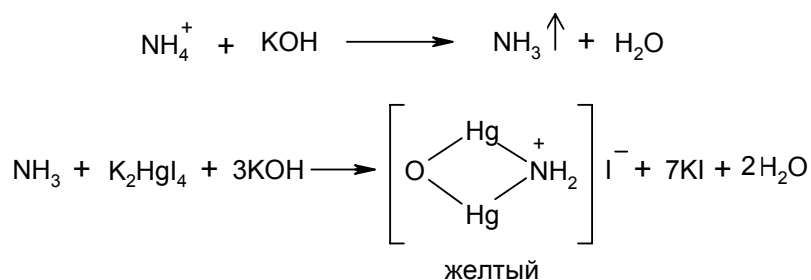
2) После гидролиза в среде кислоты серной разведенной при нагревании ощущается запах формальдегида:



При последующем добавлении избытка раствора натрия гидроксида и нагревании ощущается запах аммиака:



Чистота. В гексаметилентетраамине недопустимы примеси солей аммония и параформ, что связано с условиями хранения препарата. Обе примеси открывают реактивом Несслера (после добавления реактива не должно появляться ни желтого окрашивания, ни осадка). Для этого к раствору препарата добавляют реактив и нагревают на водяной бане. В присутствии солей аммония возникнет желтое окрашивание:



Параформ при нагревании дает формальдегид, который с реактивом Несслера образует металлическую ртуть:



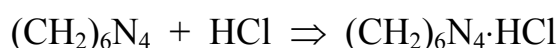
Количественное определение. Химические свойства гексаметилентерамина позволяют применить для количественного определения лекарст-

венного вещества различные титриметрические методы, например, кислотно-основное, окислительно-восстановительное, осадительное титрование, метод Кьельдаля.

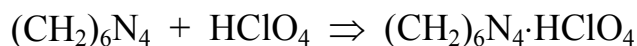
1) *Кислотно-основное титрование:*

а) *Обратная алкалиметрия* (после кислотного гидролиза). Навеску препарата нагревают с избытком титрованного раствора кислоты серной. При этом гексаметилентетрамин разлагается до аммония сульфата и формальдегида (химизм см. выше, определение подлинности). Избыток кислоты серной оттитровывают стандартным раствором натрия гидроксида в присутствии метилового красного в качестве индикатора (фармакопейный метод).

б) *Кислотно-основное титрование в водной среде.* В водной среде гексаметилентетрамин титруют как однокислотное основание стандартным раствором кислоты хлороводородной в присутствии смешанного индикатора (метиленовый синий и метиловый оранжевый):

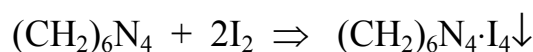


в) *Кислотно-основное титрование в неводной среде.* В среде метанола гексаметилентетрамин титруют стандартным раствором кислоты хлорной. Конец титрования определяют потенциометрически (Британская Фармакопея, 2001):

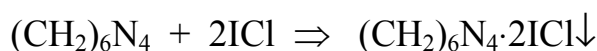


2) *Окислительно-восстановительное титрование:*

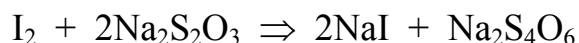
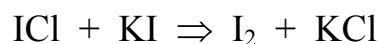
а) *Йодометрия.* Являясь азотистым основанием, гексаметилентетрамин взаимодействует с раствором йода (как общеалкалоидным осадительным реактивом) с образованием малорастворимого тетраиодида:



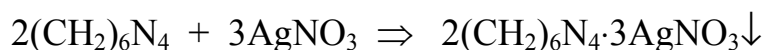
б) *Йодхлорметрия.* В результате реакции между гексаметилентетрамином и избытком титрованным раствором йодмоноклорида образуется осадок комплексного соединения:



После фильтрования к фильтрату добавляют избыток калия йодида и выделившийся йод титруют стандартным раствором натрия тисульфата:



3) *Осадительное титрование.* Метод основан на способности гексаметилентетрамина образовывать нерастворимые комплексные соединения с солями тяжелых металлов, в частности, с серебра нитратом:



Избыток серебра нитрата титруют стандартным раствором аммония тиоцианата в присутствии железо-аммониевых квасцов в качестве индикатора.

6. УГЛЕВОДЫ

Углеводы составляют обширную группу природных веществ, выполняющих в растительных и животных организмах разнообразные функции. Углеводы получают главным образом из растительных источников. Это связано с тем, что углеводы являются первичными продуктами фотосинтеза, осуществляемого растениями из оксида углерода и воды. Углеводы представляют своеобразный мост между неорганическими и органическими соединениями.

Название “ углеводы” возникло потому, что многие представители этого класса имеют общую формулу $\text{C}_n(\text{H}_2\text{O})_m$ и формально могут быть отнесены к “гидратам углерода”.

Наиболее значимым лекарственным средством данной группы является глюкоза. К группе углеводов относятся также сахароза, лактоза, галактоза и крахмал (см. таблицу 5).

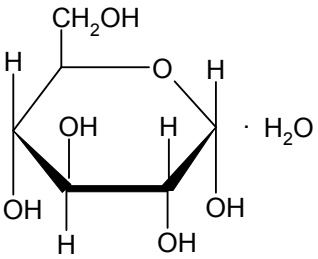
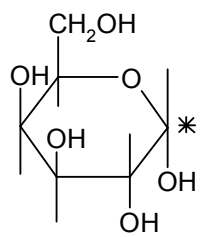
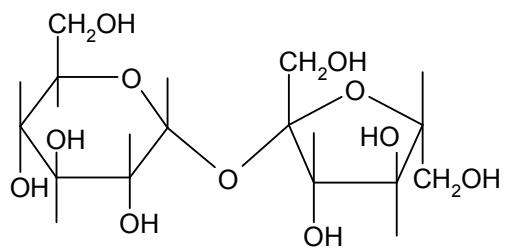
Требования НД к качеству глюкозы как лекарственному средству соответствуют требованиям к химически чистым веществам. Характерными физическими свойствами глюкозы являются следующие: определенная форма крупных или мелких кристаллов, оптическая активность с сильно выраженным вращением плоскости поляризации (удельное вращение 10% раствора глюкозы $+52,3^\circ$), температура плавления безводной глюкозы.

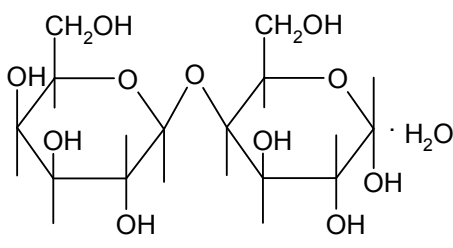
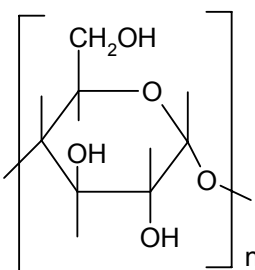
Для глюкозы, которую получают в виде моногидрата, количество кристаллизационной воды является показателем качества лекарственного средства. Содержание кристаллизационной воды должно составлять 10% от массы глюкозы моногидрата.

Определение удельного вращения глюкозы имеет свои особенности. В свежеприготовленных растворах глюкозы происходит мутаротация (изме-

нение во времени величины угла вращения; через определенный временной интервал эта величина становится постоянной).

Таблица 5. Свойства лекарственных веществ группы углеводов

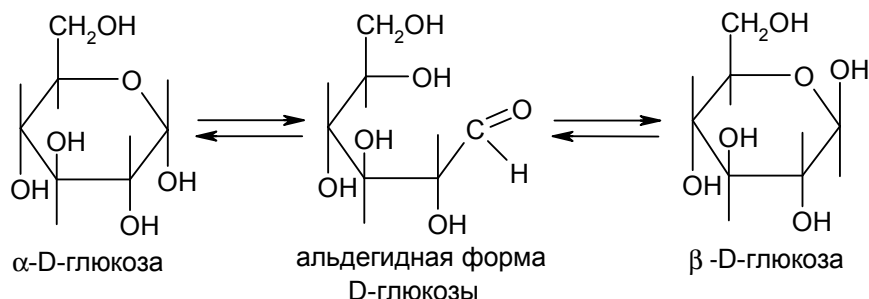
Химическая структура	Описание
	<p>Glucosum. Глюкоза. D-(+)-глюкопираноза, моногидрат. Бесцветные кристаллы или белый мелкокристаллический порошок без запаха. Легко (медленно) растворим в воде, мало растворим в спирте 95%, практически нерастворим в эфире. Лекарственные формы: растворы для инъекций и инфузий, таблетки.</p>
 <p>D-галактопираноза (и эпитимер по C₁)</p>	<p>Galactosum. Галактоза. D-галактопираноза. Белый кристаллический или мелкогранулированный порошок, легко растворим в воде, мало растворим в спирте, практически нерастворим в эфире.</p>
	<p>Sacharum. Сахароза. α-D-глюкопиранозил-β-D-фруктофураноза. Бесцветные или белые кристаллы, куски или белый кристаллический порошок (допускается голубоватый оттенок), без запаха, сладкого вкуса. Очень легко растворим в воде, образуя раствор нейтральной реакции, почти нерастворим в безводном спирте, эфире, хлороформе.</p>

	<p>Lactosum. Лактоза. β-D-галактопиранозил-(1\rightarrow4)-α-D-глюкопираноза. Белые кристаллы или белый кристаллический порошок без запаха. Легко растворим в воде, очень мало растворим в спирте, практически нерастворим в эфире и хлороформе.</p>
 <p>Полисахарид, состоящий из амилозы – фрагментов α-D-глюкозы, соединенных по 1,4 положениям – и амилопектина – разветвленного полисахарида, где фрагменты α-D-глюкозы связаны между собой как по положениям 1,4, так и по положениям 1,6. Содержание амилозы в крахмале около 20%, амилопектина – 80%.</p>	<p>Amylum. Крахмал. Белый нежный порошок без запаха или куски неправильной формы, при растирании легко рассыпающиеся в порошок. В холодной воде нерастворим, в горячей набухает с образованием клейстера.</p>

Мутаротацию можно ускорить путем прибавления к раствору глюкозы раствора аммиака, но в количестве не более 0,1%. Если же 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 получают аномерные циклические формы глюкозы: α - и β -формы, отличающиеся расположением полуацетального гидроксила относительно первого

углеродного атома. Для α -D-глюкозы величина угла вращения составляет $+109,6^\circ$, а для β -D-глюкозы – $+20,5^\circ$. Конечное значение угла вращения соответствует состоянию равновесия между α - и β - формами, которые через альдегидную форму в растворе превращаются друг в друга:



ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА

Глюкоза и галактоза относятся к моносахаридам, сахароза и лактоза – к олигосахаридам, крахмал – к полисахаридам. Моносахариды, являясь веществами с двойственными функциями, вступают во многие реакции, характерные для спиртов и карбонильных соединений (альдегидов). Олигосахариды и полисахариды подвергаются гидролизу (ферментативному или кислотному) с образованием соответствующих моносахаридов.

Реакции на спиртовые гидроксилы

Как многоатомные спирты глюкоза, галактоза, сахароза и лактоза (подобно этиленгликолю и глицерину) способны взаимодействовать с меди (II) гидроксидом с образованием комплексных соединений синего цвета (химизм см. выше раздел 2).

Лекарственные вещества группы углеводов способны также к реакциям этерификации.

Реакции на альдегидную группу

Окисление

В зависимости от условий окисления моносахариды превращаются в различные продукты. В щелочной среде моносахариды окисляются под воздействием таких мягких окислителей, как реактивы Толленса и Фелинга (химизм см. выше, раздел 5). С реактивом Толленса проходит реакция «серебряного зеркала», которая характерна для альдегидов. Следователь-

но, в эту реакцию моносахариды вступают в своей открытой (альдегидной) форме.

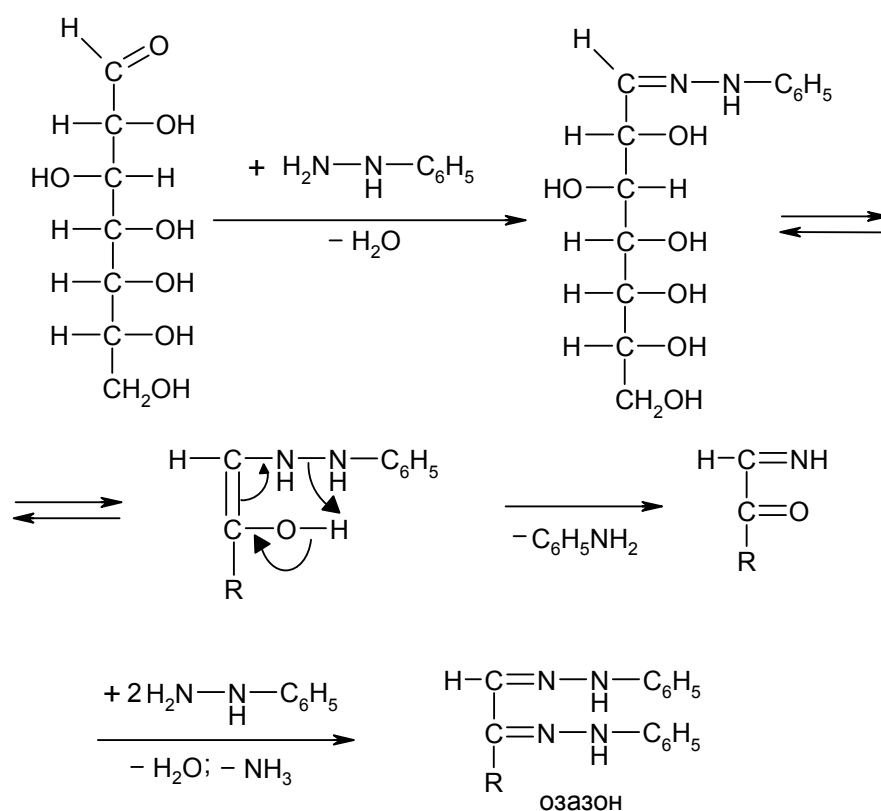
С реактивом Фелинга моносахариды образуют Cu_2O красно-оранжевого цвета. И в этом случае моносахарид реагирует в открытой форме за счет альдегидной группы. Обе реакции используются для обнаружения моносахаридов, например глюкозы, в биологических жидкостях (кровь, моча).

Гликозиды и другие производные углеводов, не содержащие полуацетального гидроксила, не могут переходить в альдегидную форму и, поэтому, не обладают восстанавливающей способностью и не дают реакций с указанными реактивами.

В нейтральной среде окислению подвергается только альдегидная группа. При этом образуются альдоновые кислоты, которые в кислой среде, отщепляя воду, превращаются в лактоны.

Образование озаонов

При нагревании моносахаридов с фенилгидразином сахара превращаются в кристаллические соединения плохо растворимые в воде – озаоны. На первой стадии образуется фенилгидразон, который перегруппировывается в ходе внутримолекулярной окислительно-восстановительной реакции в моноимин 1,2-дикарбонильного соединения. Из последнего образуется озаон (Вейганд, 1940):



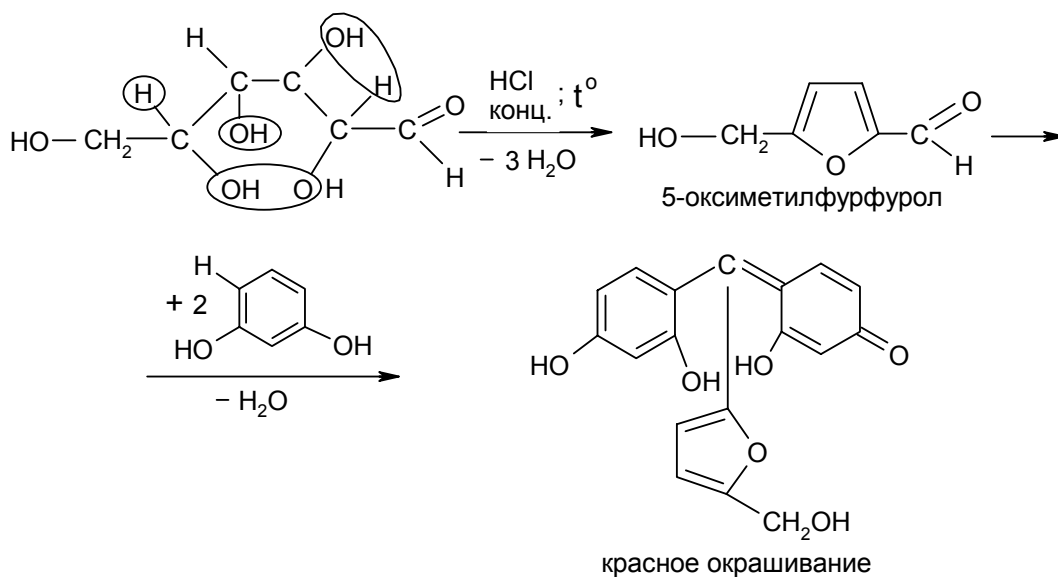
Озаны – кристаллические вещества желтого цвета с четкой температурой плавления. Реакция образования озанов широко используется для установления подлинности сахаров, а также для выделения их из смесей.

АНАЛИЗ ИНДИВИДУАЛЬНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ

Глюкоза (Декстроза)

Подлинность. Фармакопейная статья в качестве испытания подлинности приводит реакцию окисления глюкозы реактивом Фелинга (химизм см. выше, раздел 5).

Известны и другие чувствительные и специфические реакции на глюкозу, не включенные в НД. Так преобразование глюкозы в метилфурфурол является чувствительной реакцией, которая основана на получении фурфурола из глюкозы при действии концентрированной серной или хлороводородной кислот с одновременным взаимодействием фурфурола с каким-либо фенолом (резорцином, тимолом, α -нафтолом), или ароматическим амином:



С меди (II) сульфатом глюкоза при подщелачивании (без нагревания!) образует растворимый фиолетово-синий комплекс; при стоянии раствора происходит окислительно-восстановительная реакция с выделением Cu_2O . Таким образом, одновременно доказываются и альдегидная, и спиртовые функциональные группы.

Регламентируется также определение удельного вращения. Измерение угла вращения проводят после прибавления к испытуемому раствору 2 капли раствора аммиака для предотвращения мутаротации.

Чистота. Статья ГФ на глюкозу включает стандартные испытания: прозрачность и цветность раствора, кислотность, присутствие хлоридов, сульфатов, кальция, бария, декстрина, мышьяка. Растворы для инъекций дополнительно проверяют на пирогенность.

Количественное определение. ГФ не регламентирует количественного определения субстанции. В препаратах глюкозы, в частности в растворах для инъекций, глюкозу определяют поляриметрически.

Сахароза

Сахароза является невосстанавливающим дисахаридом (олигосахаридом), так как образование гликозидной связи произошло за счет полуацетальных гидроксильных групп глюкозы и фруктозы. Поэтому сахароза не окисляется (в обычных условиях) реактивами Толленса и Фелинга. Сахароза – самый распространенный дисахарид, главный источник углеводов в пище человека. В фармации сахарозу применяют в виде сиропа, как средство для улучшения вкуса.

Подлинность. Как многоатомный спирт, сахароза образует с раствором кобальта (II) нитрата в присутствии эквивалентного количества натрия гидроксида комплекс фиолетового цвета.

Британская Фармакопея (2001) регламентирует регистрацию ИК-спектра, хроматографию в тонком слое с использованием в качестве свидетелей стандартного образца сахарозы и других дисахаридов.

Чистота. Так же, как у глюкозы.

Количественного определения не проводят.

Лактоза

Подлинность. У лактозы гликозидная связь образована между полуацетальными и спиртовыми (C₄) гидроксильными группами. Поэтому подлинность лекарственного вещества доказывают прибавлением при нагревании реактива Фелинга, в результате чего выпадает кирпично-красный осадок меди (I) оксида (химизм см. выше, раздел 5).

Чистота (см. глюкозу).

Количественного определения не проводят.

Тема 6. АНАЛИЗ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ ГРУППЫ АЛИФАТИЧЕСКИХ КАРБОНОВЫХ КИСЛОТ И ОКСИКИСЛОТ, КИСЛОТЫ АСКОРБИНОВОЙ, АЛИФАТИЧЕСКИХ АМИНОКИСЛОТ И ИХ ПРОИЗВОДНЫХ

ВВЕДЕНИЕ

Алифатические кислоты играют большую роль в жизнедеятельности организма (молочная, пировиноградная, лимонная, уксусная). В связи с этим, их соли, применяющиеся как лекарственные средства, имеют анионы, не чуждые организму, хотя применение их основано на действии на организм катионов (за исключением натрия цитрата для инъекций).

Изучаемая в данной теме кислота аскорбиновая (витаминное лекарственное средство) является лактоном ненасыщенной оксикислоты, проявляет кислотные свойства за счет присутствия в молекуле енольных гидроксильных групп.

Так как ни один живой организм не обходится без аминокислот, они широко используются как лекарственные средства, участвующие в азотистом обмене, в функционировании нервной системы.

1. ПРОИЗВОДНЫЕ АЛИФАТИЧЕСКИХ КАРБОНОВЫХ КИСЛОТ

Общие свойства лекарственных веществ группы алифатических карбоновых кислот приведены в таблице 1.

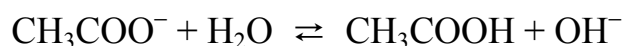
Таблица 1. Производные алифатических карбоновых кислот

Химическая структура	Описание
CH_3COOK	Kalii acetat. Калия ацетат. Белый кристаллический порошок без запаха или со слабым запахом уксусной кислоты. Гигроскопичен, расплывается на воздухе. Очень легко растворим в воде, легко растворим в спирте. Источник ионов калия, диуретическое средство.

$\left[\begin{array}{c} \text{H}_3\text{C} - \text{CH} - \text{COO} \\ \\ \text{OH} \end{array} \right]_2 \text{Ca} \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$	<p>Calcii lactas. Кальция лактат. Белый мелкий порошок почти без запаха. На воздухе выветривается. Растворим в воде (медленно). Легко растворим в горячей воде. Источник ионов кальция. Антиаллергическое средство. Лекарственные формы: порошок, таблетки.</p>
$\left[\begin{array}{ccccccc} & \text{H} & \text{H} & \text{OH} & \text{H} & & \text{O} \\ & & & & & & // \\ \text{CH}_2 - & \text{C} - & \text{C} - & \text{C} - & \text{C} - & \text{C} & \\ & & & & & & \backslash \\ \text{OH} & \text{OH} & \text{OH} & \text{H} & \text{OH} & & \text{O} \end{array} \right]_2 \text{Ca} \cdot \text{H}_2\text{O}$	<p>Calcii gluconas. Кальция глюконат. Белый зернистый или кристаллический порошок без запаха. Медленно растворим в 50 ч. воды, растворим в 5 ч. кипящей воды. Источник ионов кальция, антиаллергическое средство. Лекарственные формы: порошок, таблетки, раствор для инъекций.</p>
$\begin{array}{c} \text{CH}_2 - \text{COONa} \\ \\ \text{HO} - \text{C} - \text{COONa} \\ \\ \text{CH}_2 - \text{COONa} \end{array} \cdot 5,5 \text{H}_2\text{O}$	<p>Natrii citras pro injectionibus. Натрия цитрат для инъекций. Бесцветные кристаллы или белый кристаллический порошок без запаха, солоноватого вкуса, выветривается на воздухе. Растворим в 1,5 частях воды. Используется в виде растворов для консервирования крови.</p>

Физические свойства

Приведенные в таблице 1 лекарственные вещества являются растворимыми в воде солями алифатических карбоновых кислот. Кальция глюконат используется в виде инъекционного раствора. Калия ацетат при растворении в воде дает щелочную реакцию среды вследствие гидролиза:



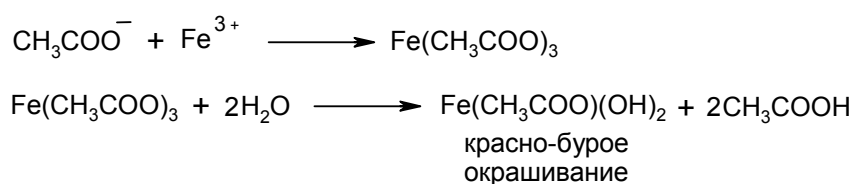
Натрия цитрат в виде 4-5% растворов используется для консервирования крови, так как связывает ионы кальция крови, участвующие в процессе её свертывания. Растворимость для натрия цитрата указана в частях, что связано со способом его применения.

Гигроскопичность калия ацетата необходимо учитывать при его хранении (хорошо закупоренная тара). Кристаллогидраты (кальция лактат, натрия цитрат для инъекций, кальция глюконат) при хранении выветриваются, поэтому хранятся в аналогичных условиях.

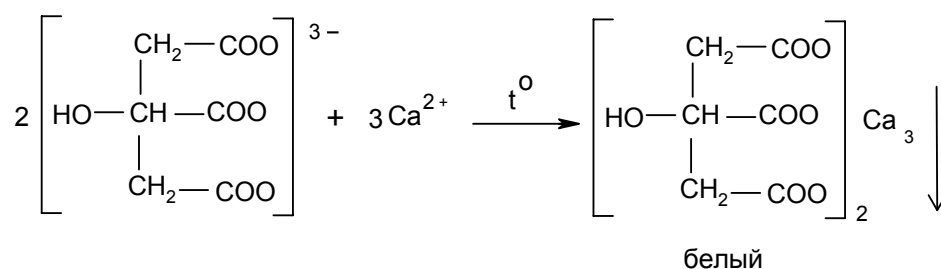
Химические свойства и определение подлинности

Анионы кислот обычно доказываются с помощью реакций образования солей (осадки белые или окрашенные, или растворимые окрашенные соли).

Ацетат-ион: реакция с железа (III) хлоридом:



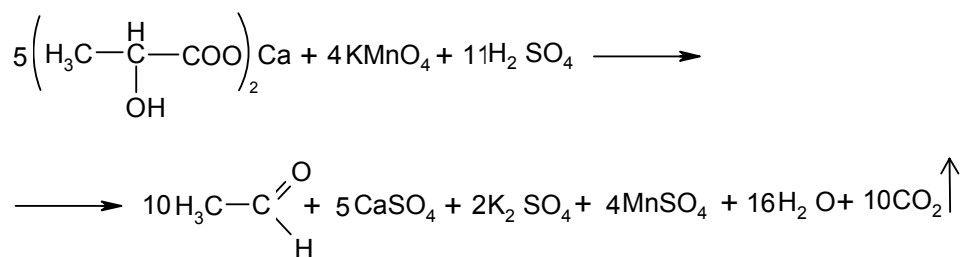
Цитрат-ион: реакция с раствором кальция хлорида:



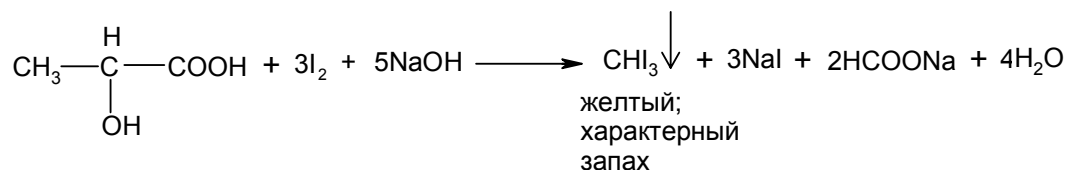
Осадок образуется только при кипячении. При комнатной температуре цитрат кальция в воде растворим.

Глюконат-ион: реакция с железа (III) хлоридом. Наличие нескольких окси-групп и карбоксильной группы позволяет образовать соль с FeCl_3 светло-зеленого цвета. Соль в воде растворима.

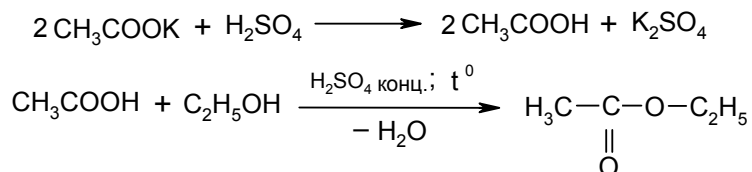
Лактат-ион: используется способность оксикислот к окислению с образованием различных продуктов. При окислении лактат-иона калия перманганатом получается ацетальдегид, обнаруживаемый по характерному запаху:



Окисление лактатов йодом в щелочной среде приводит к образованию йодоформа, имеющего характерный цвет и запах:

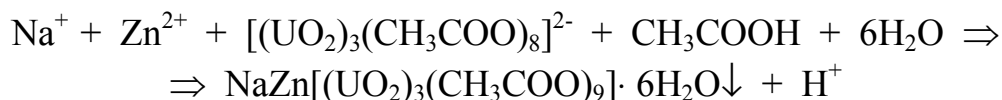


Ацетат-ион может быть идентифицирован по реакции образования этилацетата, обладающего яблочным запахом:

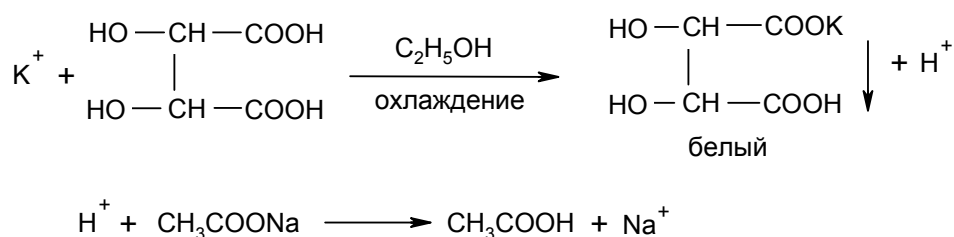


Катионы натрия, калия, кальция доказываются обычными аналитическими реакциями.

Ион натрия: 1) по окрашиванию пламени в желтый цвет;
2) по реакции с цинка уранилацетатом:

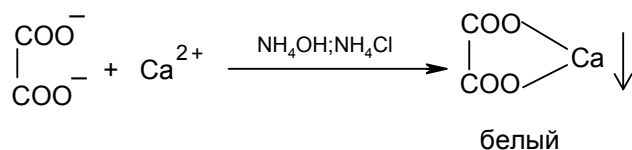


Ион калия: 1) по окрашиванию пламени в фиолетовый цвет;
2) по реакции с кислотой виннокаменной:



Реакцию проводят в присутствии натрия ацетата для связывания выделяющейся кислоты.

Ион кальция: 1) по кирпично-красному окрашиванию пламени;
2) по реакции с аммония оксалатом:

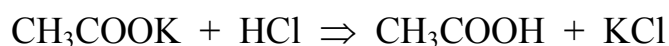


Методы количественного определения

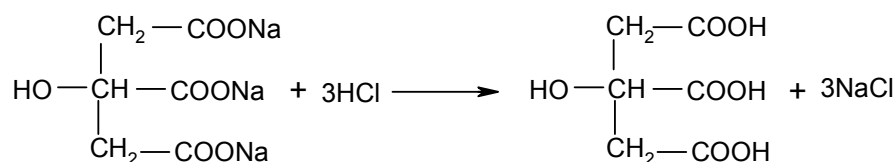
Ацидиметрия

Метод основан на способности сильных минеральных кислот вытеснять органическую кислоту из её соли.

При определении калия ацетата индикатор – тропеолин 00 не изменяет окраску от выделяющейся уксусной кислоты и изменяет окрашивание от избыточной капли кислоты хлороводородной:

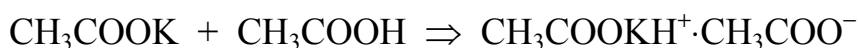


Количественное определение натрия цитрата проводят в присутствии эфира, извлекающего кислоту лимонную, и окраска индикатора (метилевый синий + метиловый оранжевый) меняется от избыточной капли кислоты хлороводородной:

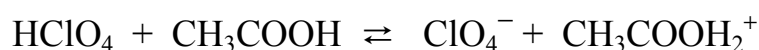


Кисотно-основное титрование в неводной среде

Неводный растворитель – кислота уксусная ледяная; титрант – 0,1 М раствор кислоты хлорной; индикатор – кристаллический фиолетовый:



Титрант готовят растворением кислоты хлорной в кислоте ледяной уксусной, поэтому титрант представляет собой ионную пару:

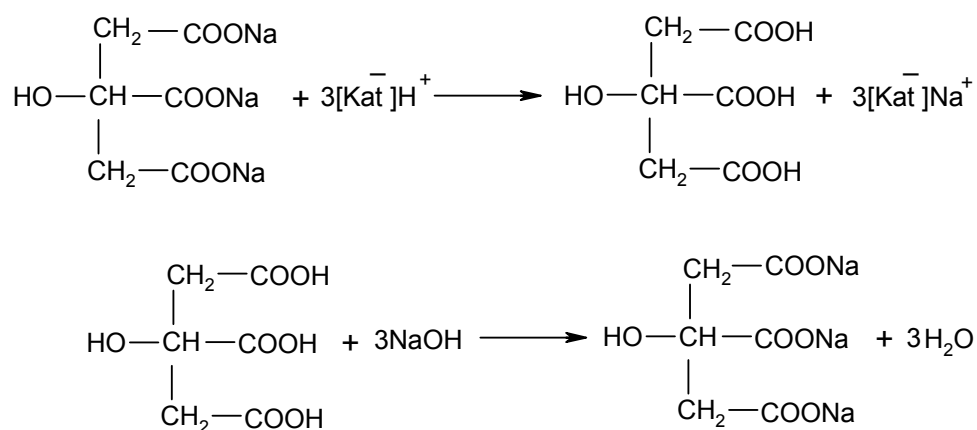


Титрование завершается образованием слабого электролита. В данном случае – кислоты уксусной:



Ионообменная хроматография

На примере натрия цитрата видно, что пропускание раствора лекарственного вещества через колонку с катионитом приводит к образованию кислоты лимонной, которую далее оттитровывают стандартным 0,05 М раствором натрия гидроксида:



Кальция лактат и кальция глюконат определяют по иону кальция комплексометрически.

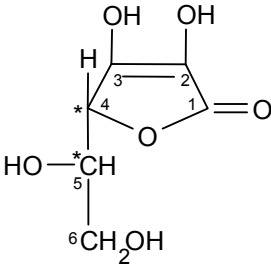
2. КИСЛОТА АСКОРБИНОВАЯ

Кислота аскорбиновая, возможно, имеет генетическое родство с моносахаридами, что проявляется в сходстве структурных фрагментов молекул. Поэтому витамин С содержится в органах многих культурных и диких растений. Суточная потребность человека в кислоте аскорбиновой выше, чем в других витаминах и составляет примерно 30 мг.

Физические свойства

Кислота аскорбиновая – белый кристаллический порошок кислого вкуса; легко растворим в воде. Имеет два ассиметрических атома углерода. Оптически активна. Физико-химические свойства кислоты аскорбиновой приведены в таблице 2.

Таблица 2. Свойства кислоты аскорбиновой

Химическая структура	Описание
	<p>Acidum ascorbinicum. Кислота аскорбиновая. γ-Лактон-2,3-дегидро-L-гулоновой кислоты. Белый кристаллический порошок без запаха, кислого вкуса. Легко растворим в воде. Лекарственные формы: порошок, таблетки, драже, раствор для инъекций. Витаминное средство.</p>

ГФ требует определить угол вращения (α) 2% раствора и рассчитать удельное вращение по формуле:

$$[\alpha]_D^{20} = \frac{\alpha \cdot 100}{l \cdot c}$$

где: С - концентрация раствора
 l - длина трубки поляриметра = 1 дм

Из-за нестойкости препарата при нагревании, для определения температуры плавления его предварительно сушат при температуре 60°C в течение 2 часов. Скорость подъёма температуры – 5° в минуту по той же причине.

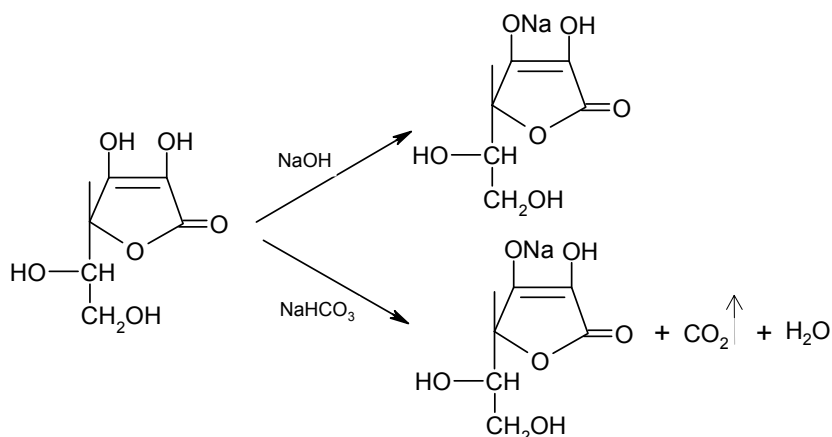
Препарат поглощает в УФ области спектра, что также используется в анализе подлинности.

Химические свойства и анализ подлинности

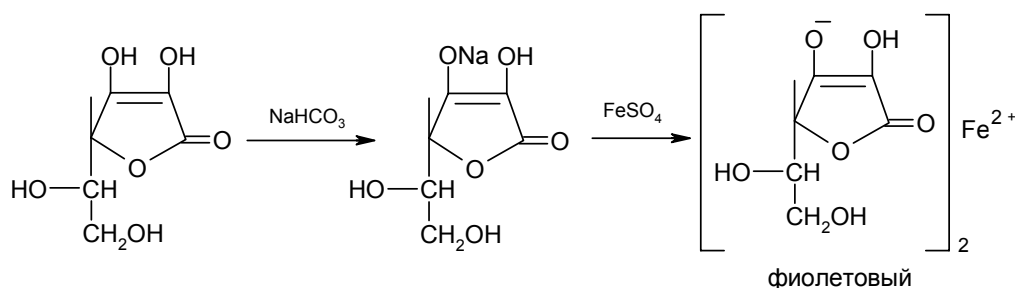
Кислотные свойства

Аскорбиновая кислота является γ -лактоном, содержащим два спиртовых гидроксила в 5 и 6 положениях и два енольных гидроксила во 2 и 3 положениях. Енольные гидроксила обладают кислотными свойствами, дают

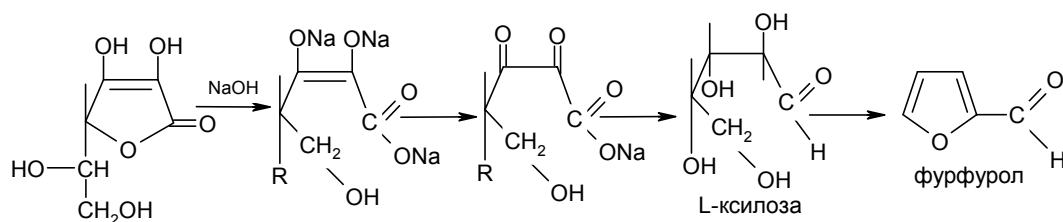
кислую реакцию на лакмус, взаимодействуют и с NaOH и с NaHCO₃. Кислотные свойства более выражены у гидроксила в 3-ем положении:



На наличии кислотных свойств основана реакция образования аскорбината железа. Реактив – железа (II) сульфат, не обладающий свойствами окислителя:



Следует иметь в виду, что аскорбиновая кислота является лактоном и при действии сильных щелочей лактонное кольцо гидролизуется, а затем образуется фурфурол:

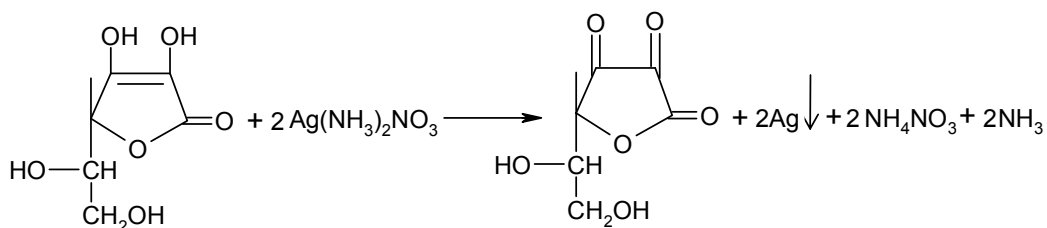


Восстановительные свойства

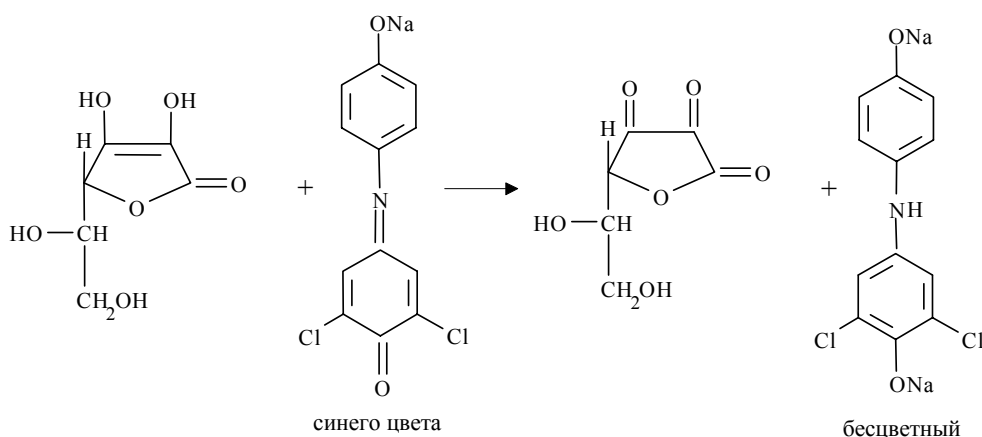
Окислители (AgNO₃, KMnO₄, J₂, FeCl₃, реактив Фелинга и др.) окисляют кислоту аскорбиновую до кислоты дикетоаскорбиновой.

Для определения подлинности препарата обычно используют в качестве окислителей растворы 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия и серебра нитрата. При взаимодействии кислоты аскорбиновой с аммиачным

раствором серебра нитрата выпадает темный осадок металлического серебра:



Синее окрашивание 2,6-дихлорфенолиндофенолята натрия исчезает от действия на реактив кислотой аскорбиновой:

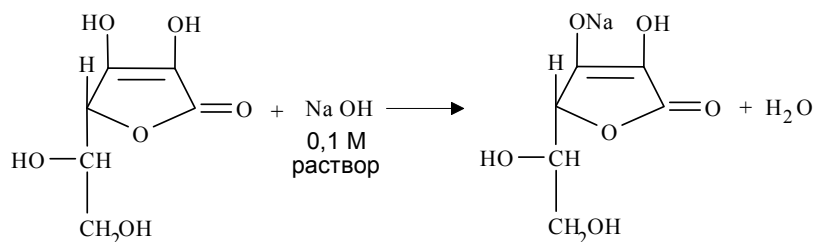


При действии сильных окислителей образуется фурфурол (см. выше).

Методы количественного определения

Алкалиметрия

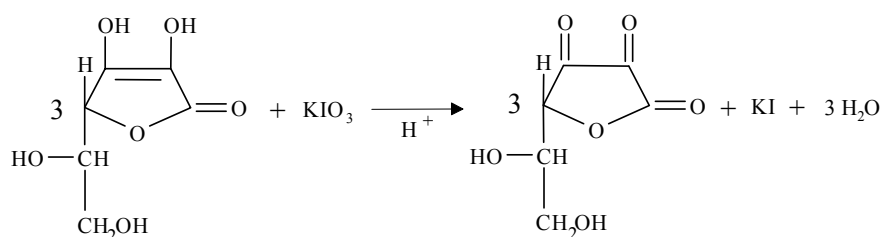
Кислотные свойства кислоты аскорбиновой выражены в достаточной степени, что позволяет количественно определять лекарственное вещество алкалиметрически. Кислота аскорбиновая титруется стандартным 0,1 М раствором натрия гидроксида, как одноосновная кислота по енольному гидроксилу в 3-ем положении:



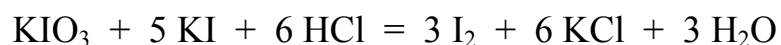
Выраженные восстановительные свойства кислоты аскорбиновой лежат в основе нескольких методик количественного определения данного лекарственного вещества (йодатометрия, йодометрия, йодхлорметрия).

Йодатометрия

Кислоту аскорбиновую титруют в присутствии калия йодида, небольшого количества кислоты хлороводородной и крахмала 0,1 н. стандартным раствором калия йодата до синего окрашивания:



Избыточная капля титрованного раствора калия йодата реагирует с калия йодидом, выделяя йод, который указывает на конец титрования:



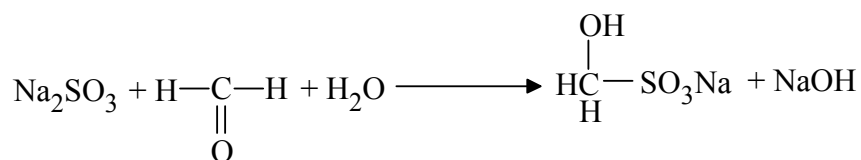
Йодометрия

Кислота аскорбиновая окисляется титрованным раствором йода в нейтральной, слабокислой или слабощелочной средах до кислоты дегидроаскорбиновой.

Возможны и другие методики, например, титрование натрия 2,6-дихлорфенолиндофенолятом.

Кислота аскорбиновая используется в виде порошков, таблеток и растворов для инъекций. Поскольку в растворах она легко окисляется, то инъекционные растворы готовятся на воде, насыщенной CO_2 , с добавлением стабилизаторов-антиоксидантов (Na_2SO_3 , $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_5$). В раствор для инъекций добавляют натрия гидрокарбонат, так как препарат имеет кислую реакцию среды, раздражающую ткани.

При йодатометрическом методе количественного определения кислоты аскорбиновой в инъекционном растворе следует учитывать наличие антиоксидантов-стабилизаторов, которые будут реагировать с титрантом - KIO_3 . Поэтому в начале к раствору добавляют раствор формальдегида, связывающий антиоксиданты:



Затем кислоту аскорбиновую титруют стандартным раствором калия йодата.

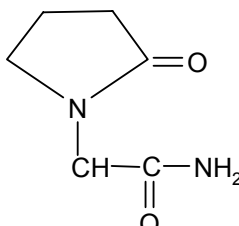
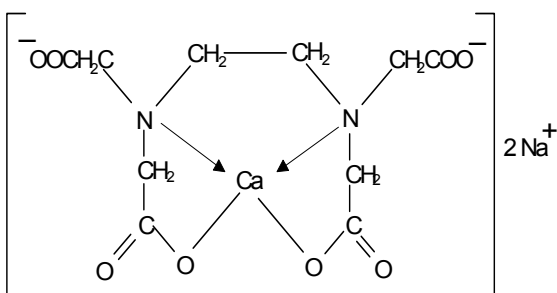
3. АМИНОКИСЛОТЫ И ИХ ПРОИЗВОДНЫЕ

Аминокислоты алифатического ряда содержат в своей структуре карбоксильную группу и алифатическую аминогруппу. Общие свойства лекарственных веществ этого ряда представлены в таблице 3.

Таблица 3. Производные алифатических аминокислот

Химическая структура	Описание
$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{CH}_2 \\ \\ \text{COOH} \end{array}$	<p>Acidum glutaminicum. Кислота глутаминовая</p> <p>Кислота α-аминоглутаровая. Белый кристаллический порошок с едва ощутимым запахом. Мало растворим в воде, растворим в горячей воде, практически нерастворим в спирте и эфире. Лекарственная форма: таблетки.</p>
$\text{H}_2\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{COOH}$	<p>Aminalonum. Аминалон.</p> <p>Кислота γ-аминомасляная или кислота 4-аминобутановая. Белый кристаллический порошок со слабым специфическим запахом. Легко растворим в воде, очень мало растворим в спирте. Лекарственная форма: таблетки, покрытые оболочкой. Ноотропное средство.</p>

$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{CH}_2-\text{SH} \end{array}$	<p>Cysteinum. Цистеин. l-цистеин. Белый кристаллический порошок со слабым специфическим запахом. Растворим в воде, разведенных серной и соляной кислотах. Регулирует процессы обмена веществ хрусталика глаза.</p>
$\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{S}-\text{CH}_3 \end{array}$	<p>Methioninum. Метионин. Кислота d,l-α-амино-γ-метилтио-масляная. Белый кристаллический порошок с характерным запахом. Трудно растворим в воде, легко растворим в разведенных минеральных кислотах, растворах едких щелочей и аммиака, растворим в растворе карбоната натрия. Применяется при заболеваниях печени. Лекарственная форма: таблетки.</p>
$\left[\begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{CH}_2-\text{CH}_2-\overset{+}{\text{S}}-\text{CH}_3 \\ \\ \text{CH}_3 \end{array} \right] \text{Cl}^-$	<p>Methylmethioninsulfonii chloridum. Метилметионинсульфония хлорид. Кислоты d,l-2-амино-4-(диметилсульфоний) масляной хлорид. Белый или белый со слегка желтоватым оттенком кристаллический порошок со специфическим запахом. Гигроскопичен. На свету неустойчив. Легко растворим в воде. Применяют при хроническом гастрите, язве желудка и двенадцатиперстной кишки. Лекарственная форма: таблетки</p>

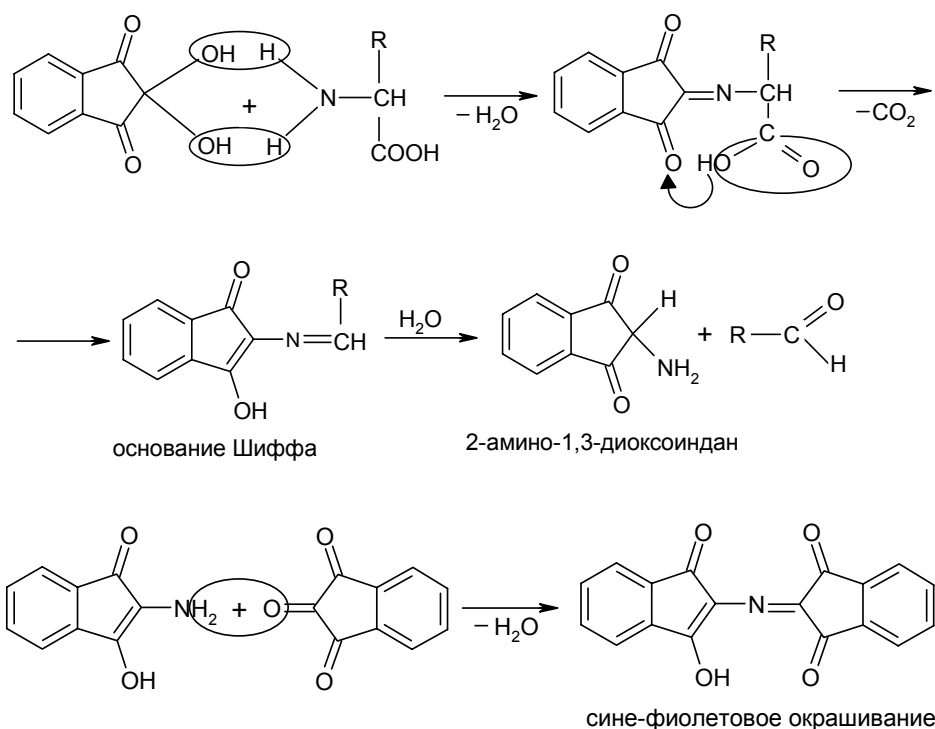
$ \begin{array}{c} \text{H}_2\text{N}-\text{CH}-\text{COOH} \\ \\ \text{CH}_3-\text{C}-\text{SH} \\ \\ \text{CH}_3 \end{array} $	<p>Penicillaminum. Пеницилламин. Кислота d-2-амино-3-меркапто-3-метилмасляная Белый со специфическим запахом порошок. Легко растворим в воде. Лекарственные формы: порошок, капсулы. Противовоспалительное средство.</p>
	<p>Pyracetamum. Пирацетам. 2-Оксо-1-пирролидинацетамид. Белый или почти белый кристаллический порошок. Легко растворим в воде. Лекарственные формы: капсулы, таблетки, покрытые оболочкой, растворы для инъекций. Ноотропное средство.</p>
	<p>Solutio Tetacini-calcii pro injectionibus 10%. Тетацин-кальция раствор для инъекций 10%. Бесцветная прозрачная жидкость. Детоксицирующее средство.</p>

Физические свойства

Препараты из группы аминокислот обычно белые кристаллические порошки со слабым характерным запахом.

За счет образования внутренних солей аминокислоты растворимы в воде.

Кислота глутаминовая и пеницилламин оптически активны, поэтому ГФ требует определять величину удельного вращения. Метионин – рацемат.

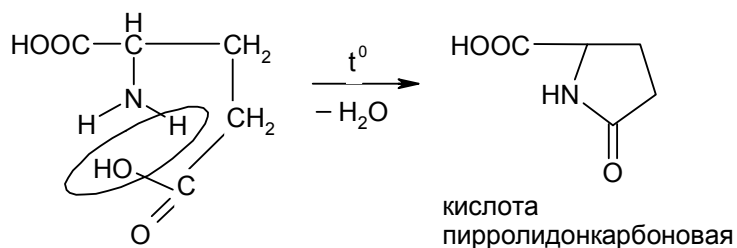


Общими для аминокислот являются также реакции декарбоксилирования (при декарбоксилировании глутаминовой кислоты образуется аминалон), окисление до оксикислот, реакция с формальдегидом, используемая в количественном анализе, как вспомогательная для устранения основных свойств аминогруппы и в анализе подлинности аминалона.

Частные реакции

Кислота глутаминовая

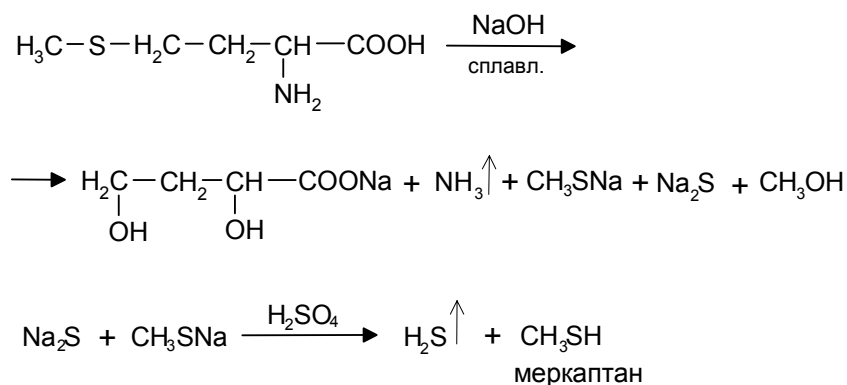
Дикарбоновая глутаминовая кислота при нагревании дегидратируется с образованием кислоты пирролидонкарбоновой:



Полученная кислота пирролидонкарбоновая конденсируется с резорцином, образуя продукт, имеющий в растворе аммиака красно-фиолетовое окрашивание с зеленой флуоресценцией:

Метионин

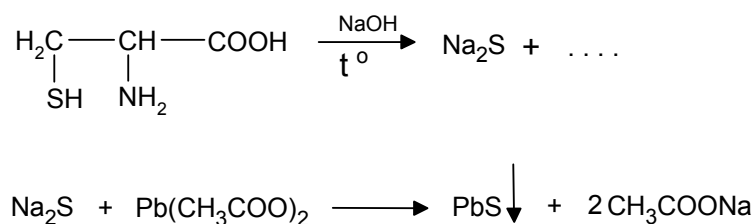
При сплавлении с 30% щелочью и последующем подкислении возникает резкий запах меркаптанов:



Восстановительные свойства метионина и продуктов его деструкции можно подтвердить и реакцией с натрия нитропруссидом. При нагревании лекарственного вещества с концентрированным раствором щелочи выделяется аммиак, пары которого окрашивают смоченную натрия нитропруссидом фильтровальную бумагу в красно-фиолетовый цвет.

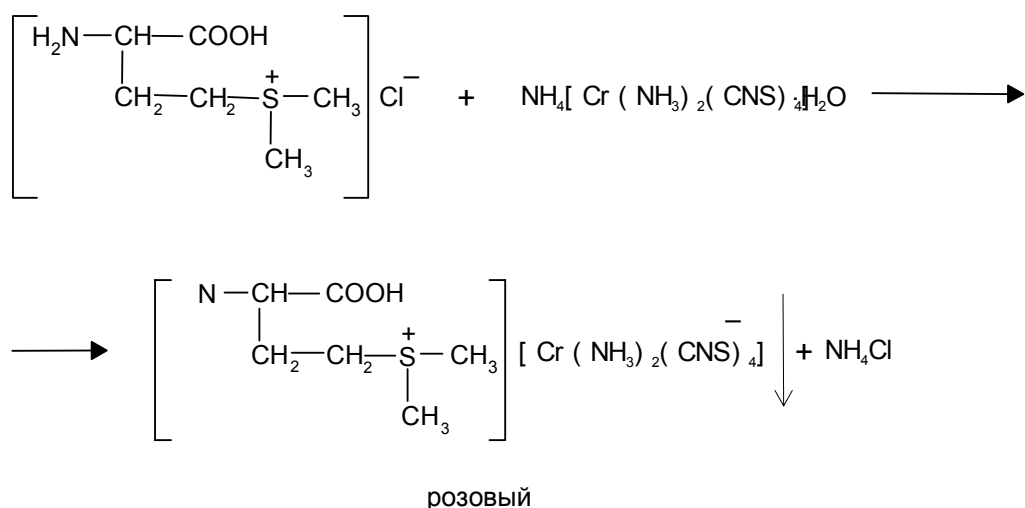
Цистеин

При нагревании со щелочью цистеин выделяет сульфид натрия, имеющий резкий запах и вызывающий почернение бумаги, смоченной ацетатом свинца:



Метилметионинсульфония хлорид

Образование розового осадка с рейнекатом аммония. Данная реакция является групповой для веществ основного характера:



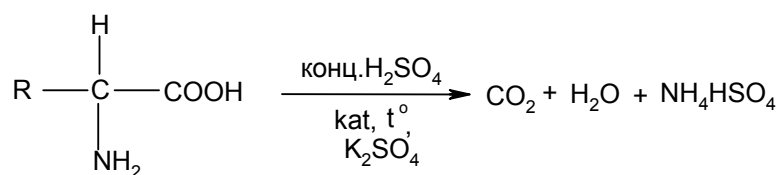
Пеницилламин

Пеницилламин с фосфорно-вольфрамовой кислотой ($\text{H}_3\text{PO}_4 \cdot 12\text{W}_6\text{O}_{21}$) дает голубое окрашивание (меркапто-группа).

Методы количественного определения

Определение содержания общего азота (метод Кьельдаля)

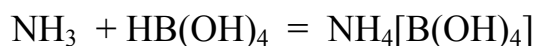
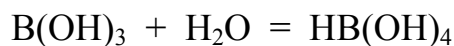
Определение проводится в несколько стадий в приборе для определения азота. На первой стадии аминокислота минерализуется нагреванием с кислотой серной концентрированной в присутствии катализаторов (соли Cu^{2+} , Hg^{2+} , металлического Se), в присутствии калия сульфата (для увеличения температуры кипения):



На второй стадии в реакционную среду добавляют избыток щелочи и выделившийся аммиак отгоняют с водяным паром в приемник с кислотой борной:



Кислота борная улавливает аммиак с образованием аммония тетрагидробората:



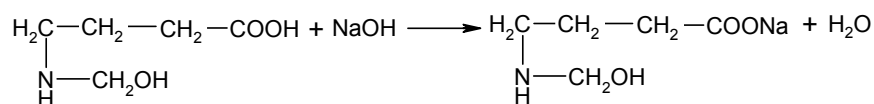
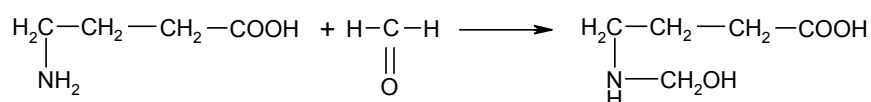
Третья стадия – титрование аммония тетрагидроксобората стандартным раствором кислоты хлороводородной:



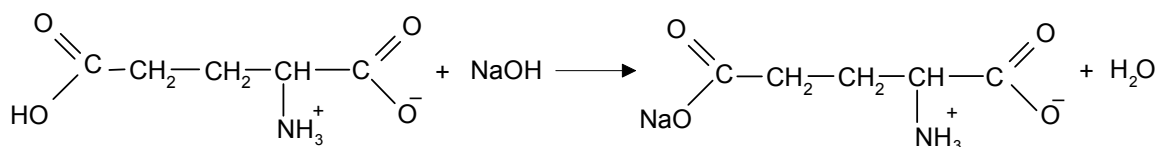
Параллельно проводят контрольный опыт.

Алкалиметрия

Аминалон и другие аминокислоты, имеющие одну карбоксильную группу можно оттитровать щелочью, заблокировав предварительно формальдегидом аминогруппу (формольное титрование):



Кислоту глутаминовую можно определить по одной карбоксильной группе:

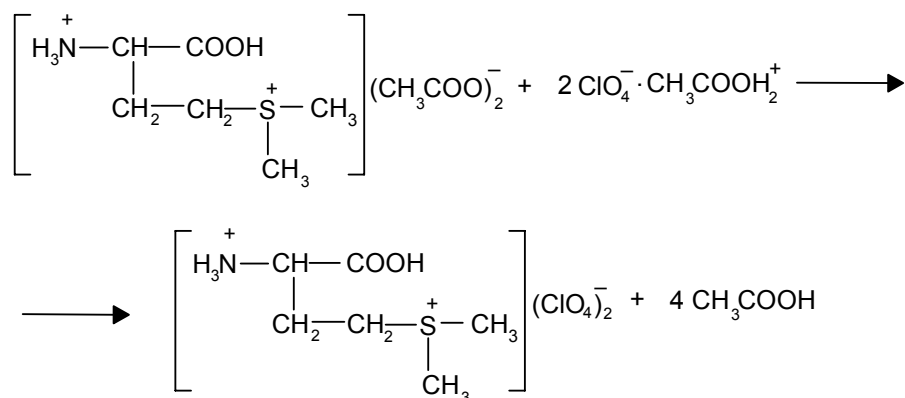


Если же применить формольное титрование, то кислоту глутаминовую можно количественно определить по двум карбоксигруппам.

Кисотно-основное титрование в неводных средах

Титруют аминокислоты как основания, растворяя в ледяной уксусной кислоте. В среде протонного растворителя лекарственное вещество (в данном случае – аминалон) становится сопряженной кислотой:

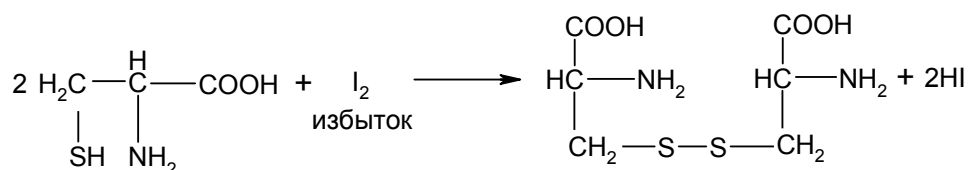
Далее проводят титрование лекарственного вещества (в виде диацетата) стандартным раствором кислоты хлорной:



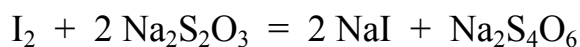
Для серусодержащих аминокислот используют йодометрию, основанную на окислении серы.

Цистеин

Цистеин определяют йодометрически способом обратного титрования:

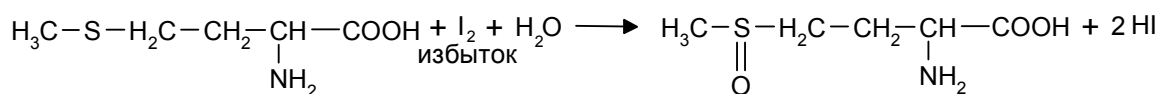


Затем избыток йода оттитровывают стандартным раствором натрия тиосульфата:



Метионин

Количественное определение метионина также проводят йодометрически способом обратного титрования. В среде фосфатного буферного раствора метионин окисляется до сульфоксида:



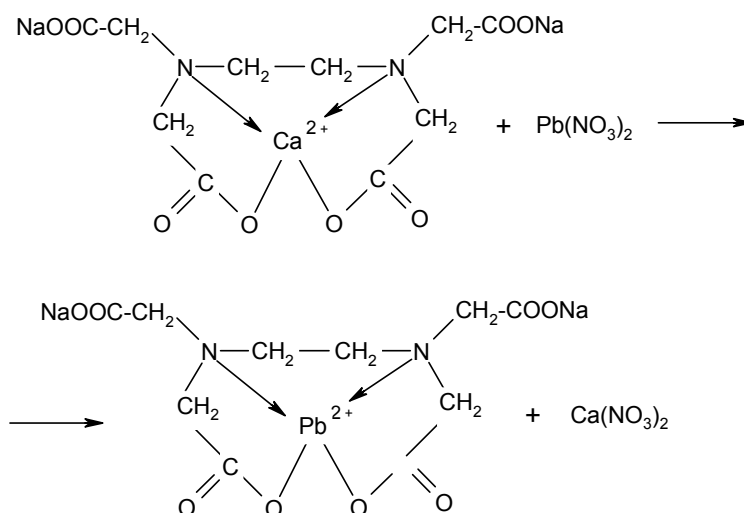
Избыток йода оттитровывают стандартным раствором натрия тиосульфата.

Пеницилламин

Количественное определение пеницилламина проводят с помощью метода меркуриметрии с индикатором дитизоном.

Раствор тетамина-кальция 10% для инъекций

Чтобы доказать кальций, связанный с ЭДТА, его необходимо вытеснить из комплекса металлом, образующим более прочный комплекс. С этой целью используется $\text{Pb}(\text{NO}_3)_2$:

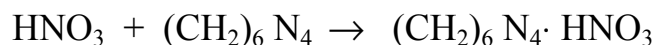


Затем необходимо проверить отсутствие ионов Pb^{2+} в растворе, которые будут мешать открытию ионов кальция (не должно быть желтого осадка свинца (II) йодида):

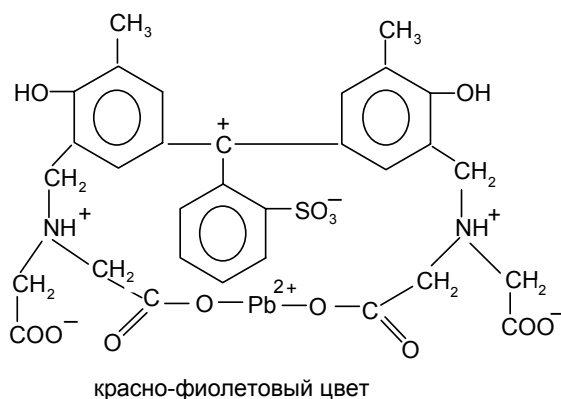


И далее открывают ион кальция реакцией с оксалатом аммония.

Количественное определение лекарственного вещества проводят по содержанию в нем кальция путем титрования стандартным раствором свинца нитрата в присутствии гексаметилентетрамина для связывания выделяющейся кислоты азотной:

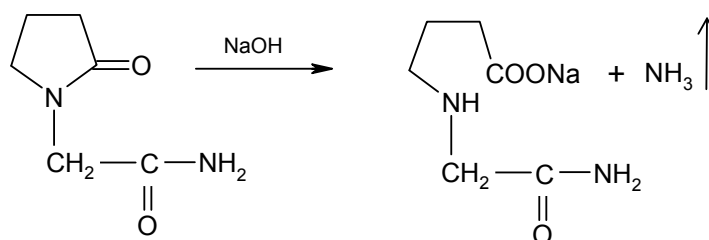


Индикатор – ксиленоловый оранжевый. Желтый цвет ксиленолового оранжевого переходит в красно-фиолетовый от избыточной капли титрованного раствора свинца нитрата, который образует с индикатором комплекс:

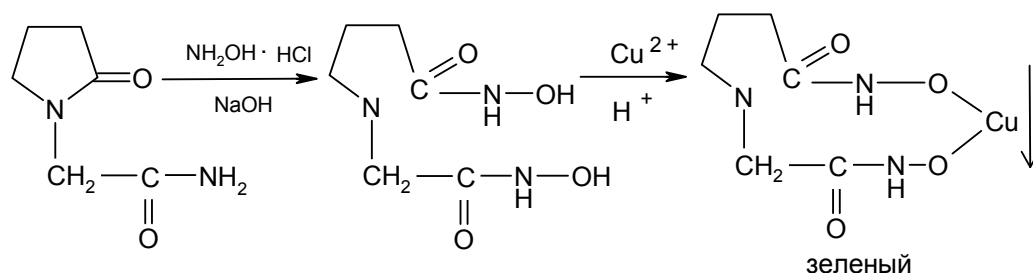


Пирацетам

По своей структуре является лактамом и амидом, гидролизуется с выделением аммиака из амидной группы:



Как лактам и амид лекарственное вещество вступает в гидроксамовую реакцию:



Количественное определение проводится методом определения содержания азота после щелочного гидролиза по количеству образовавшегося аммиака.

Тема 7. АНАЛИЗ ПРОИЗВОДНЫХ β -ЛАКТАМИДОВ И АМИНОГЛИКОЗИДОВ

Беталактамыды и аминогликозиды относятся к антибиотикам – большой группе органических соединений с различной химической структурой, обладающих выраженной биологической направленной активностью. Все изучаемые лекарственные средства – полифункциональные соединения сложной химической структуры. Изучение их физических, физико-химических и химических свойств, выявление общих и частных признаков основывается на знании общих закономерностей, приобретенных ранее в курсах теоретических химических и биологических дисциплин, ранее изученных тем курса фармацевтической химии и других специальных дисциплин.

Антибиотики – это химиотерапевтические вещества, образуемые микроорганизмами или полученные из других природных источников, а также их производные и синтетические продукты, обладающие способностью избирательно подавлять в организме возбудителей заболевания или задерживать развитие злокачественных новообразований.

Антибиотики отличаются от других лекарственных средств гетерогенностью, т.е. многокомпонентностью состава. Например, аминогликозид гентамицин состоит из трех компонентов; в солях бензилпенициллина сумма пенициллинов должна быть не менее 96,0%, а содержание бензилпенициллина – не менее 90,0%.

Для антибиотиков характерно отношение к действию определенных ферментных систем. Для каждого антибиотика существует фермент, который его инактивирует. Например, пенициллиназа инактивирует природные и некоторые полусинтетические пенициллины.

Оценка качества природных и полусинтетических антибиотиков проводится по дополнительным показателям – токсичность и для некоторых (например, для стрептомицина сульфата) – вещества гистаминаподобного действия. Эти показатели определяются биологическими методами на животных.

Значительную часть антибиотиков выпускают в виде герметически укупоренных сухих распылок вследствие их нестабильности в водных растворах.

Антибиотики занимают первое место среди препаратов, вызывающих побочные реакции: это прямая токсичность, дисбактериозы, нефро- и ототоксичность (стрептомицин), аллергические реакции (пенициллин).

Так как антибиотики в большинстве случаев являются смесями веществ, их активность определяется в единицах действия (ЕД). Биологиче-

скую активность природных антибиотиков определяют методом диффузии в агар. Метод основан на сравнении угнетения роста тест-микроорганизма определенными концентрациями испытуемого препарата с угнетением роста известными концентрациями стандартного препарата антибиотика.

Для бензилпенициллина одна единица действия (ЕД) соответствует 0,5988 мкг химически чистой натриевой соли бензилпенициллина.

1 мкг химически чистого стрептомицина основания соответствует специфической активности, равной одной единице действия (ЕД). На этикетках большинства антибиотиков, являющихся растворимыми солями или другими растворимыми производными, как правило, указывают содержание биологического вещества, чаще в пересчете на основание или кислоту, например «Оксациллин 1,0 г»

1. β -ЛАКТАМИДЫ

К беталактамным антибиотикам относятся пенициллины и цефалоспорины. Они имеют сходную химическую структуру: содержат β -лактамное кольцо и являются N-ацильными производными соответствующих аминокислот – 6-аминопенициллановой (пенициллины) и 7-аминоцефалоспориановой или 7-аминодезацетоксицефалоспориановой (цефалоспорины).

Пенициллины

Бензилпенициллин был впервые открыт А. Флемингом (1929 г.) и до сих пор широко используется в медицине.

Русские исследователи и врачи задолго до выделения Флемингом пенициллина наблюдали антибиотическое действие зеленой плесени (В.А. Манассеин и др.). Русские врачи А.Г. Полотебнов и М.Г. Тарковский применяли зеленую плесень в лечебных целях. Эти замечательные открытия наших русских ученых не получили широкой известности в то время (XIX век).

Заслуга создания советского пенициллина, разработка способа его получения из отечественных штаммов плесени принадлежит З.В. Ермольевой, профессору, впоследствии академику (1942 г.).

Во Всесоюзном НИИ антибиотиков (в настоящее время – Государственный научный центр по антибиотикам) получены полусинтетические пенициллины – метициллин, оксациллин, ампициллин, карбенициллин и др., а также полусинтетические цефалоспорины и ряд других антибиотиков (С.М. Навашин и др.).

Большой вклад в развитие исследований антибиотиков внесли советские ученые М.М. Шемякин, А.С. Хохлов, а в изучение молекулярных механизмов действия антибиотиков академики Ю.А. Овчинников, В.А. Энгельгардт, А.С. Спирин.

Для промышленного производства препаратов антибиотиков наибольшее значение имеют *Penicillium notatum* и *Penicillium chrysogenum*.

К природным пенициллинам относят бензилпенициллин и феноксиметилпенициллин. Бензилпенициллин является довольно сильной кислотой, гигроскопичен, быстро инактивируется и поэтому его применяют в виде солей с неорганическими и органическими основаниями (натриевой, калиевой, новокаиновой, N,N'-дибензилэтилендиаминовой и др.). Феноксиметилпенициллин обладает большей устойчивостью, применяется в виде кислоты, а за рубежом и в виде калиевой соли.

Соли бензилпенициллина и феноксиметилпенициллина активны в отношении грамположительных микроорганизмов (относительно узкий спектр действия), неустойчивы к действию кислот (кроме феноксиметилпенициллина) и пенициллиназы.

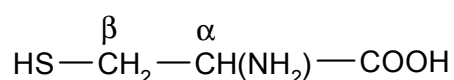
Эти недостатки природных пенициллинов стимулировали поиск новых антибиотиков. В конце 50-х гг. XX столетия начались работы по созданию активных полусинтетических антибиотиков на основе 6-аминопенициллановой кислоты (6-АПК), которая была выделена в качестве продукта биосинтеза пенициллина в 1959 г. 6-АПК может быть получена и ферментативным гидролизом бензилпенициллина. Ацилирование 6-АПК хлорангидридами различных кислот позволило получить ряд полусинтетических пенициллинов, устойчивых к кислотам (могут применяться внутрь), пенициллиназе и имеющих более широкий спектр действия.

Химическое строение, физические и физико-химические свойства

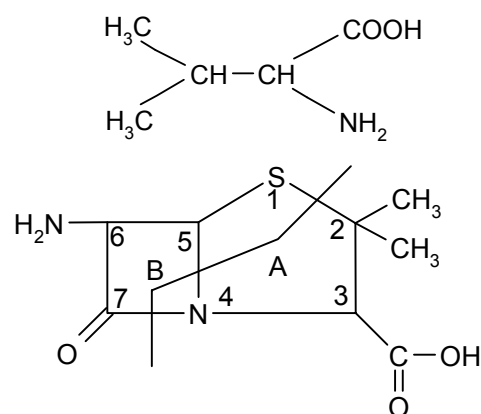
В основе строения пенициллинов лежит 6-аминопенициллановая кислота (6-АПК), которая представляет собой гетероциклическую систему, состоящую из двух конденсированных колец: четырехчленного - β-лактамного (В) и пятичленного – тиазолидинового (А).

6-АПК является дипептидом, состоящим из L-цистеина и L-валина.

L-цистеин (β-меркаптоаланин):

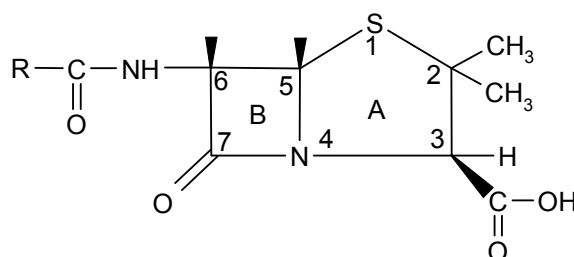


L-валин (L-α-аминоизовалериановая кислота):



6-аминопенициллановая кислота (6-АПК)

Общая формула пенициллинов:

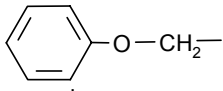
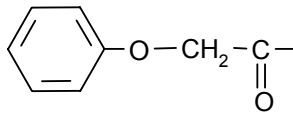
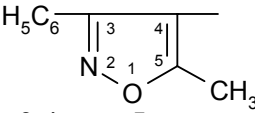
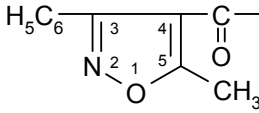
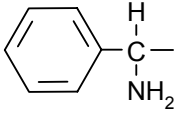
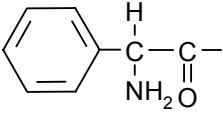
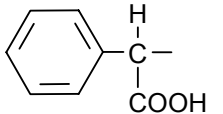
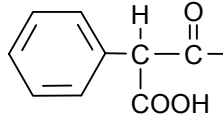


Пенициллины отличаются друг от друга строением ацильного остатка в аминогруппе 6-АПК.

Наряду с природными пенициллинами (бензилпенициллин в виде солей и феноксиметилпенициллин) в медицине применяются полусинтетические пенициллины (оксациллин, ампициллин, амоксициллин, карбенициллин и др.). Структура ацильных радикалов и соответствующих пенициллинов представлена в таблице 1.

Таблица 1.Строение ацильных радикалов пенициллинов.

Название препарата	Значение R	Остаток кислоты $\begin{array}{c} \text{R}-\text{C}- \\ \\ \text{O} \end{array}$
1. Бензилпенициллин (натриевая, калиевая, новокаиновая соли)	<p>бензил</p>	<p>фенилацетил (остаток фенилуксусной кислоты)</p>

2. Феноксиметилпенициллин	 <p>феноксиметил</p>	 <p>феноксиацетил (остаток феноксиуксусной кислоты)</p>
3. Оксациллин (натриевая соль)	 <p>3-фенил-5-метил-4-изоксазол</p>	 <p>остаток 5-метил-3-фенилизоксазол-4-карбоновой кислоты</p>
4. Ампициллин (натриевая соль)	 <p>аминобензил</p>	 <p>фениламиноацетил (остаток фениламиноуксусной кислоты)</p>
5. Карбенициллин (динатриевая соль)	 <p>карбоксибензил</p>	 <p>карбоксифенилацетил (остаток карбоксифенилуксусной кислоты)</p>

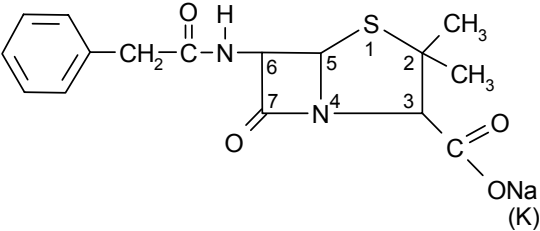
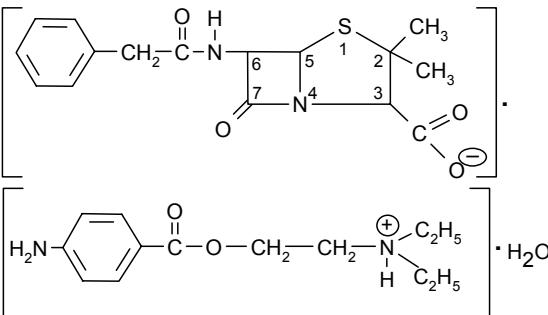
Химическое строение, описание, растворимость и применение некоторых пенициллинов представлены в таблице 2.

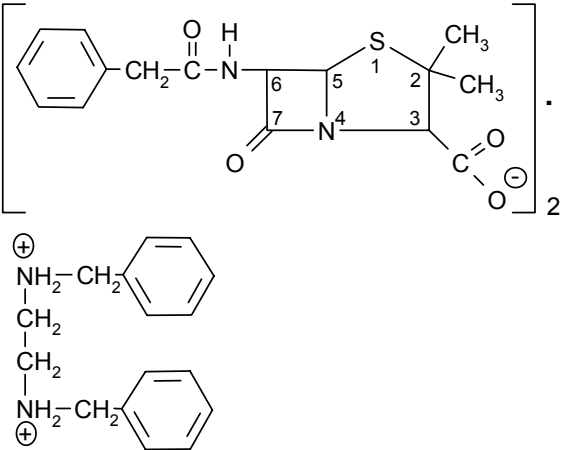
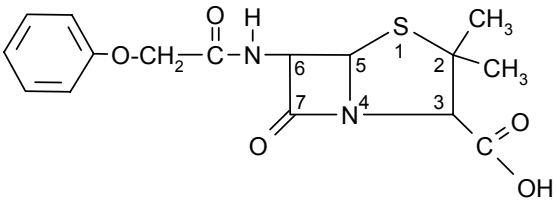
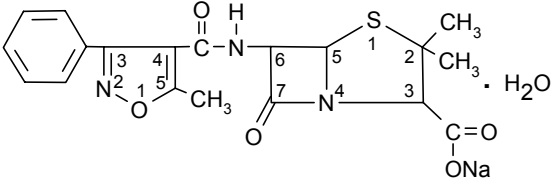
Из таблицы 2 следует, что пенициллины представляют собой белые или почти белые кристаллические порошки. Пенициллины со свободной карбоксильной группой в 3 положении (например, феноксиметилпенициллин, ампициллин, амоксициллин) мало растворимы в воде. Соли щелочных металлов (натриевая и калиевая соли бензилпенициллина, натриевые соли оксациллина, ампициллина, динатриевая соль карбенициллина) легко растворимы в воде; соли органических оснований (новокаиновая и N,N'-дибензилэтилендиаминовая соли бензилпенициллина) мало растворимы в воде.

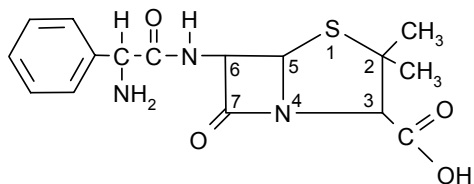
Соли бензилпенициллина неустойчивы в растворах и разрушаются при приеме внутрь (в кислой среде), поэтому их выпускают в виде герметически укупоренных сухих рассыпок для парентерального введения. Феноксиметилпенициллин более устойчив в кислой среде и может применяться внутрь в виде таблеток.

Таблица 2.

Химическое строение, описание, растворимость и применение некоторых пенициллинов

Структурная формула	Описание
	<p>Benzylpenicillinum-natrium (kalium) Бензилпенициллина натриевая (калиевая) соль</p> <p>Белые мелкокристаллические порошки горького вкуса, слегка гигроскопичны. Легко разрушаются при действии кислот, щелочей и окислителей, при нагревании в водных растворах, а также при действии пенициллиназы. Медленно разрушаются при хранении в растворах при комнатной температуре. Очень легко растворимы в воде, растворимы в этиловом и метиловом спиртах.</p> <p>Активны в отношении грамположительных микроорганизмов.</p> <p>Выпускают во флаконах, герметически закрытых резиновыми пробками, обжатými алюминиевыми колпачками по 250000, 500000 и 1000000 ЕД.</p>
	<p>Benzylpenicillinum-novocainum. Бензилпенициллина новокаиновая соль.</p> <p>Белый кристаллический порошок без запаха, горького вкуса. Легко разрушается при действии кислот, щелочей, а также при действии фермента пенициллиназы.</p> <p>Мало растворим в воде, этиловом и метиловом спиртах, трудно растворим в хлороформе.</p> <p>По спектру антимикробного действия не отличается от натриевой и калиевой солей бензилпенициллина.</p> <p>Выпускают в герметически закрытых флаконах по 300000, 600000 и 1200000 ЕД.</p>

	<p>Benzathini Benzylpenicillinum. Бензатина бензилпенициллин. Bicillinum-1. Бициллин-1. N,N'-дибензилэтилендиаминовая соль бензилпенициллина. Белый порошок почти без запаха и почти без вкуса. Практически нерастворим в воде, мало растворим в этаноле, практически нерастворим в хлороформе и эфире. Форма выпуска: во флаконах по 300000; 600000; 1200000 и 2400000 ЕД из расчета на бензилпенициллин.</p>
	<p>Phenoxymethylpenicillinum. Феноксиметилпенициллин. Белый кристаллический порошок кисловато-горького вкуса, негигроскопичен. Устойчив в слабокислой среде. Легко разрушается при кипячении в растворах щелочей, при действии окислителей и пенициллиназы. Очень мало растворим в воде, растворим в этиловом и метиловом спиртах, ацетоне, хлороформе, бу- Выпускают в виде таблеток по 0,1 г и 0,25 г; драже по 0,1 г</p>
	<p>Oxacillinum-natrium. Оксациллина натриевая соль. Полусинтетический пенициллин. Натриевой соли 3-фенил-5-метил-4-изоксазоллил – пенициллина моногидрат. Белый кристаллический порошок горького вкуса. Устойчив в слабокислой среде и к действию пенициллиназы. Легко растворим в воде, трудно растворим в 95% спирте, мало растворим в хлороформе, практически нерастворим в ацетоне, эфире и бензоле. Выпускают во флаконах, герметически укупоренных, по 0,25 и 0,5 г (в пересчете на оксациллин); таблетках и капсулах по 0,25 г</p>

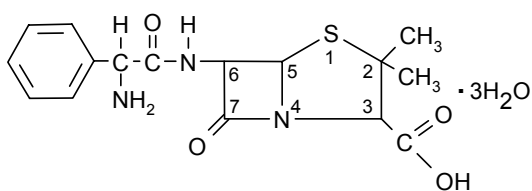


Ampicillinum. Ампициллин.

6-[D(-)- α -Аминофенилацетиламино]-пенициллановая кислота. Полусинтетический пенициллин.

Мелкокристаллический порошок белого цвета, горького вкуса, устойчив в кислой среде, не устойчив к пенициллиназе. Мало растворим в воде, практически не растворим в спирте.

Форма выпуска: таблетки и капсулы по 0,25 г

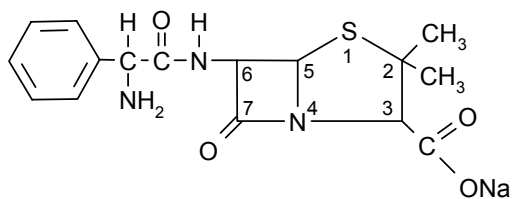


Ampicillini trihydras.

Ампициллина тригидрат.

Белый кристаллический порошок. Растворим в воде (1:300) практически нерастворим в спирте.

Применяют в таблетках и капсулах по 0,25 г

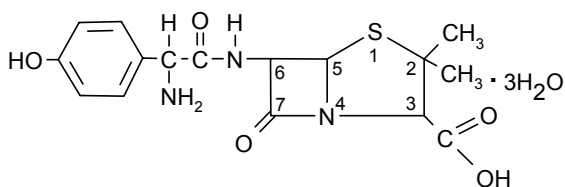


Ampicillinum-natrium.

Ампициллина натриевая соль.

Порошок или пористая масса белого (или с кремоватым оттенком) цвета, горького вкуса. Гигроскопичен. Легко растворим в воде, растворим в спирте. Применяется внутримышечно и внутривенно.

Форма выпуска: в герметически укупоренных флаконах по 0,25 и 0,5 г



Amoxicillini trihydras.

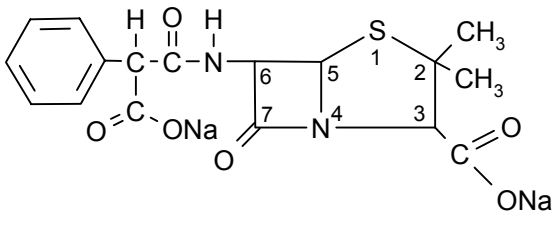
Амоксициллина тригидрат.

6-(α -п-гидроксифенил-D-глициламино)-пенициллановая кислота.

Полусинтетический пенициллин. Устойчив к кислотам, неустойчив к пенициллиназе.

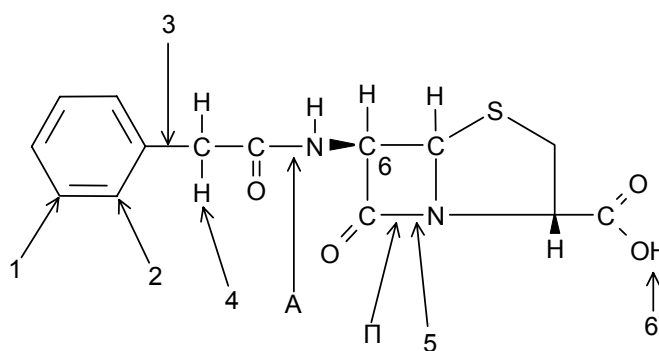
Белый или почти белый кристаллический порошок. Растворим в 400 частях воды, в 1000 частей 96% этанола, в 200 частях метанола, практически нерастворим в эфире и хлороформе.

Применяют внутрь в таблетках и капсулах по 0,25 и 0,5 г

	<p>Carbenicillinum-dinatricum. Карбенициллина динатриевая соль. Динатриевая соль 6-(α-карбокси-фенилацетиамидо)-пенициллановой кислоты. Порошок или пористая масса белого или почти белого цвета. Гигроскопичен. Легко растворим в воде, медленно в спирте. Полусинтетический пенициллин. Обладает широким спектром антимикробной активности в отношении грамотрицательных и грамположительных микроорганизмов. Неустойчив по отношению к кислотам и пенициллиназе. Вводят внутримышечно или внутривенно. Форма выпуска: в герметически укупоренных флаконах по 1 г.</p>
---	---

Зависимость между химическим строением и биологическим действием пенициллинов представлена в таблице 3.

Таблица 3. Зависимость между химическим строением и биологическим действием пенициллинов.



1. Характер радикала определяет степень связывания пенициллина белками.
2. Заместитель в о-положении фенильного радикала влияет на устойчивость к пенициллиназе.
3. Характер связи фенильного радикала с метиленовой группой определяет кислотоустойчивость пенициллинов.

4. Заместитель атома водорода в метиленовой группе определяет спектр действия пенициллина.

5. Расщепление беталактамной связи приводит к исчезновению свойств антибиотика и появлению аллергического действия.

6. Заместитель в карбоксильной группе дает возможность получения солевых форм пенициллинов.

П – пенициллиназа расщепляет беталактамное ядро.

А – амидаза расщепляет амидную связь.

Так как в молекулах пенициллинов содержатся асимметрические атомы углерода (C_3 , C_5 и C_6), растворы пенициллинов являются оптически активными и вращают плоскость поляризации вправо, что используется для характеристики их качества (определения удельного вращения).

Беталактамы поглощают в ИК области спектра. При наличии стандартных образцов это отличный способ идентификации препаратов, который используется по НД, главным образом, для полусинтетических пенициллинов и цефалоспоринов. Определение проводят либо в дисках с бромидом калия, либо в пасте с вазелиновым маслом. Полученный ИК-спектр испытуемого препарата сравнивают с ИК-спектром стандартного образца.

Для удобства оценки полос поглощения рекомендуется весь спектр разделить условно на три области: от 4000 до 3000, от 1800 до 1500 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 тиазолидиновым циклом.

Амидная группа пенициллинов обуславливает первую и вторую амидные полосы вторичного нециклического амида соответственно в областях 1690-1645 см^{-1} , вызванные валентными колебаниями карбонильной группы, и 1585-1550 см^{-1} , соответствующие деформационным колебаниям группы NH.

Большинство пенициллинов являются солями, 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 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} — амидной группы. Последнюю иногда обозначают как полоса амид-1. Полоса интенсивного поглощения при 1600 см^{-1} обусловлена валентными колебаниями ионизированной карбоксильной группы. Для ИК-спектров пенициллинов характерно также в области $1600\text{—}1500\text{ см}^{-1}$ наличие сильной полосы — около 1550 см^{-1} , соответствующей вторичной амидной группировке (полоса амид-2). Кроме того, в области $4000\text{—}3000\text{ см}^{-1}$ 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} , которые относят к транс- и цис-изомерам. Полоса валентных колебаний группы NH- около 3060 см^{-1} очень слабо выражена. Эту полосу можно рассматривать как соответствующую обертону полосы амид-2. Полоса валентных колебаний группы OH кристаллогидрата проявляется в виде интенсивного поглощения при 3610 см^{-1} .

Натриевая соль оксациллина для инъекций, получаемая лиофильной сушкой, имеет ИК-спектр, отличающийся от кристаллогидрата. Широкая полоса поглощения при $3380\text{—}3400\text{ см}^{-1}$ с максимумом $\sim 3400\text{ см}^{-1}$ указывает на наличие оксациллина, частично потерявшего при сушке воду. При дальнейшей перекристаллизации вещества получают спектр, присущий кристаллогидрату.

Метод ИК-спектроскопии позволил подтвердить структуру пенициллинов как беталактамидов по наличию указанной выше полосы поглощения при 1760 см^{-1} .

Пенициллины поглощают в УФ области спектра за счет ароматического ацильного радикала в аминокгруппе 6-аминопенициллановой кислоты.

Сама 6-аминопенициллановая кислота не имеет максимума поглощения в УФ области спектра. УФ-спектры поглощения бензилпенициллина, ампициллина, карбенициллина и других пенициллинов аналогичны спектрам соответствующих кислот.

Бензилпенициллин и его соли имеют в УФ области спектра два выраженных максимума при 257 и 263 нм , которые обусловлены наличием бензильного радикала.

В процессе получения и хранения соли бензилпенициллина могут подвергаться превращениям с образованием продуктов, характеризующихся наличием полос с $\lambda_{\text{max}} 280\text{ нм}$.

В процессе получения бензилпенициллина посторонние пенициллины могут достигать 10%, что определяется методом УФ-спектрофотометрии.

Данный показатель (280 нм) используется для нормирования содержания побочных продуктов в калиевой и натриевой солях бензилпеницил-

лина. Оптическая плотность 0,18% растворов лекарственных веществ в кювете с толщиной слоя 1 см при длине волны 280 нм не более 0,18. Разность между оптическими плотностями при длинах волн 263 нм и 280 нм не менее 0,72.

Феноксиметилпенициллин имеет 2 полосы поглощения с интенсивными максимумами при 268 нм и 274 нм, обусловленными феноксигруппой. Значения отношений оптических плотностей при этих максимумах ГФ использует для определения чистоты препарата (A_{268}/A_{274} должно быть не менее 1,21 и не более 1,24).

Метод УФ-спектрофотометрии используется также для количественного определения феноксиметилпенициллина в растворе гидрокарбоната натрия при длине волны 268 нм).

По МФ III УФ-спектрофотометрия используется для определения подлинности (оптическая плотность раствора феноксиметилпенициллина в 0,1 н растворе гидроксида натрия должна быть не менее 0,56 и не более 0,60) и чистоты феноксиметилпенициллина (примесь п-оксифеноксиметилпенициллина определяют в растворе препарата в том же растворителе при длине волны 306 нм оптическая плотность должна быть не более 0,36).

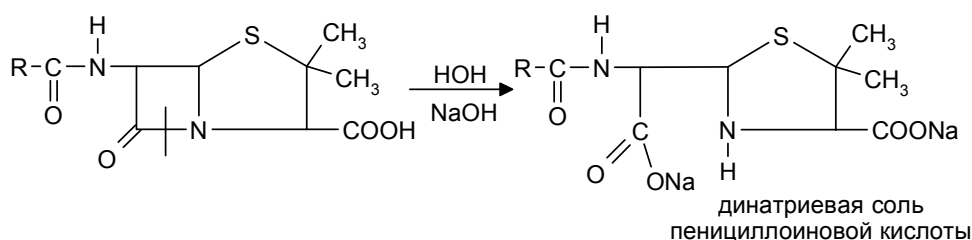
Светопоглощающие примеси в ампициллине натриевой соли определяют методом УФ-спектрофотометрии (оптическая плотность раствора препарата в воде при 325 нм должна быть не более 0,3).

Спектрофотометрический метод используется также для количественного определения некоторых полусинтетических пенициллинов.

Химические свойства и реакции подлинности

Наиболее лабильной частью молекулы пенициллина является бета-лактамное кольцо, которое подвергается гидролитическому расщеплению под действием щелочей, кислот, фермента пенициллиназы с потерей биологической активности.

Щелочи и пенициллиназа гидролизуют бета-лактамное кольцо с образованием неактивной пенициллоиновой кислоты:



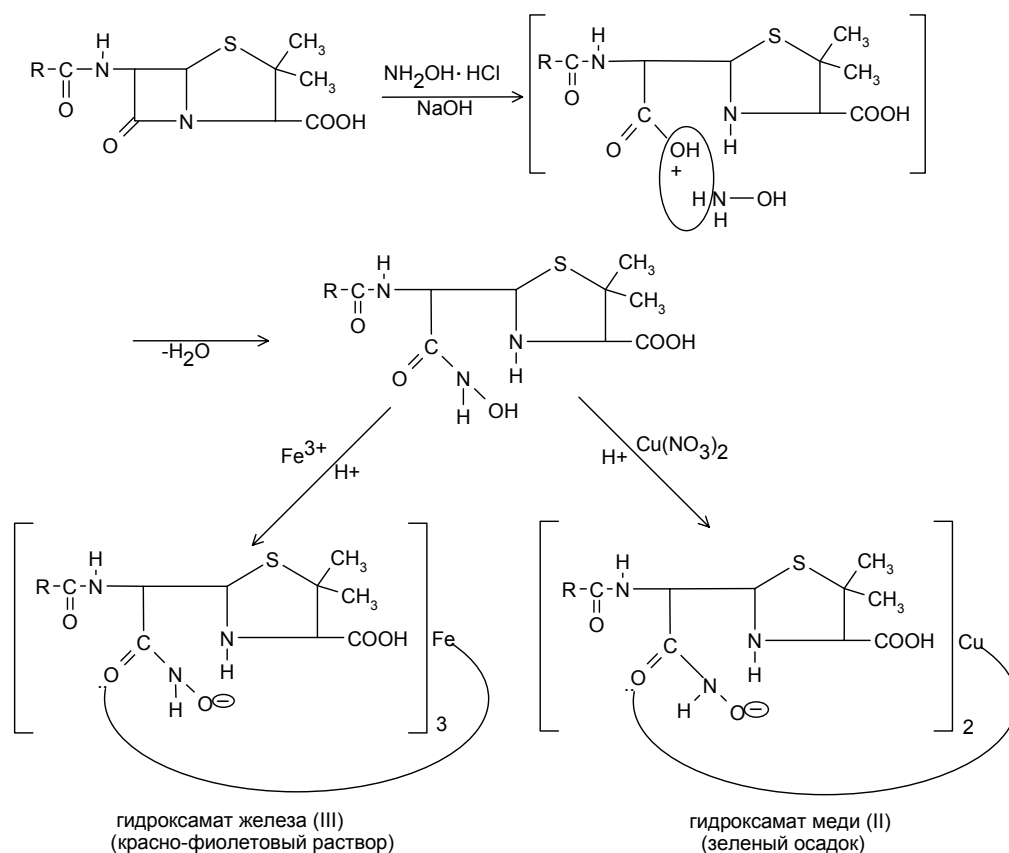
Легкий гидролиз бета-лактамного цикла пенициллинов по сравнению с другими бета-лактамами объясняется влиянием соседнего серусодержащего тиазолидинового цикла.

Реакция щелочного гидролиза пенициллинов используется в гидроксамовой реакции, в количественном иодометрическом определении суммы пенициллинов в солях бензилпенициллина и феноксиметилпенициллине, в алкалиметрическом определении суммы пенициллинов в полусинтетических пенициллинах.

Гидроксамовая реакция

Общегрупповой реакцией на беталактамы является гидроксамовая реакция. Она основана на наличии беталактамного кольца в молекуле пенициллина. При взаимодействии пенициллинов со щелочным раствором гидроксилamina гидрохлорида происходит реакция гидроксилamинолиза с образованием гидроксамовой кислоты, которая после подкисления образует окрашенные комплексные соли с солями тяжелых металлов: с солями железа (III) фиолетового цвета раствор гидроксамата железа (III) и зеленого цвета осадок гидроксамата меди (II).

Вначале происходит щелочной гидролиз препарата с образованием пенициллоиновой кислоты; в момент гидролиза пенициллоиновая кислота реагирует с гидроксилaminом, образуя гидроксамовую кислоту:



Реакции используются для идентификации и количественного спектрофотометрического в видимой области спектра или фотоэлектроколори-

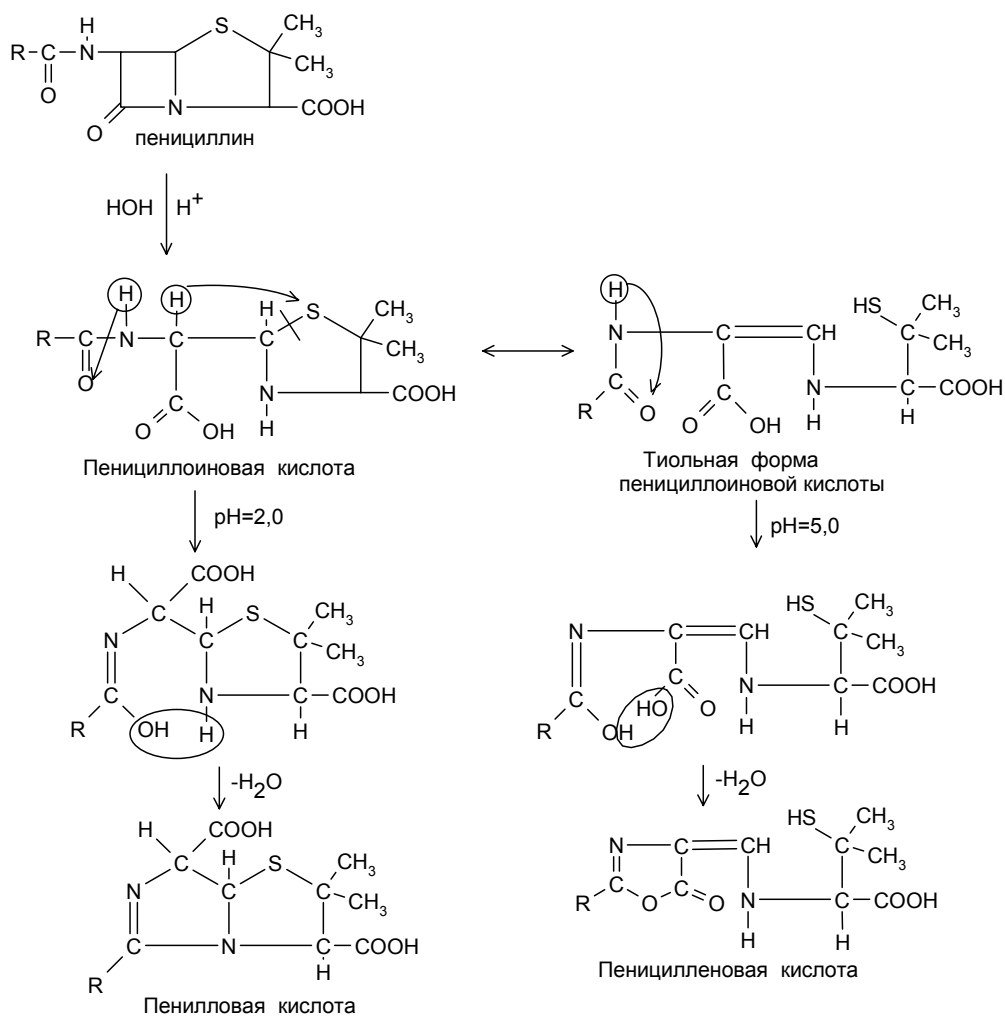
метрического определения (гидроксамат меди – после растворения в подходящем растворителе) пенициллинов.

Образование пенилловой и пеницилленовой кислот, их использование в анализе

Под действием кислот пенициллины инактивируются с образованием пенилловой и пеницилленовой кислот, которые являются продуктами изомеризации пенициллина. Пенилловая кислота образуется при $\text{pH} \sim 2,0$, а пеницилленовая – при $\text{pH} \sim 5,0$.

В обоих случаях на первом этапе расщепляется беталактамный цикл с образованием пенициллоиновой кислоты. Затем происходит конденсация карбоксильной группы (пеницилленовая кислота) или амидной группы (пенилловая кислота) с гидроксильной группой ацильного радикала.

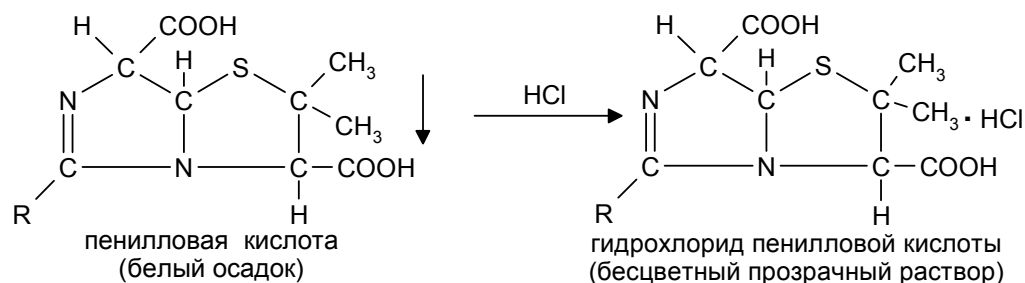
Образование пеницилленовой и пенилловой кислот представлено на следующей схеме:



На образовании пенниловой кислоты основана одна из реакций подлинности на растворимые соли пенициллинов.

При взаимодействии растворимых солей пенициллина (натриевых, калиевых) с 25% хлороводородной кислотой выделяется белый осадок кислотной формы пенициллина, который растворяется при добавлении избытка реактива.

Кислотная форма пенициллина при взаимодействии с избытком хлороводородной кислоты подвергается гидролитическому расщеплению и изомеризации до пенилловой кислоты, которая является амфолитом и за счет основных свойств атомов азота образует с хлороводородной кислотой растворимую соль – гидрохлорид:



Образование солей пеницилленовой кислоты с солями ртути (II) и меди (II) используется в спектрофотометрическом количественном определении ряда пенициллинов (ампициллина натриевой соли, амоксициллина и др.)

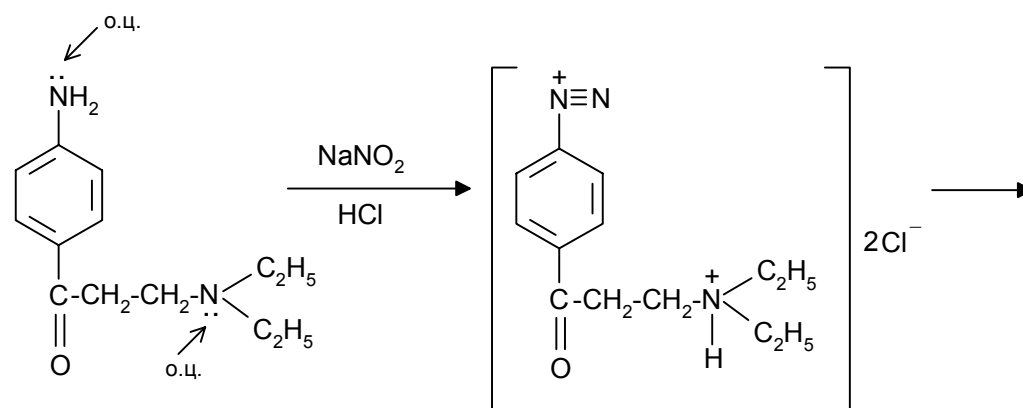
Реакции на катионы солей пенициллинов

Реакция на калий: около 0,1 г препарата сжигают в тигле. Остаток дает характерную реакцию А на калий – с виннокаменной кислотой.

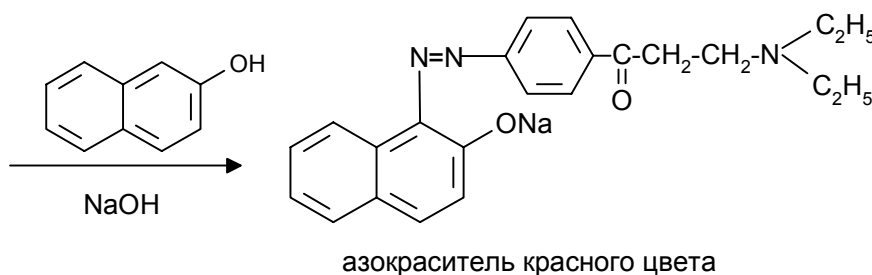
Реакция на натрий: препарат дает характерную реакцию Б на натрий – по окраске пламени.

Реакция на новокаин – основание в новокаиновой соли бензилпенициллина:

а) Реакция образования азокрасителя на первичную ароматическую аминогруппу:



новокаин-основание

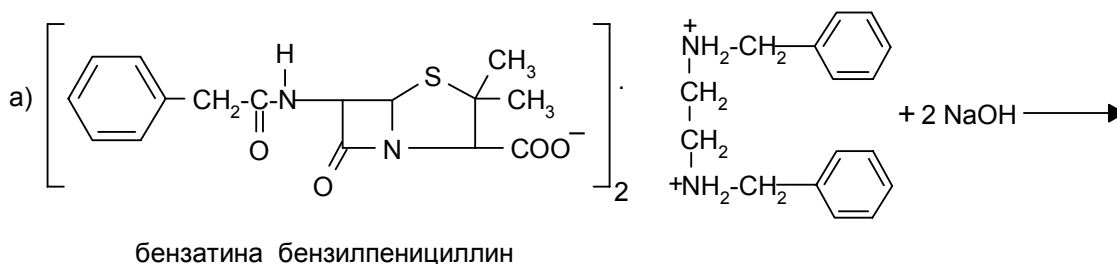


б) Реакции на азотистое основание.

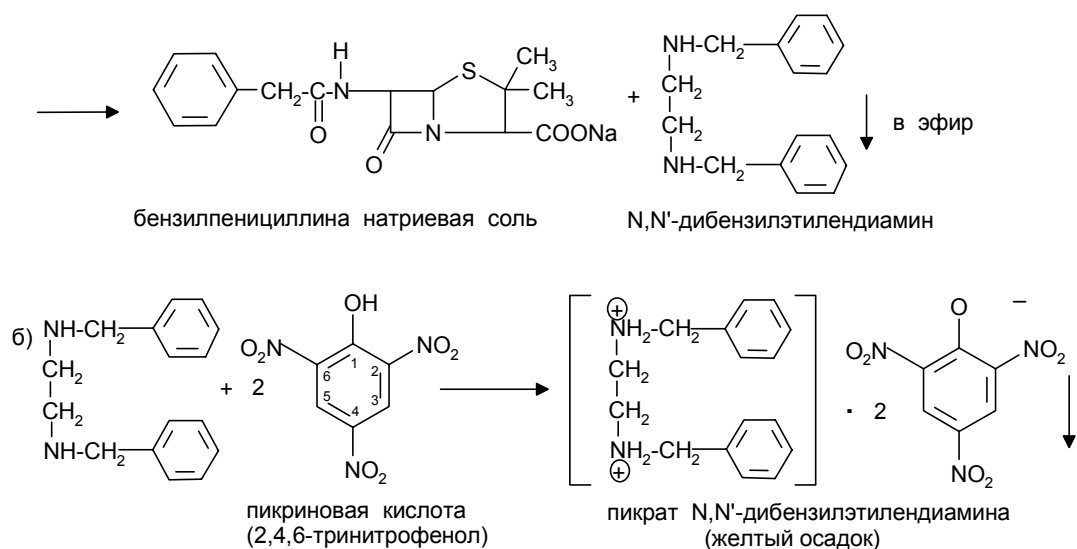
Так как новокаин содержит в своей молекуле два основных центра (более сильный – алифатическая диэтиламиногруппа и более слабый – первичная ароматическая аминогруппа), то он дает осадки с общеалкалоидными осадительными реактивами. При добавлении к насыщенному раствору бензилпенициллина новокаиновой соли реактива Люголя выпадает бурый осадок, а с реактивом Майера образуется белый осадок.

Реакция на дибензилэтилендиамин в бензатине бензилпенициллина (бициллине-1).

Из щелочного раствора препарата извлекают в эфир дибензилэтилендиамин. После выпаривания эфира остаток растворяют в этаноле и прибавляют раствор пикриновой кислоты. Образуется желтый осадок пикрата дибензилэтилендиамина. Реакция протекает за счет основных свойств дибензилэтилендиамина. Осадок перекристаллизуют после растворения в горячем этаноле. Температура плавления полученного пикрата ~ 214⁰С.



бензатина бензилпенициллин



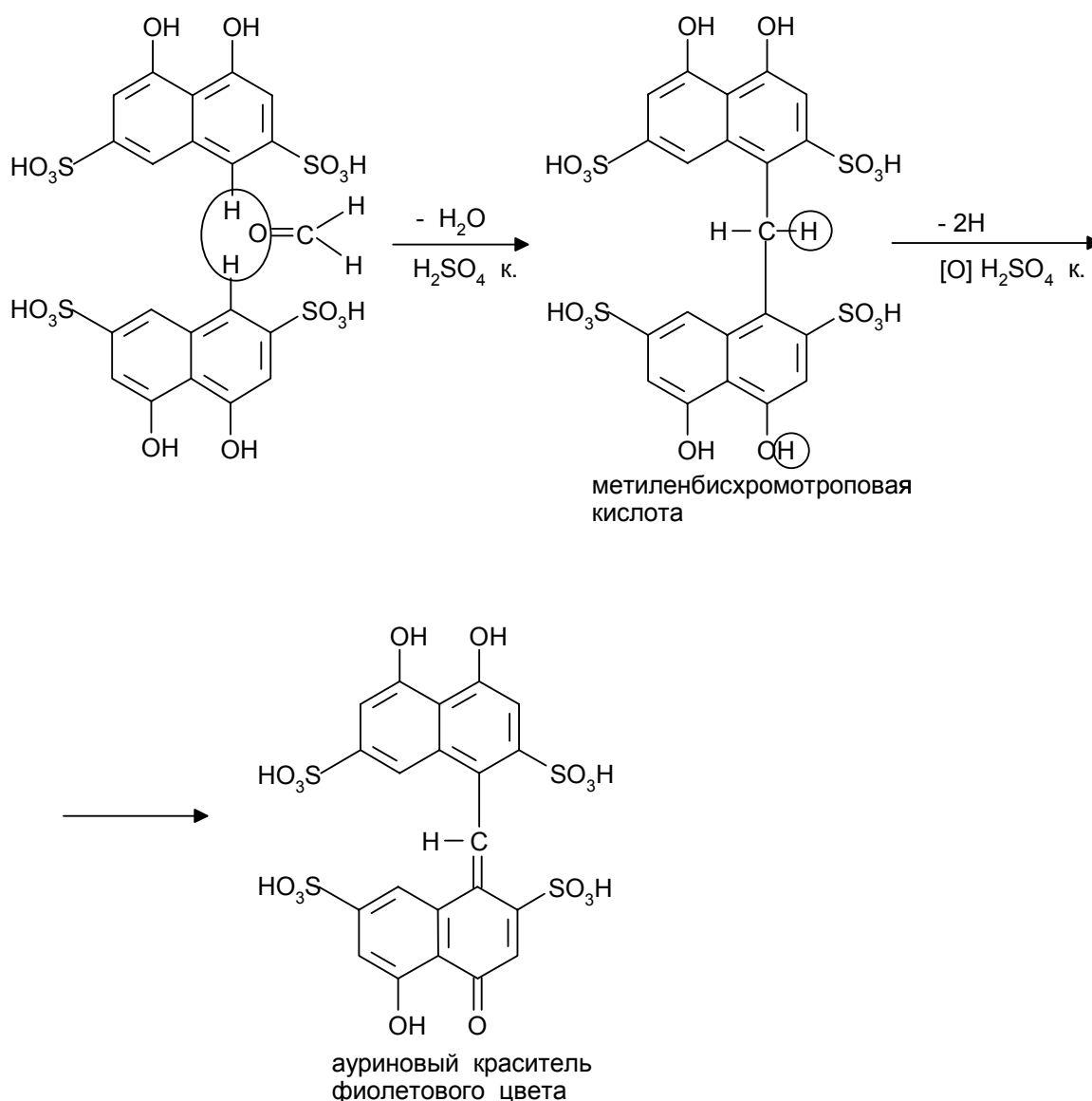
Реакция с хромотроповой кислотой

Международная фармакопея и некоторые зарубежные фармакопеи для отличия пенициллинов друг от друга рекомендуют применять реакцию с хромотроповой кислотой. Для этого пробирку с 2 мг препарата, 2 мг натриевой соли хромотроповой кислоты и 2 мл концентрированной серной кислоты помещают в баню с температурой 150⁰С (масляную или глицериновую) и отмечают секундомером время погружения. Пробирку встряхивают каждые 30 секунд и отмечают окраску. Происходят следующие изменения окраски (таблица 5).

Таблица 5. Реакция некоторых пенициллинов с хромотроповой кислотой.

Время (мин)	Бензилпенициллин	Феноксиметилпенициллин	Оксациллин	Ампициллин
0	бесцветная	бесцветная	бесцветная	бесцветная
½	бесцветная	бесцветная	зеленовато-желтая	бесцветная
1	бесцветная	бесцветная	оливково-зеленая	бесцветная
1½	светло-желтая	светло-розовая	зеленая	пурпурная

Далее формальдегид с хромотроповой кислотой образует ауриновый краситель фиолетового цвета:

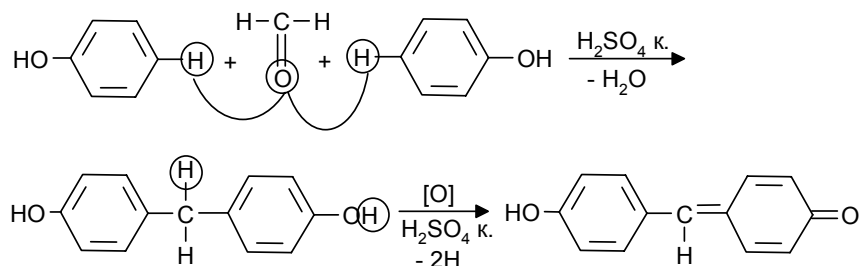


Реакция с реактивом Марки

Пенициллины с реактивом Марки (раствор формалина в концентрированной серной кислоте) образуют окрашенные продукты.

Наиболее характерной эта реакция является для феноксиметилпенициллина (красное окрашивание при комнатной температуре и углубление окраски при нагревании). Реакция протекает за счет феноксиуксусной кислоты, которая образуется из феноксиметилпенициллина при действии концентрированной серной кислоты.

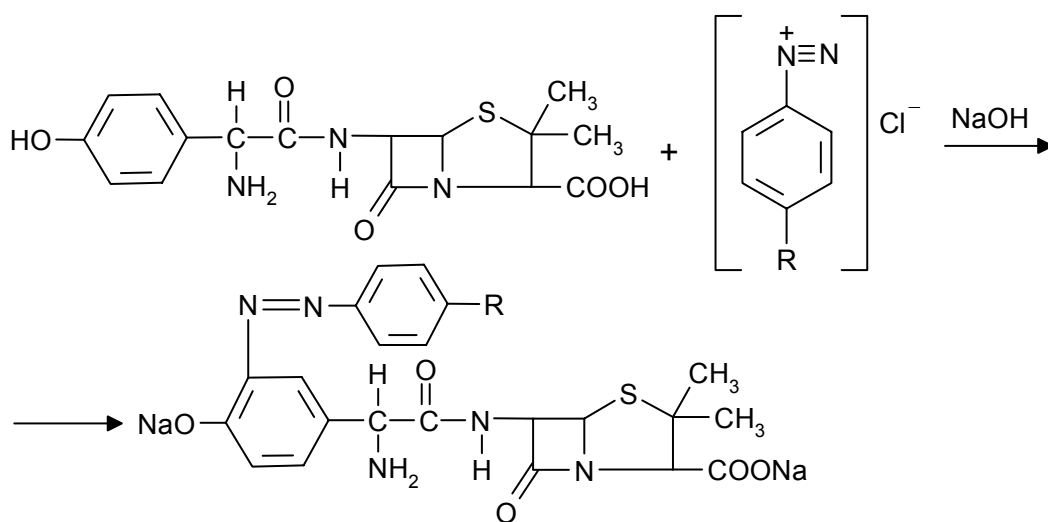
Фенол (см. выше) с реактивом Марки образует ауриновый краситель красного цвета.



Ампициллин и амоксициллин за счет остатка аминокислоты в ацильной части молекулы дают реакцию с нингидрином и солями меди (II) (с реактивом Фелинга или раствором меди сульфата)

Реакция образования азокрасителя на амоксициллин

Амоксициллин в отличие от ампициллина содержит в молекуле фенольный гидроксил и поэтому с солью диазония образует азокраситель:



азокраситель красного цвета

Реакции окисления

Пенициллины за счет гетероатома серы обладают восстанавливающими свойствами и способны восстанавливать серебро из аммиачного раствора серебра нитрата, оксид меди (I) из реактива Фелинга, ртуть – из реактива Несслера, йод из калия иодата и др.

Действие окислителей приводит к образованию неактивных продуктов окисления; как правило, окислительный распад протекает с раскрытием тиазолидинового ядра и образованием сульфоксида.

Испытания на чистоту

Так как пенициллины могут легко изменяться под действием внешних воздействий, для них обязательным является испытание на прозрачность и цветность. Растворы натриевых и калиевых солей бензилпенициллина должны быть бесцветными и прозрачными.

Все препараты оптически активны (правовращающие); в НД представлены значения удельного вращения.

УФ-спектрофотометрия используется для определения посторонних примесей. Поглощение при 320 нм обусловлено образованием тиольной формы пенициллоиновой кислоты. В фармакопейных статьях регламентируется значение рН растворов (или суспензий) препаратов данной группы.

В таблице 6 представлены значения рН водных растворов (или водных суспензий) некоторых пенициллинов.

Таблица 6. Значения рН растворов некоторых пенициллинов

Название препарата	Значение рН
1. Бензилпенициллина натриевая (калиевая) соль	5,5 – 7,5
2. Бензилпенициллина новокаиновая соль	5,0 – 7,5
3. Бензатина бензилпенициллин (бициллин-1)	5,0 – 7,5
4. Феноксиметилпенициллин	2,4 – 4,0
5. Оксациллина натриевая соль	4,5 – 7,5
6. Ампициллин, ампициллина тригидрат	3,5 – 6,0
7. Ампициллина натриевая соль	8,0 – 9,5
8. Карбенициллина динатриевая соль	6,0 – 8,0

Из таблицы 6 следует, что нейтральные соли пенициллина устойчивы в нейтральной и слабокислой средах; феноксиметилпенициллин как кислота устойчив в слабокислой среде. Динатриевая соль карбенициллина устойчива в слабощелочной среде; ампициллин – амфолит, его натриевая соль устойчива в слабощелочной среде. Все пенициллины в щелочной среде гидролизуются, а в кислой – гидролизуются и подвергаются изомеризации с потерей активности.

В препаратах пенициллина регламентируется содержание воды. Определение проводится либо путем высушивания в сушильном шкафу (для некоторых препаратов в вакуум-сушильном), либо титрованием по методу К.Фишера. Допустимое содержание воды в некоторых пенициллинах представлено в таблице 7.

Таблица 7. Допустимое содержание воды в некоторых пенициллинах

Название препарата	Допустимое содержание воды
1. Бензилпенициллина натриевая (калиевая) соль	не более 1,0%
2. Бензилпенициллина новокаиновая соль	не более 4,2% (по К.Фишеру)
3. Бензатина бензилпенициллин (бициллин-1)	не менее 5,0% и не более 8,0% (по К.Фишеру)
4. Феноксиметилпенициллин	не более 1,5% (в вакуум-сушильном шкафу)
5. Оксациллина натриевая соль	не менее 3,5% и не более 5,0% (по К.Фишеру)
6. Ампициллин	не более 1,5% (по К.Фишеру)
7. Ампициллина тригидрат	не менее 12,0% и не более 15,0% (по К.Фишеру)
8. Ампициллина натриевая соль	не более 2,5% (по К.Фишеру)
9. Карбенициллина динатриевая соль	не более 5,5% (по К.Фишеру)

Определение йодсорбирующих примесей основано на том, что сами пенициллины йодом не окисляются. Окисление йодом пенициллинов проводится только после щелочного гидролиза и добавления ацетатного буфера при рН 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 определения йодсорбирующих примесей в ампициллине.

Около 0,25 г испытуемого препарата (точная навеска) растворяют в 50 мл 1/15 мол. фосфатного буфера (рН 7,0) в мерной колбе вместимостью 100 мл, доводят объём раствора водой до метки и перемешивают (раствор А).

10 мл раствора А вносят в коническую колбу с притертой пробкой вместимостью 250 мл, прибавляют 20 мл 0,8 мол. раствора ацетатного бу-

фера (рН $4,7 \pm 0,05$), 25 мл 0,01н раствора йода с калия йодидом, перемешивают и оставляют на 20 минут в темном месте.

Избыток йода оттитровывают 0,01 н 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:

$$X = \frac{V \cdot K \cdot \text{Э} \cdot 100}{a \cdot 10} \cdot 100$$

где V - разность в объёмах 0,01 н раствора натрия тиосульфата между контрольным и основным титрованием, мл;

K – поправочный коэффициент к титру 0,01 н раствора натрия тиосульфата;

a – навеска препарата в пересчете на сухое вещество, г;

Э – количество $C_{16}H_{19}N_3S$ (ампициллина), эквивалентное 1 мл 0,01 н раствора йода, г (Э – 0,0004359).

Содержание йодсорбирующих примесей в препарате, в пересчете на сухое вещество, должно быть не более 3,5%.

На все препараты пенициллина проводят испытание на токсичность биологическим методом.

Возможность наличия токсичных примесей обусловлена методом получения пенициллинов (микробиологический синтез природных пенициллинов, а также микробиологический синтез 6-АПК или ферментативный гидролиз бензилпенициллина амидазой для получения 6-аминопенициллановой кислоты – исходного вещества для получения полусинтетических пенициллинов).

В НД регламентируется количество посторонних пенициллинов в каждом из препаратов. Так, например, содержание бензилпенициллина в калиевой и натриевой солях должно быть не менее 90,0%, а сумма пенициллинов – не менее 96,0%. Таким образом, в препаратах допускается 6,0% других пенициллинов. Препараты пенициллина для парентерального введения испытываются на пирогенность и стерильность.

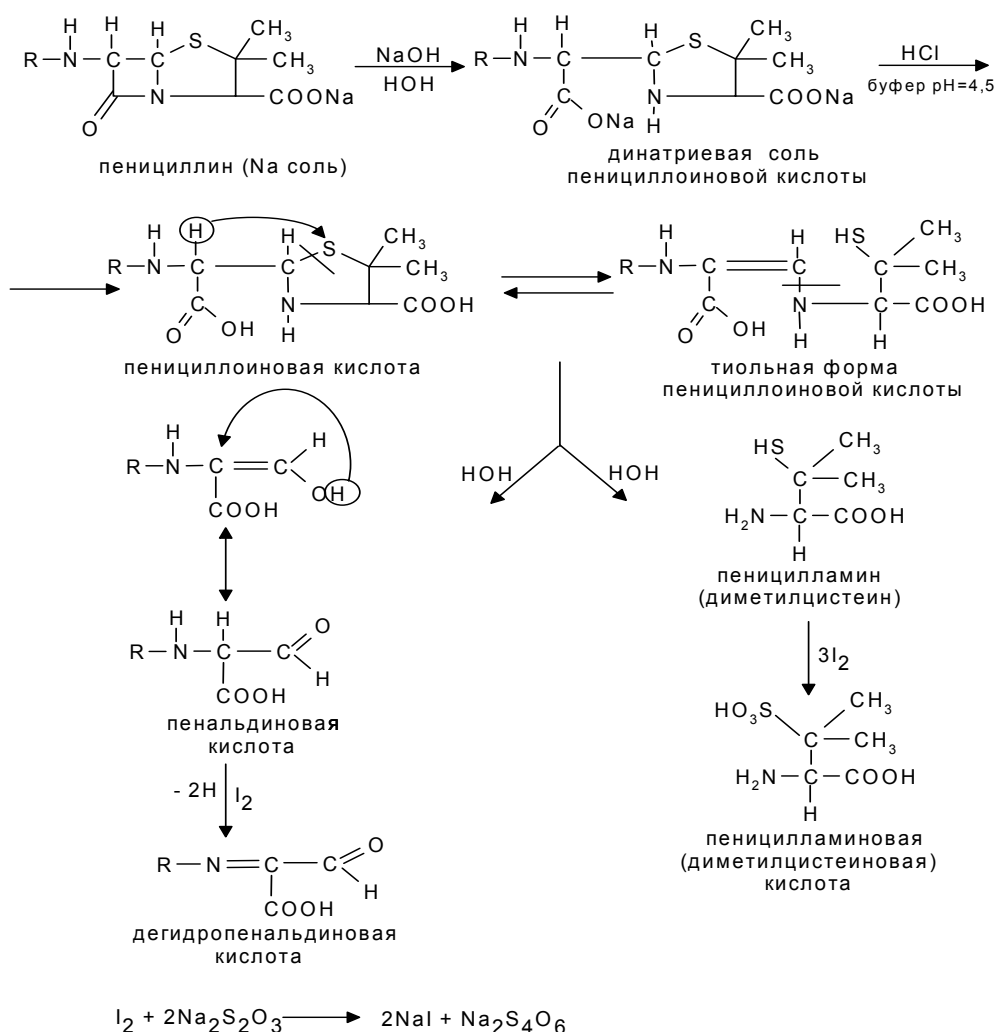
Методы количественного определения

Так как пенициллины являются гетерогенными соединениями, то по НД требуется определение суммы пенициллинов и определяемого пенициллина. Сумму пенициллинов в солях бензилпенициллина и феноксиметилпенициллине определяют иодометрическим методом.

Натриевую и калиевую соли бензилпенициллина растворяют в воде, а феноксиметилпенициллин – в фосфатном буфере с рН = 7,0. Затем добавляют раствор гидроксида натрия и оставляют на двадцать минут. После щелочного гидролиза к смеси прибавляют соляную кислоту, раствор ацетатного буфера (рН = 4,5 ± 0,05) и избыток 0,01 н раствора йода. Оставляют на 20 минут в темном месте и титруют избыток 0,01 н раствора йода 0,01 н раствором натрия тиосульфата. Параллельно проводят контрольный опыт с таким же количеством препарата, но без щелочного гидролиза.

При щелочном гидролизе происходит раскрытие беталактамного кольца с образованием пенициллоиновой кислоты в открытой тиольной форме.

Пенициллоиновая кислота при рН = 4,5 гидролизуется в присутствии окислителя (йода) до пенальдиновой кислоты и пенициллина, которые окисляются раствором йода соответственно до дегидропенальдиновой кислоты и пеницилламиновой (диметилцистеиновой) кислоты:



Избыток йода оттитровывают раствором натрия тиосульфата. На окисление расходуется 8 эквивалентов йода.

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

Содержание суммы пенициллинов в процентах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{V \cdot K \cdot \mathcal{E} \cdot 100 \cdot C}{a \cdot 5} \cdot 100$$

где: V – разность в объёмах 0,01 н раствора йода между опытным и контрольным титрованием (или разность в объёмах 0,01 н раствора натрия тиосульфата между контрольным и опытным титрованием), мл;

K – поправка 0,01 н раствора натрия тиосульфата;

Э – величина эквивалента 1 мл 0,01 н раствора йода в граммах стандартного образца натриевой соли бензилпенициллина или в граммах стандартного образца феноксиметилпенициллина (с пересчетом на химически чистое вещество);

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

a – навеска препарата, г.

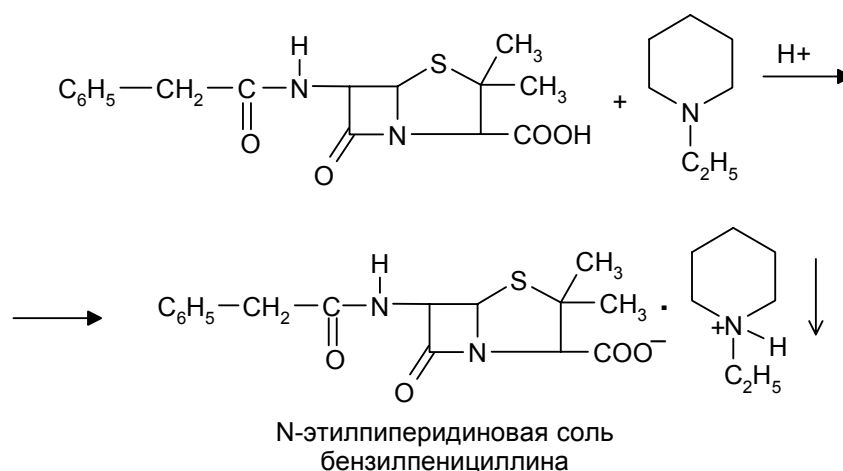
Таким образом, иодометрический метод количественного определения суммы пенициллинов состоит из нескольких стадий:

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 иодометрическом определении беталактамов (пенициллинов и цефалоспоринов) используют стандартные образцы, так как реакция взаимодействия йода с продуктами щелочного разрушения пенициллинов не протекает строго стехиометрически. Этим же целям стандартизации служит поддержание определенного значения pH среды и времени анализа.

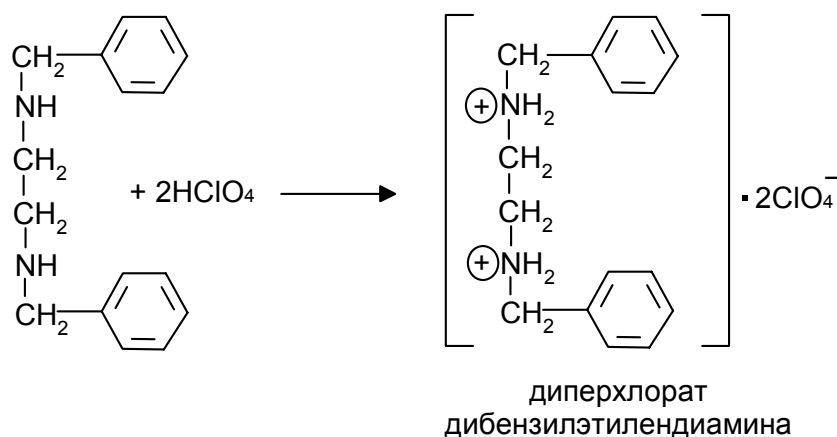
Определение бензилпенициллина в его солях проводится гравиметрическим методом, основанным на образовании N-этилпиперидиновой соли бензилпенициллина, которая нерастворима в смеси амилацетата и ацетона. Соли других пенициллинов растворимы в этой смеси и осадка не образуют:



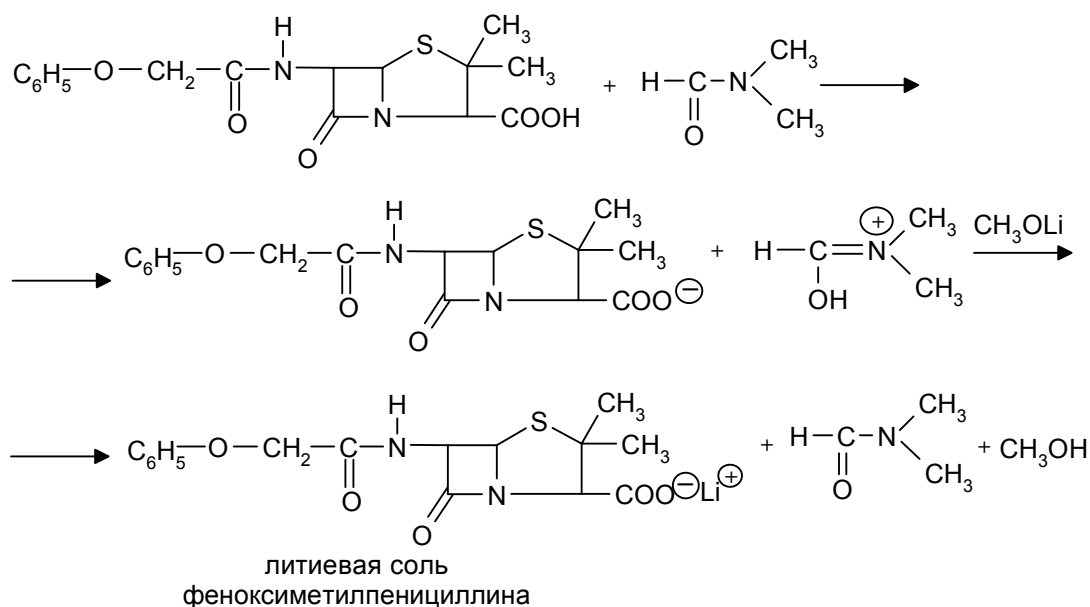
Феноксиметилпенициллин определяют методом УФ-спектрофотометрии в 5% растворе гидрокарбоната натрия при длине волны 268 нм.

Количественное определение суммы пенициллинов в бензатина бензилпенициллине проводится иодометрическим методом.

Количественное определение дибензилэтилендиамина в бензатина бензилпенициллине проводится методом кислотно-основного титрования в неводной среде после экстрагирования эфиром из щелочного раствора препарата. Эфирный слой выпаривают до малого объема, добавляют 2 мл безводного этанола и выпаривают досуха. К остатку добавляют ледяной уксусной кислоты и титруют хлорной кислотой:

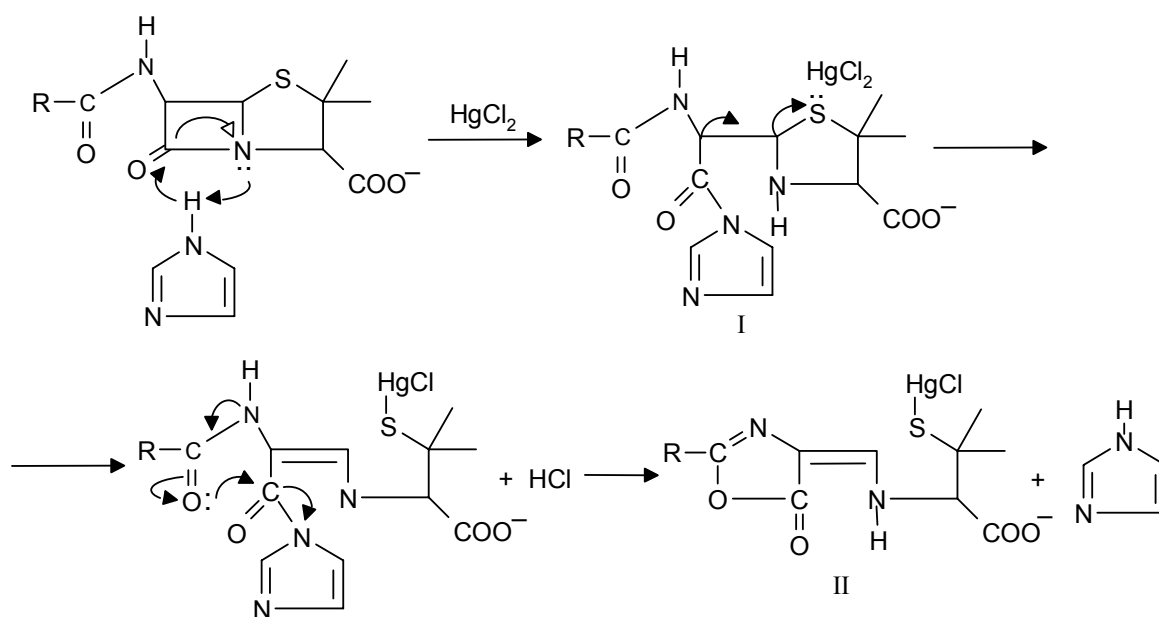


В литературе описан метод кислотно-основного титрования феноксиметилпенициллина в неводной среде за счет кислотных свойств. Препарат растворяют в диметилформамиде и титруют раствором метоксида натрия (лития, калия):



Количественное определение природных и полусинтетических пенициллинов спектрофотометрическим методом.

Методы основаны на образовании комплексных соединений пеницилленовой кислоты с солями ртути (II) или меди (II) (λ_{max} соответственно 325 и 320 нм). По международной и некоторым зарубежным фармакопеям для количественного определения пенициллинов спектрофотометрическим методом применяется реакция с раствором имидазола ртути (II) хлоридом, которая протекает следующим образом. Имидазол атакует β -лактамное кольцо с образованием промежуточного продукта N-пенициллоимидазола (I), на атом серы которого действует ртути (II) хлорид, образуя устойчивый комплекс ртути (II) пеницилленовой кислоты (II):



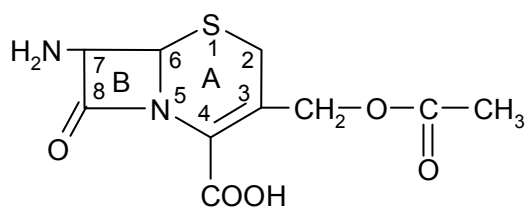
Этот продукт довольно устойчив и имеет максимум поглощения при 325 нм. Если соединение имеет первичную аминогруппу в α -положении к

По Европейской фармакопее пенициллины определяют методом жидкостной хроматографии.

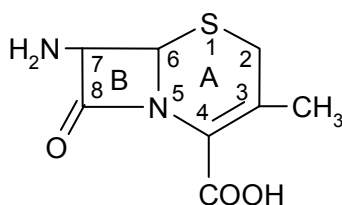
2. ЦЕФАЛОСПОРИНЫ

Химическое строение, физические и физико-химические свойства, применение

В основе строения цефалоспоринов и полусинтетических цефалоспоринов лежат 7-аминоцефалоспоровая кислота (7-АЦК) и 7-аминодезацетоксицефалоспоровая кислота (7-АДЦК), которые состоят из двух конденсированных колец: β -лактамного (В) и метадигидроптиазинового (А):



7-АЦК



7-АДЦК

Цефалоспорины являются ацильными производными 7-АЦК или 7-АДЦК.

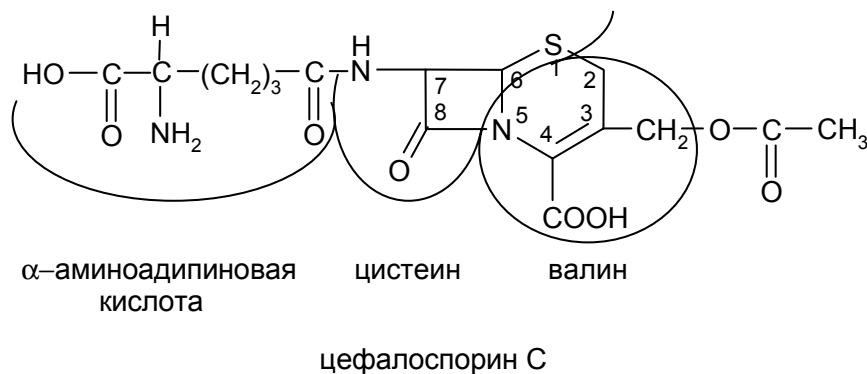
Первые сведения о цефалоспоридах относятся к 1945 г., когда итальянский микробиолог Brotzu при исследовании флоры морской воды близ берегов Сардинии обнаружил микроорганизмы с выраженной антибактериальной активностью. Развиваясь в питательной среде эти организмы продуцируют вещество, ингибирующее развитие многих бактерий.

В 1948 г. было установлено, что изолированная Brotzu культура относится к виду *Cephalosporium salmosynnematum* и что она продуцирует 7 различных антибиотиков, одним из которых является цефалоспорин С.

Структура ядра цефалоспорина С сходна со структурой пенициллинов. Как оказалось, биогенез ядер этих двух типов антибиотиков идентичен; единственное исключение составляет способ замыкания серусодержащего кольца. У цефалоспорина С атом углерода, соответствующий од-

ной из двух метильных групп у С₂ молекулы пенициллина, входит в состав шестичленного дигидротиазинового кольца.

Цефалоспорин С является трипептидом (состоит из валина, цистеина и α-аминоадипиновой кислоты):

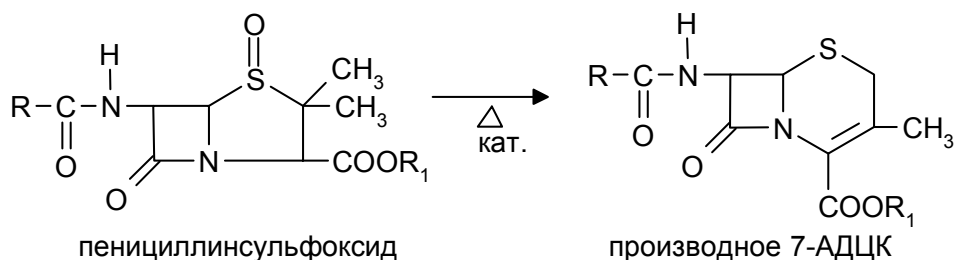


Сам цефалоспорин С не нашел широкого применения в качестве антибактериального средства. Его, однако, можно подвергнуть тем же модификациям, что и пенициллин. Ферментативное удаление боковой цепи (α-аминоадипиновой кислоты) приводит к образованию 7-аминоцефалоспоровановой кислоты (7-АЦК), из которой путем химического ацилирования хлорангидами кислот (по аналогии с полусинтетическими пенициллинами) можно получить различные полусинтетические цефалоспорины, примером которых является цефалотин (1962 г.).

При отщеплении ацетоксигруппы в положении 3 молекулы цефалоспорина С образуется 3-дезацетоксицефалоспорин С (имеет 20% активности цефалоспорина С). При удалении из 3-дезацетоксицефалоспорина С остатка α-аминоадипиновой кислоты образуется 7-аминодезацетоксицефалоспоровановая кислота (7-АДЦК). Она может быть получена и из 7-АЦК при удалении ацетоксигруппы из положения 3.

На основе 7-АДЦК также получен ряд полусинтетических препаратов, например, цефалексин.

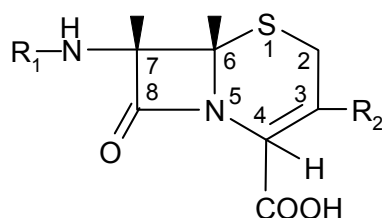
В 1963 г. в США сотрудниками фирмы Eli Lilly обнаружена химическая трансформация пенициллинсульфоксидов в деацетоксицефалоспоровановые производные (при нагревании в присутствии катализаторов):



Рентгеноструктурный анализ позволил установить идентичность пространственной структуры беталактамных колец в пенициллинах и цефалоспориновых антибиотиках. Различие существует только в расположении экзоциклических карбоксильных групп. Поэтому различие в активности и устойчивости пенициллинов и цефалоспоринов можно объяснить только различием стереоспецифичности карбоксильных групп, а также геометрии конденсированных циклических систем.

Кроме того, микробиологическая активность отдельных цефалоспориновых антибиотиков, полученных путем химической модификации природной молекулы, определяется типом дополнительно введенных заместителей.

Общая формула цефалоспоринов:



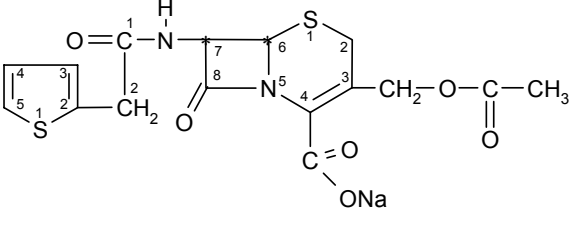
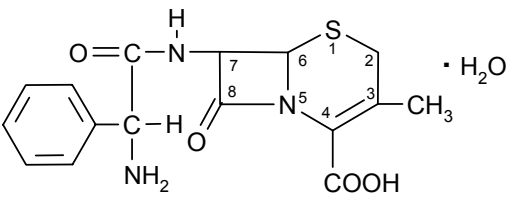
Структура радикалов некоторых цефалоспоринов представлена в таблице 8.

Таблица 8. Структура радикалов некоторых цефалоспоринов

Название антибиотика	R ₁	R ₂	Примечание
1. Цефалотин	<p>тиенил-2-ацетил</p>	<p>ацетоксиметил</p>	производное 7-АЦК
2. Цефалексин	<p>α-амино-фенилацетил</p>	<p>метил</p>	производное 7-АЦК

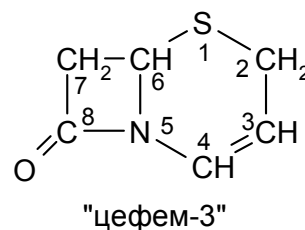
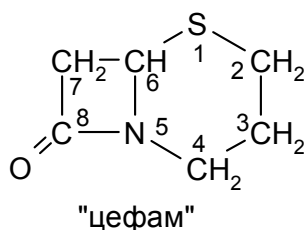
Химическая структура, названия, описание и применение некоторых цефалоспоринов представлено в таблице 9.

Таблица 9. Структурные формулы, названия, описание и применение некоторых цефалоспоринов

Структурная формула	Описание
	<p>Cephalotinum-natrium. Цефалотина натриевая соль. (7R)-7-(2-тиенилацетиамидо)-цефалоспороновой кислоты натриевая соль. Белый или почти белый кристаллический порошок. Легко растворим в воде, 0,9% растворе хлорида натрия, 5% растворе глюкозы. Антибиотик широкого спектра действия. Неустойчив в кислой среде, устойчив к пенициллиназе. Назначают внутримышечно или внутривенно. Форма выпуска – в герметически укупоренных флаконах по 0,5 г; 1,0 г и 2,0 г</p>
	<p>Cefalexinum. Цефалексин. Полусинтетический цефалоспорин 7-(D-α-Аминофенилацетиамидо)-3-метил-3-цефем-4-карбоновой кислоты моногидрат Белый или белый со слегка желтоватым оттенком порошок. Трудно и медленно растворим в воде, практически нерастворим в спирте, эфире, хлороформе. Антибиотик широкого спектра действия. Устойчив в кислой среде и к пенициллиназе. Назначают внутрь в виде капсул по 0,25 г; таблеток по 0,5 г</p>

	<p>Cefoxitinum natrium. Цефокситина натриевая соль (7S)-3-[(Карбамоилокси)-метил]-7-метокси-7-(2-тиенилацетамидо)-3-цефем-4-карбоновой кислоты натриевая соль. Белый или слегка желтоватый порошок. Легко растворим в воде. Антибиотик широкого спектра действия третьего поколения. Устойчив к пенициллиназе, неустойчив к кислотам. Назначают внутримышечно или внутривенно. Форма выпуска – лиофилизированный порошок во флаконах по 1 г и 2 г</p>
--	--

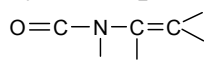
Для наименования цефалоспоринов удобно использовать номенклатурную систему «цефам»:



Ядро «цефам» представляет собой конденсированную беталактамтетрагидрометадиазиную систему. Если в цефалоспориновом ядре имеется двойная связь, окончание «ам» заменяется на «ем», при этом указывается местоположение двойной связи.

Как следует из таблицы 9, эти препараты – белые или белые со слегка желтоватым оттенком (за счет возможного окисления метадигидро-тиазинового кольца) порошки. Кислотные формы трудно и мало растворимы в воде, натриевые соли – легко растворимы. Препараты оптически активны (асимметрические атомы углерода в положениях 6 и 7), правовращающие. В НД нормируется значение удельного вращения.

Водные растворы цефалоспоринов дают в УФ области характерную полосу поглощения с максимумом при длине волны около 260 нм, что обусловлено колебанием связи



при возможном участии серы яд-

при возможном участии серы яд-

ра. У цефалексина, кроме того, имеется дополнительный хромофор – фенильный радикал в ацильной части молекулы. В УФ спектре цефалотина имеется 1 максимум при длине волны 237 нм и плечо при 265 нм. Поглощение при длине волны 237 нм обусловлено, главным образом, присутствием тиенильной группировки, а при 265 нм – кольцевой системы 7-аминоцефалоспороановой кислоты.

По НД требуется определять оптическую плотность 0,002% водных растворов цефалоспоринов для идентификации и характеристики степени чистоты препаратов (таблица 10).

Таблица 10. Оптическая плотность 0,002% растворов некоторых цефалоспоринов.

Название лекарственного средства	λ , нм	Оптическая плотность
Цефалексин	260 ± 1	0,44 – 0,49
Цефалотин	237	0,65 – 0,72

Химические свойства. Реакции подлинности.

Методы количественного определения. Испытания на чистоту.

Цефалоспорины являются кислотами (за счет карбоксильной группы в положении 4); некоторые из них применяются в виде натриевых солей (цефалотин). Цефалексин обладает амфотерными свойствами: кроме карбоксильной группы в положении 4, содержит основную группу – алифатическую аминогруппу в остатке D- α -аминофенилуксусной кислоты.

Значения pK_s структурных элементов цефалексина и цефалотина представлены в таблице 11.

Таблица 11. Значения pK_s структурных элементов цефалотина и цефалексина.

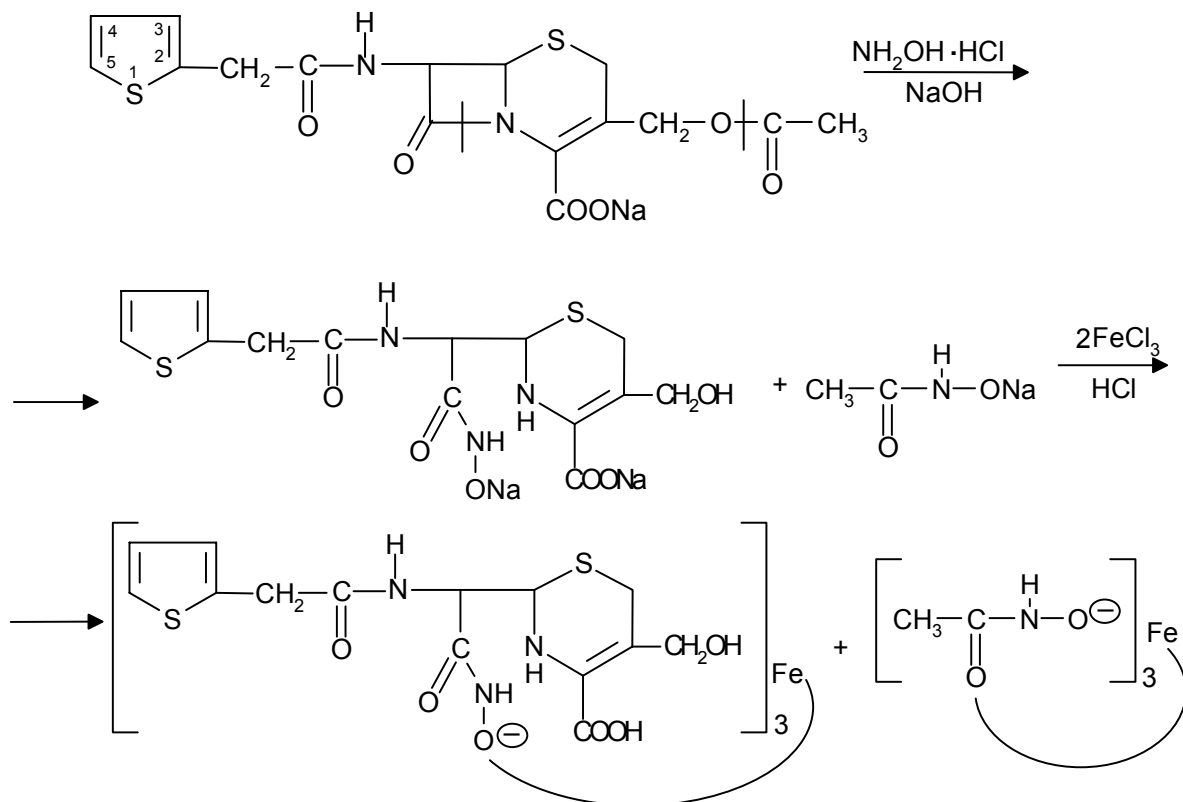
Название	pK_s (COOH)	pK_s (NH ₂)
Цефалексин	5,3	7,1
Цефалотин	2,5	-

pH 0,5% водного раствора цефалексина - 3,5-5,5; цефалотина – 4,5-7,5.

Общие химические свойства цефалексина и цефалотина обусловлены наличием в составе их молекул атома серы в дигидротиазиновом кольце (способность к окислению) и β -лактамного кольца (гидроксамоновая реакция).

Реакцию окисления проводят 80% раствором серной кислоты, содержащей 1% азотной кислоты. Цефалексин образует желтое окрашивание, цефалотина натрияевая соль – оливково-зеленое, переходящее в красновато-коричневое.

Гидроксамовая реакция на бета-лактамное кольцо проводится по методике для пенициллинов. Цефалотин, кроме того, дает гидроксамовую реакцию и на сложно-эфирную группу:



гидроксаматы железа (III) красно-фиолетового цвета

Цефалексин так же, как ампициллин и амоксициллин, содержит в ацильной части молекулы остаток α -фениламиноуксусной кислоты и поэтому дает реакцию с нингидрином (вишневое окрашивание) и с сульфатом меди после нейтрализации раствором гидроксида натрия (оливково-зеленое окрашивание).

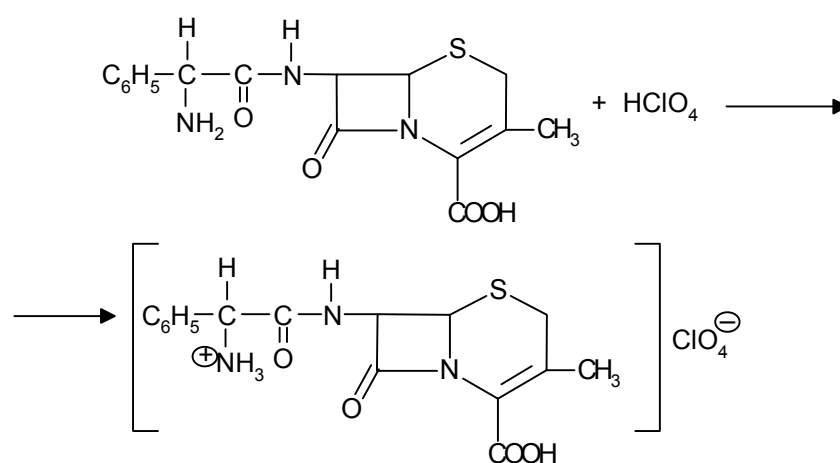
Цефалотина натрияевая соль дает реакцию на натрий – по окрашиванию бесцветного пламени горелки в желтый цвет.

Для количественного определения цефалоспоринов используют следующие методы.

1. **Определение активности** проводят микробиологическим методом диффузии в агар с тест-культурой *Bacillus subtilis* в сравнении со стандартными образцами препаратов.

2. **Иодометрический метод** проводится как для солей бензилпенициллина, с применением ацетатного буфера $\text{pH} = 4,7 \pm 0,05$. Содержание цефалексина и цефалотина должно быть не менее 95,0% в пересчете на сухое вещество.

3. Для **цефалексина-стандарта** рекомендуется метод кислотно-основного титрования в неводной среде: растворяют вещество в муравьиной кислоте, затем добавляют ледяную уксусную кислоту и титруют потенциометрически раствором хлорной кислоты:



перхлорат цефалексина

4. **Цефалоспорины** по Европейской фармакопее определяют методом жидкостной хроматографии.

В испытаниях на чистоту регламентируется значение pH , удельное вращение, оптическая плотность растворов, вода (для цефалотина натриевой соли – не более 1,5%; для цефалексина кристаллогидрата – не менее 4,0% и не более 8,0%). Т.к. препараты полусинтетические (7-АДЦК и 7-АЦК получают из природных цефалоспоринов), то необходимо испытание на токсичность (как и для пенициллинов). Посторонние примеси определяют методом ТСХ.

3. АМИНОГЛИКОЗИДЫ

Группа аминогликозидов объединяет родственные по химическому строению и антимикробному спектру антибиотики олигосахаридной природы – стрептомицины, гентамицины, неомицины, канамицины, мономицины и др., а также полусинтетический аминогликозид – амикацин.

Общее название «аминогликозиды» принято для этой группы антибиотиков в связи с тем, что в составе их молекул содержатся аminosахара, связанные гликозидной связью с агликоном.

По механизму действия аминогликозиды являются ингибиторами синтеза белка. Аминогликозиды характеризуются широким спектром антимикробного действия.

Первый антибиотик этой группы – стрептомицин – был открыт С.Ваксманом (США) в 1942 г., применяется в медицинской практике с 1946 г.

В 1955 г. японскими учеными был выделен канамицин (Умегава с сотрудниками). Мономицин выделен в нашей стране Г.Ф.Гаузе в 1962 г. Гентамицин выделен и описан Вайнштейном (США) в 1962 г.; в нашей стране в медицинской практике применяют с 1976 г.

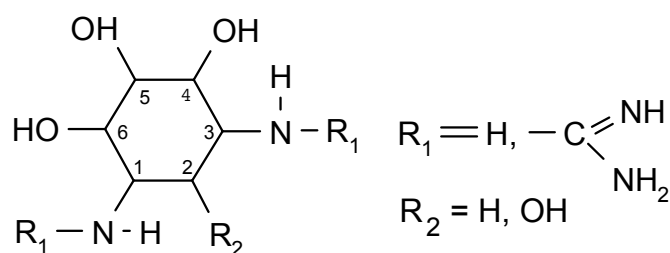
Аминогликозиды получают методом микробиологического синтеза. Продуцентом стрептомицина является *Streptomyces globisporus streptomycini*; канамицина – *Streptomyces kanamyceticus*; гентамицина – *Microspora purpurea*. Амикацин получают полусинтетическим способом.

Многие аминогликозиды обладают ото- и нефротоксичностью.

Химическое строение, физические и физико-химические свойства

По химическому строению антибиотики-аминогликозиды являются гликозидами, состоящими из агликона и сахаров, большинство которых является аминасахарами.

Агликон аминогликозидов представляет собой циклогексановое кольцо с основными группами при C_1 и C_3 и гидроксильными группами при C_4 , C_5 и C_6 :



По характеру агликона аминогликозиды делят на 2 группы: стрептидинсодержащие и дезоксистрептаминсодержащие. К первой группе относятся стрептомицин, дигидрострептомицин, агликоном у которых является стрептидин; ко второй группе – канамицины, гентамицины, неомицины, мономицины, амикацин. Агликоном у них является 2-дезоксистрептамицин, который отличается от стрептидина наличием аминогрупп вместо остатков гуанидина и отсутствием оксигруппы при C_2 .

Аминогликозиды применяются в медицинской практике в виде солей – сульфатов.

Стрептомицина сульфат

Стрептомицин содержит в качестве агликона стрептидин – (1,3-дигуанидино-2,4,5,6-тетраоксициклогексан), который связан гликозидной связью с дисахаридом стрептобиозамином. Стрептобиозамин состоит из N-метил-L-глюкозамина (2-дезоксид-2-метиламино-L-глюкозы) и L-стрептозы, которая в отличие от других сахаров содержит две альдегидные группы (при C₁ и при C₃). Таким образом, в положении 3 остатка L-стрептозы молекулы стрептомицина содержится свободная альдегидная группа.

Стрептомицин представляет собой сильное трехкислотное основание (за счет двух гуанидиновых групп стрептидина и N-метильной группы N-метил-L-глюкозамина). Фармакопейным препаратом является стрептомицина сульфат (стрептомицин)₂·3H₂SO₄.

Канамицина моносульфат

Канамицина моносульфат – соль органического основания. Основание представляет собой аминогликозид, агликоном которого является 2-дезоксистрептамин (1,3-диамино-4,5,6-тригидроксициклогексан). С агликоном связаны 2 сахара: через гидроксил в положении 4 агликона присоединяется 6-глюкозамин (6-дезоксид-6-амино-D-глюкоза), а через гидроксил в положении 6 – 3-глюкозамин (3-дезоксид-3-амино-D-глюкоза).

Фармакопейный препарат состоит, в основном, из канамицина А.

Однако, в качестве примеси в препарате может быть более токсичный канамицин В, который отличается от канамицина А тем, что в остатке 6-глюкозамина в положении 2 вместо гидроксила находится аминогруппа. Примесь канамицина В в канамицина моносульфате определяется микробиологическим методом после кислотного гидролиза.

Основание канамицина содержит 4 основных центра (две аминогруппы в агликоне 2-дезоксистрептамина, аминогруппы в 3-глюкозамине и 6-глюкозамине).

Поэтому формула канамицина моносульфата (основная соль): канамицин·H₂SO₄, а канамицина сульфата (средняя соль) – канамицин·2H₂SO₄.

Гентамицина сульфат

Агликоном гентамицина является 2-дезоксистрептамин, который связан с двумя сахарами: по положению 4 – с гарозамином, а по положению 6 – с пурпурозамином. Основание гентамицина состоит из трех веществ, которые различаются по строению пурпурозамина.

Основание гентамицина содержит 5 основных центров: 2 аминогруппы в агликоне - 2-дезоксистрептамина, 2 аминогруппы в пурпуроза-

мине и метиламиногруппа в гарозамине. Поэтому формула гентамицина сульфата имеет следующую структуру: (гентамицин)₂·5H₂SO₄.

Амикацин

Полусинтетический аминогликозид амикацин по химической структуре близок к канамицину. Отличается от канамицина структурой агликона: в аминогруппе (положение 1) 2-дезоксистрептамина атом водорода замещен на остаток 4-амино-2-гидроксимасляной кислоты.

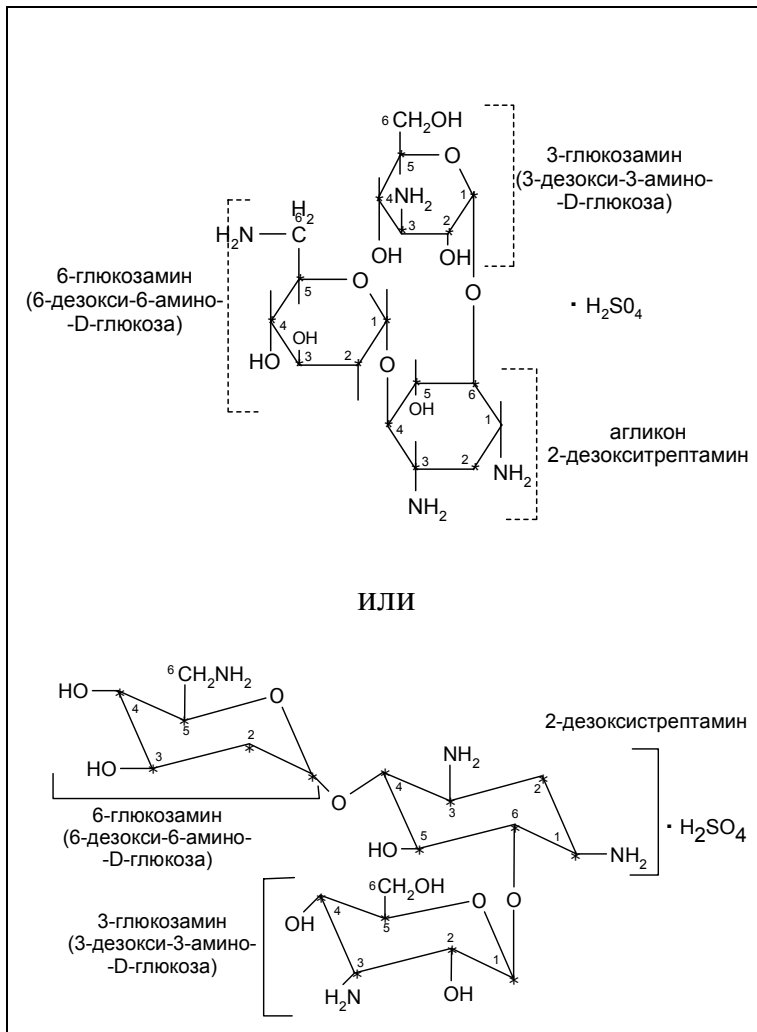
С агликоном связаны два сахара: через гидроксил в положении 4 агликона присоединяется 6-глюкозамин (6-дезоксиглюкоза), а через гидроксил в положении 6 – 3-глюкозамин (3-дезоксиглюкоза).

Основание амикацина содержит 4 основных центра: два в остатке агликона (в положении 3 и в положении 4 гидроксibuтирильного остатка) и по одной аминогруппе в остатках сахаров (3-глюкозамина и 6-глюкозамина). Поэтому формула амикацина: (амикацин-основание)·2H₂SO₄.

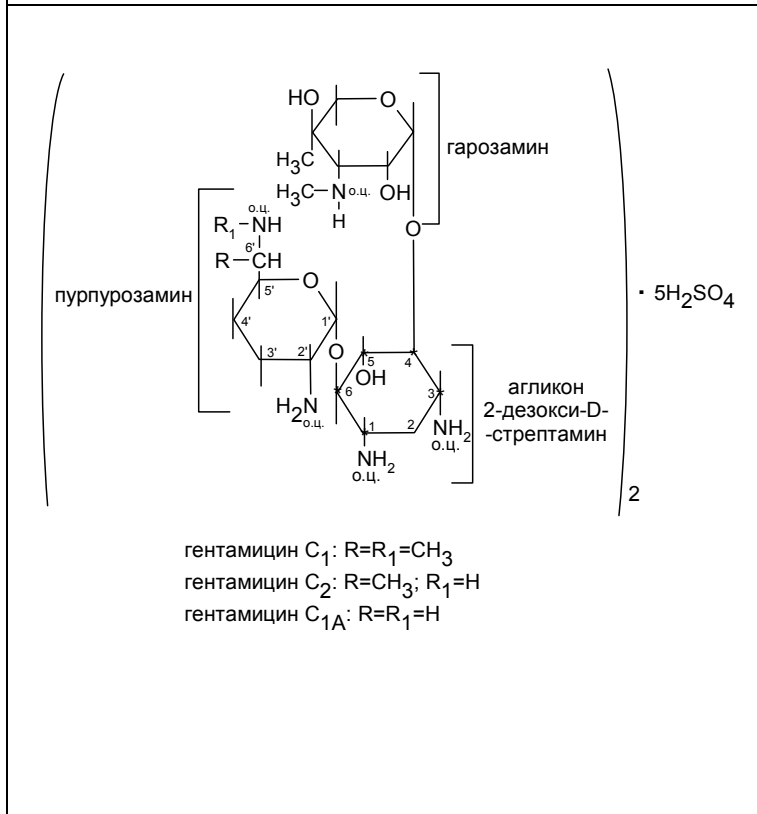
Химическая структура, описание, растворимость, применение и лекарственные формы аминогликозидов представлены в таблице 12.

Таблица 12. Общие свойства аминогликозидов

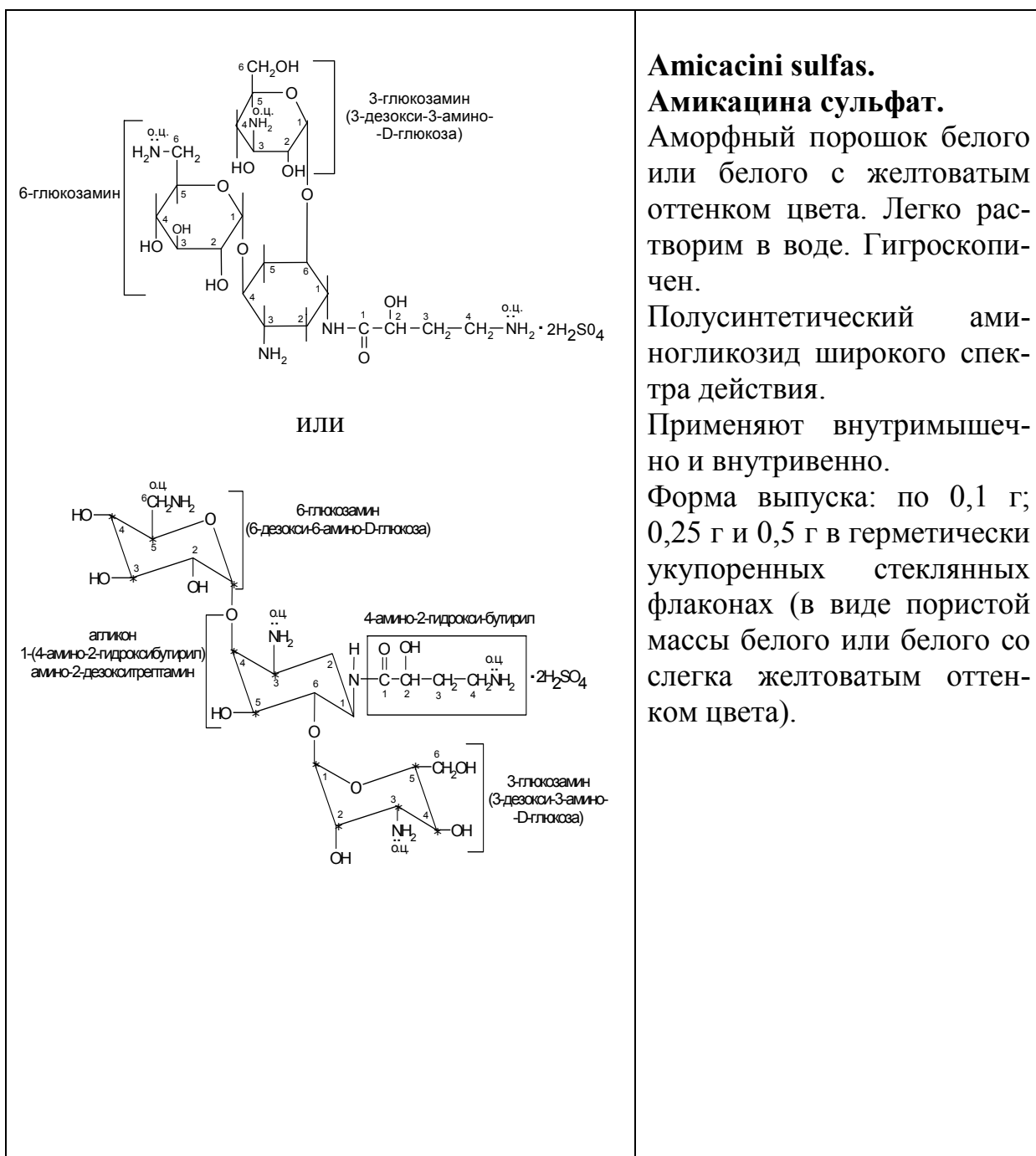
Химическая структура	Описание
	<p>Streptomycini sulfas. Стрептомицина сульфат. Порошок белого или почти белого цвета без запаха. Легко растворим в воде, практически нерастворим в этиловом и метиловом спиртах, хлороформе и эфире. Гигроскопичен. Выпускают во флаконах, герметически закрытых резиновыми пробками и обжатыми алюминиевыми колпачками по 0,25 г; 0,5 г и 1,0 г активного вещества в пересчете на стрептомицин-основание. Антибиотик широкого спектра действия.</p>



Kanamycini monosulfas.
Канамицина моносульфат
 Белый кристаллический порошок без запаха и вкуса. Устойчив к воздействию воздуха. Легко растворим в воде, практически нерастворим в спирте, хлороформе и эфире. Антибиотик широкого спектра действия. Выпускается в виде двух солей: канамицина моносульфата для приема внутрь и канамицина сульфата для парентерального применения.



Gentamycini sulfas.
Гентамицина сульфат.
 Представляет собой смесь сульфатов гентамицинов C₁, C₂, C_{1A}. Белый порошок или пористая масса с кремоватым оттенком. Легко растворим в воде, практически нерастворим в спирте, хлороформе и эфире. Гигроскопичен. Антибиотик широкого спектра действия. Формы выпуска: порошок (пористая масса); раствор для инъекций; мазь; глазные капли.



Amicacini sulfas.

Амикацина сульфат.

Аморфный порошок белого или белого с желтоватым оттенком цвета. Легко растворим в воде. Гигроскопичен.

Полусинтетический аминогликозид широкого спектра действия.

Применяют внутримышечно и внутривенно.

Форма выпуска: по 0,1 г; 0,25 г и 0,5 г в герметически укупоренных стеклянных флаконах (в виде пористой массы белого или белого со слегка желтоватым оттенком цвета).

Как следует из таблицы 12, аминогликозиды – белые или белые с кремоватым (гентамицина сульфат) или 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.

В нормативной документации нормируется значение удельного вращения этих лекарственных веществ. В таблице 13 представлены значения удельного вращения рассматриваемых препаратов.

**Таблица 13. Значения удельного вращения некоторых
аминогликозидов**

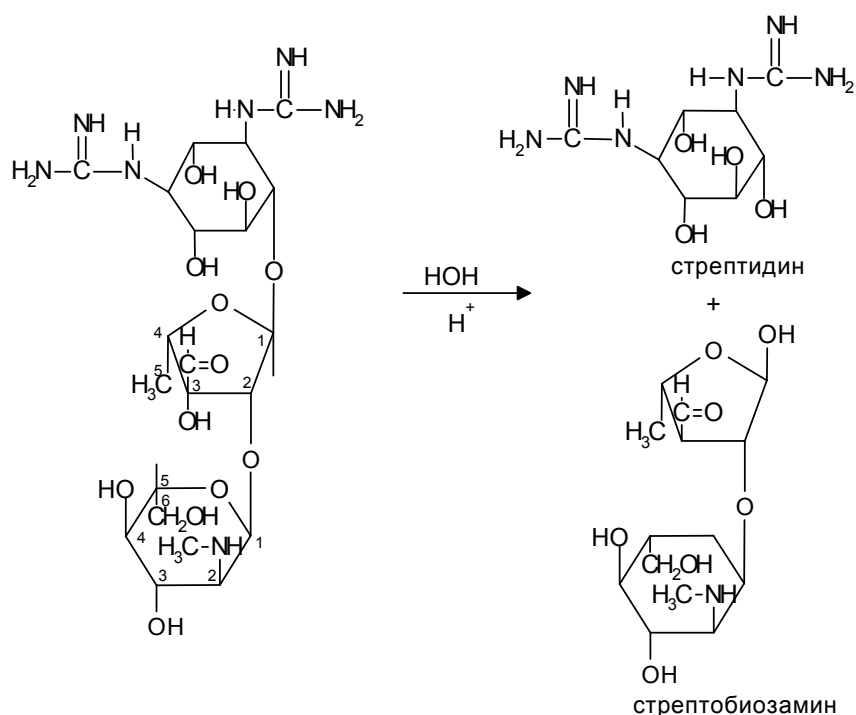
Название лекарственного вещества	Удельное вращение и растворитель
Стрептомицина сульфат	от -78^0 до -83^0 (3% водный раствор)
Канамицина моносульфат	от $+112^0$ до $+123^0$ (5% водный раствор)
Гентамицина сульфат	от $+107^0$ до $+121^0$ (1% водный раствор)
Амикацина сульфат	от $+76^0$ до $+84^0$ (5% водный раствор)

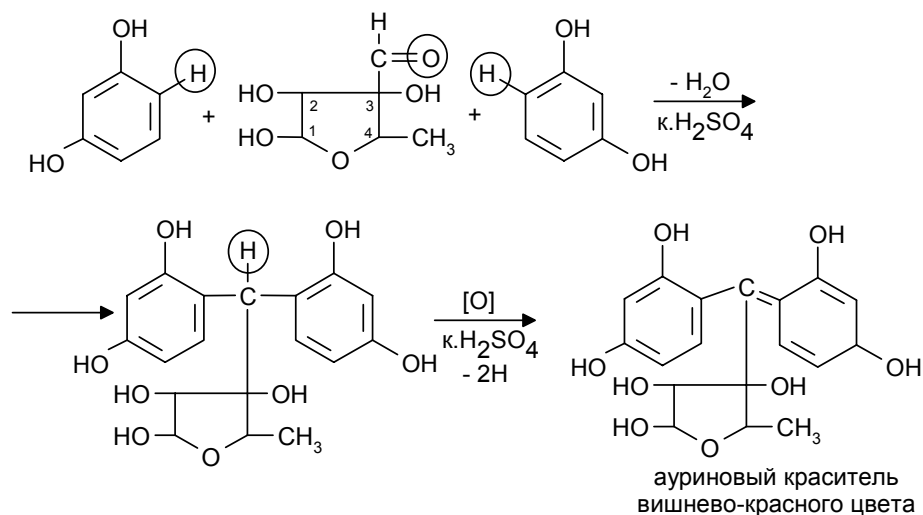
Аминогликозиды не имеют характерных максимумов поглощения в УФ области спектра от 200 до 400 нм.

Для испытания на подлинность канамицина и гентамицина используют ИК-спектроскопию и спектроскопию протонного магнитного резонанса (ПМР-спектроскопию). ИК- и ПМР-спектры испытуемых и стандартных образцов должны быть идентичны.

Химические свойства. Реакции подлинности

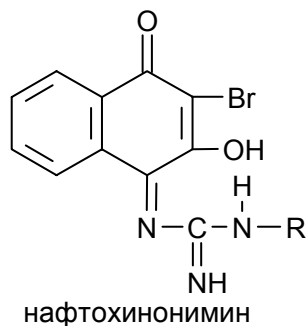
Все лекарственные вещества данной группы, как гликозиды, подвергаются гидролитическому расщеплению в кислой среде с образованием агликона и сахаров. Так, например, при кислотном гидролизе стрептомицина образуется агликон стрептидин и сахарная часть в виде биозы – стрептобиозамина:





Остатки гуанидина в молекуле стрептомицина сульфата можно открыть с помощью реакции Сакагучи и реакции с окисленным нитропруссидом натрия (реактив Вебера).

В реакции Сакагучи реактивами на остатки гуанидина являются α -нафтол в щелочной среде и натрия гипобромит. Происходит окисление и бромирование α -нафтола, а далее образование окрашенного в малиновый цвет нафтохинонимина:



С окисленным нитропруссидом натрия: $\text{Na}[\text{Fe}(\text{CN})_5\text{NO}] + \text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6] + \text{NaOH}$ (реактив Вебера) появляется красное окрашивание.

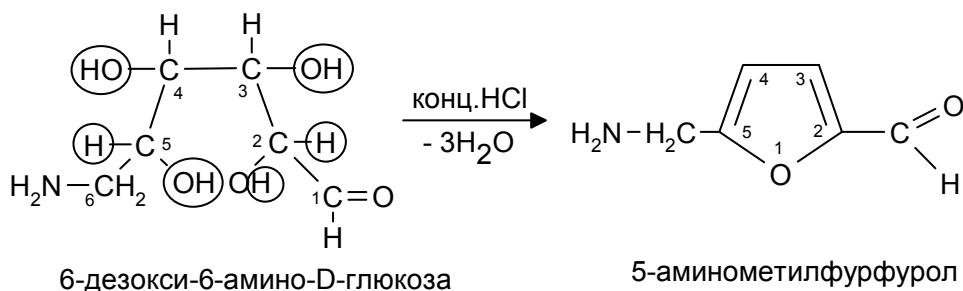
Канамицина моносульфат

Канамицина моносульфат, как гликозид, способен гидролизоваться в кислой среде; при кипячении с кислотами он подвергается гидролитическому расщеплению с полной потерей активности. В отличие от стрептомицина канамицин устойчив в растворах щелочей. После кислотного гидролиза канамицин дает реакции на сахара (с реактивами Фелинга, Несслера, аммиачным раствором серебра нитрата).

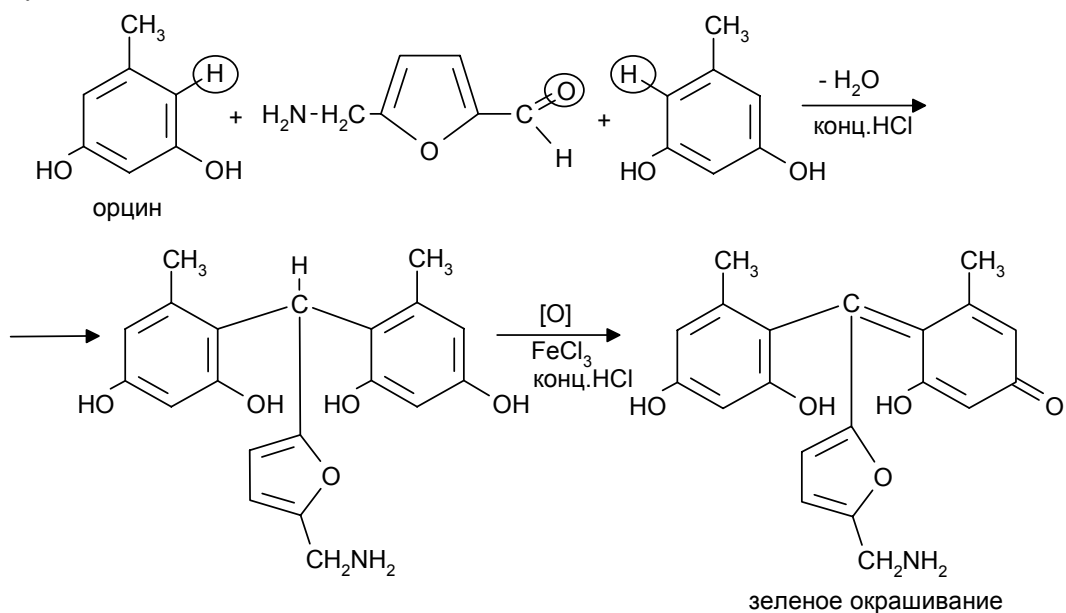
При взаимодействии сахарных компонентов канамицина (например, 6-глюкозамина) с концентрированной соляной кислотой образуется 5-ами-

нофурфурол, который можно обнаружить с орцином в присутствии железа (III) хлорида. Предполагают, что реакция протекает следующим образом:

1.



2.



Гентамицина сульфат

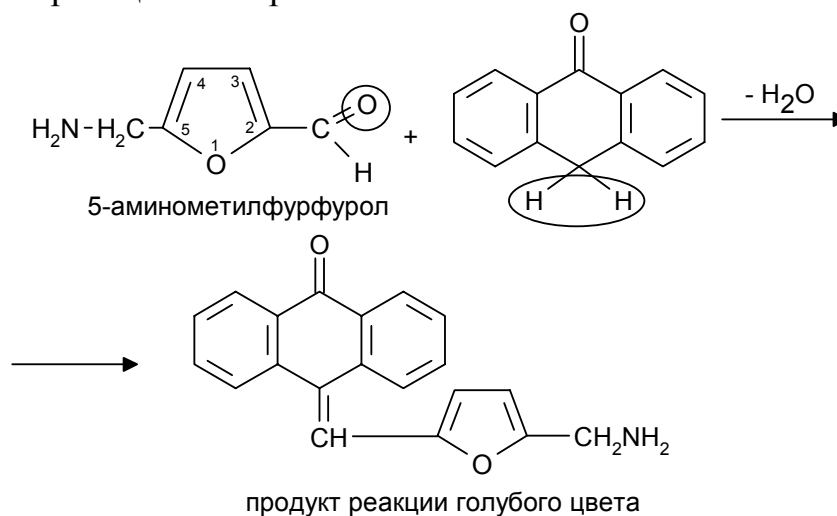
Для определения подлинности гентамицина сульфата, который представляет собой смесь сульфатов гентамицина C₁, C₂ и C_{1a}, применяют метод тонкослойной хроматографии на стеклянные пластинки с закрепленным слоем силикагеля КСК N 2,5. Определение проводят параллельно с использованием стандартного образца гентамицина сульфата.

Три основных пятна на хроматограмме, полученные с испытуемым препаратом, должны соответствовать трем пятнам на хроматограмме, полученным со стандартным образцом.

Амикацина сульфат

Амикацина сульфат, как гликозид, подвергается гидролитическому расщеплению с полной потерей активности. После кислотного гидролиза амикацин дает реакции на сахара (с реактивами Фелинга, Несслера, аммиачным раствором серебра нитрата и др.). Так же, как и канамицина суль-

фат, амикацин при нагревании с концентрированными минеральными кислотами образует из сахаров 5-аминометилфурфурол, который открывают по цветной реакции с антроном:



В отличие от канамицина амикацин за счет амидной группы образует окрашенные комплексы с солями тяжелых металлов. Для идентификации амикацина применяется реакция с кобальта нитратом после нейтрализации раствором натрия гидроксида (фиолетовое окрашивание).

Испытания на чистоту

Так как аминогликозиды могут окисляться с образованием окрашенных и нерастворимых продуктов, в НД рекомендуется определение прозрачности и цветности. Раствор стрептомицина сульфата должен быть прозрачным и бесцветным в течение 24 часов. Растворы канамицина моносульфата и гентамицина сульфата должны быть прозрачными, допускается окраска, которая не должна быть интенсивнее определенного эталона цветности.

В НД приводятся значения рН водных растворов аминогликозидов (таблица 14).

Таблица 14. Значения рН растворов аминогликозидов.

Название препарата	рН, концентрация водного раствора
Стрептомицина сульфат	4,5 – 7,5 (28%)
Канамицина моносульфат	7,5 – 8,5 (1%)
Гентамицина сульфат	3,5 – 5,5 (4%)
Амикацина сульфат	2,0 – 4,0 (1%)

Аминогликозиды гигрокопичны; поэтому в НД нормируется потеря в массе при высушивании в вакуум-сушильном шкафу (для стрептомицина сульфата она не должна превышать 5,0%; для канамицина моносульфата – 4,0%; для гентамицина сульфата – 18,0%; для амикацина – не более 13,0%).

Аминогликозиды получают методом биосинтеза, поэтому в них определяют токсичность, а у стрептомицина, кроме того - содержание веществ гистаминоподобного действия. Для лекарственных форм, предназначенных для парентерального применения, определяют стерильность и пирогенность.

В канамицина моносульфате регламентируется содержание более токсичного канамицина В – не более 5,0%. Определение проводится микробиологическим методом после кислотного гидролиза. В процессе кислотного гидролиза канамицин А (лекарственное вещество) разрушается полностью, а канамицин В – на 4/5 от исходной активности. После нейтрализации раствора щелочью до рН 8,0 – 8,8 и добавления ацетатного буфера определяют активность в нейтрализованном гидролизате.

В гентамицина сульфате определяют, кроме того, специфические примеси и сульфаты. Определение специфических примесей проводится методом УФ-спектрофотометрии после нагревания препарата с 40% раствором серной кислоты. Оптическая плотность полученного раствора в УФ области спектра при длине волны 280 нм должна быть не более 0,15.

Количество сульфатов определяется гравиметрическим методом после реакции с бария хлоридом; гравиметрическая форма – бария сульфат. Содержание сульфатов в препарате должно быть от 31,0 до 34,0%.

Методы количественного определения

Количественное определение аминогликозидных антибиотиков проводится микробиологическим методом диффузии в агар с определенным тест-микробом по соответствующему стандарту.

Для стрептомицина сульфата описаны также спектрофотометрические методы в видимой области спектра, основанные на цветных реакциях (мальтозной, с нингидрином и др.). Канамицин можно определять по цветной реакции с орцином.

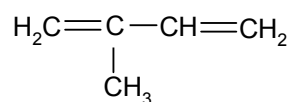
Для этих же препаратов разработаны методы газожидкостной и жидкостной хроматографии, полярографический метод и др.

Тема 8. АНАЛИЗ ПРОИЗВОДНЫХ ТЕРПЕНОВ И ЦИКЛОПЕНТАНПЕРГИДРОФЕНАНТРЕНА

I. АНАЛИЗ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ ИЗ ГРУППЫ ТЕРПЕНОВ

Терпенами называют углеводороды, скелет которых построен из звеньев изопрена. Кислородсодержащие производные терпенов – спирты, альдегиды, кетоны называют терпеноидами. Терпенами богаты эфирные масла многих растений – мяты, розы, лимона, лаванды и многих других, смола хвойных деревьев.

Молекулы терпенов могут содержать различное количество связанных между собой остатков изопрена (C_5H_8):



2-метил-бутадиен-1,3

Общая суммарная формула терпенов (C_5H_8)_n. Изопреновые звенья в молекулах терпенов связаны между собой по типу «голова» к «хвосту». Молекулы терпенов могут быть ациклическими, моноциклическими, бициклическими и т.д.

В зависимости от количества изопреновых остатков в молекуле терпены классифицируют на следующие группы: терпены – $C_{10}H_{16}$, сесквитерпены – $C_{15}H_{24}$ (полутора кратные), дитерпены – $C_{20}H_{32}$, тритерпены – $C_{30}H_{48}$, политерпены – $(C_5H_8)_n$.

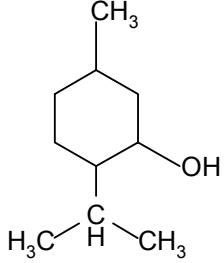
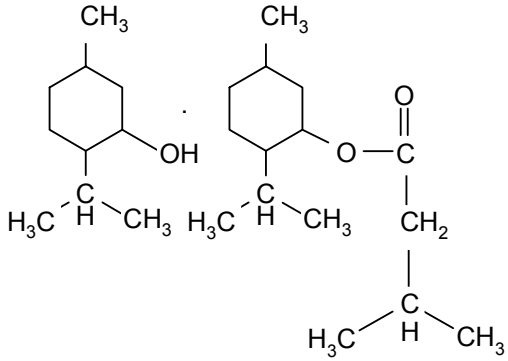
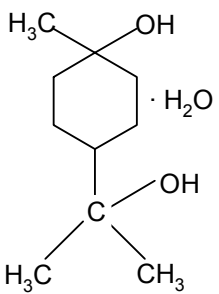
Терпены нашли широкое применение в различных отраслях промышленности (парфюмерной, химической) и в медицине.

Терпены входят в состав эфирных масел многих лекарственных растений и различных пород деревьев. Эфирные масла издавна применялись в народной медицине.

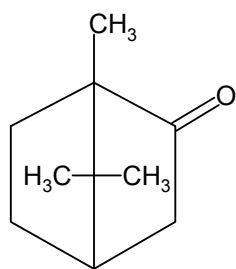
Лекарственные препараты из группы терпенов, применяемые в медицинской практике в настоящее время, классифицируют по количеству циклов на моноциклические, бициклические. Третья группа препаратов представлена моноциклическим дитерпеном – ретинола ацетатом (витамин А).

К моноциклическим терпенам относятся ментол, валидол и терпингидрат; к бициклическим – камфора, бромкамфора, сульфокамфорная кислота и ее новокаиновая соль (сульфокамфокаин); к дитерпенам – витамины группы А (табл. 1).

Таблица 1. Общие свойства лекарственных веществ группы терпенов

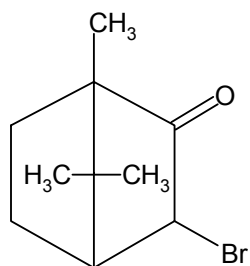
Химическая структура	Описание
Производные моноциклических терпенов	
	<p>Mentholum. Ментол. 1,2-изопропил-5-метилциклогексан-ол-1. Бесцветные кристаллы с сильным запахом перечной мяты и охлаждающим вкусом. Очень мало растворим в воде. Очень легко растворим в спирте, эфире, жирных маслах. Летуч при комнатной температуре. Лекарственные формы: спиртовые и масляные растворы. Применяют наружно как болеутоляющее, антисептическое средство.</p>
	<p>Validolum. Валидол. Раствор ментола в ментиловом эфире изовалериановой кислоты. Прозрачная маслянистая бесцветная жидкость с запахом ментола. Практически нерастворим в воде, очень легко растворим в спирте. Лекарственные формы: таблетки, капсулы для подъязычного применения при стенокардии как спазмолитическое средство.</p>
	<p>Terpinum hydratum. Терпингидрат. п-Ментандиол-1,8. Бесцветные прозрачные кристаллы или белый кристаллический порошок без запаха слабо горького вкуса. Мало растворим в воде, растворим в спирте. Лекарственная форма: таблетки. Отхаркивающее средство.</p>

Производные бициклических терпенов



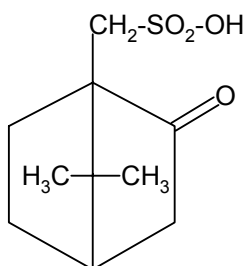
Camphora. Камфора.

Белые кристаллические куски, или бесцветный кристаллический порошок, или прессованные плитки с кристаллическим строением, слипающиеся в комки. Мало растворима в воде, легко растворима в спирте, эфире, жирных маслах. Лекарственная форма: раствор камфоры в масле для инъекций. Стимулятор ЦНС, кардиотоническое средство.



Bromcamphora. Бромкамфора.

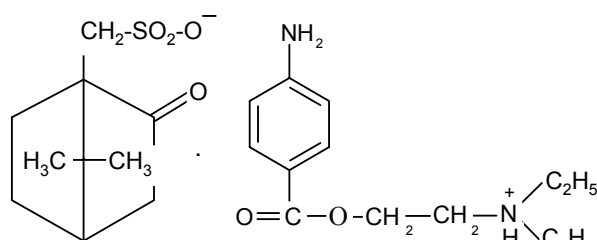
Бесцветные кристаллы или белый кристаллический порошок камфорного запаха и вкуса. Очень мало растворим в воде, легко растворим в спирте, эфире и жирных маслах. Лекарственная форма: таблетки. Успокаивающее средство.



Acidum sulfocamphoratum.

Кислота сульфокамфорная.

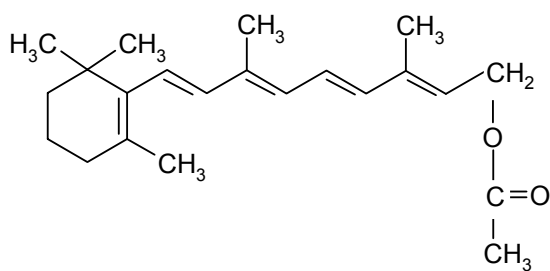
Белый или белый со слегка желтоватым оттенком кристаллический порошок. Очень легко растворима в воде и спирте, мало растворима в эфире. Применяют для приготовления сульфокамфокаина.



Sulfocamphocainum 10% pro injectionibus. Сульфокамфокаин 10% для инъекций.

Бесцветная или слегка желтоватая жидкость. Стимулятор ЦНС, кардиотоническое средство.

Производные дитерпенов



Retinoli acetat. Ретинола ацетат.

Транс-9,13-диметил-7-(1,1,5-триметилциклогексен-5-ил-6)-нонатетраен-7,9,11,13-ола-15 ацетат. Белые или бледно-желтые кристаллы со слабым запахом. Практически нерастворим в воде, растворим в органических растворителях и жирных маслах.

Лекарственные формы: масляные растворы, драже.

Витамин А.

ФИЗИЧЕСКИЕ И ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА

Как правило, все терпены это легко летучие соединения с характерным запахом (воздействуют на дыхательный центр). Таким свойством обладают ментол, валидол, камфора, в меньшей степени – ретинол. Терпингидрат запаха не имеет. Ментол летуч, имеет температуру плавления 41-44°, у камфоры темп. пл. 174 -180°, но она легко возгоняется при комнатной температуре. Поэтому ментол и камфору хранят в отдельном шкафу в плотно закрытых банках.

Ретинола ацетат имеет темп. пл. 51°-57°, очень легко окисляется на воздухе, поэтому его хранят в запаянных а токе азота ампулах, в холодильнике.

Ментол и камфора образуют друг с другом и с различными фенолами эвтектические смеси, что используется в стоматологии.

Все лекарственные средства этой группы сходны между собой по растворимости: они не растворимы в воде, но растворимы в органических растворителях и жирных маслах. Это обуславливает выбор соответствующих лекарственных форм: ментол применяют в виде спиртовых и масляных растворов, мазей и аэрозолей; камфору и ретинола ацетат – в виде масляных растворов. Водорастворимое производное камфоры – сульфокамфокаин применяют в виде 10% водного раствора для инъекций, что исключает осложнения в виде олеом, возможные при инъекциях масляных растворов камфоры.

Все терпены имеют в своей структуре центры хиральности, являются оптически активными соединениями. Это свойство используется как ха-

рактика подлинности и доброкачественности препаратов (удельное вращение). Фармакологической активностью обладают не все изомеры препаратов. У ментола активен только l-ментол, у терпингидрата в медицинской практике применяется только цис-изомер в виде гидратной формы, транс-изомер гидратной формы не образует и фармакологической активностью не обладает. У камфоры применяется и право- и левовращающий изомеры, а для наружных целей допускается применение рацемата.

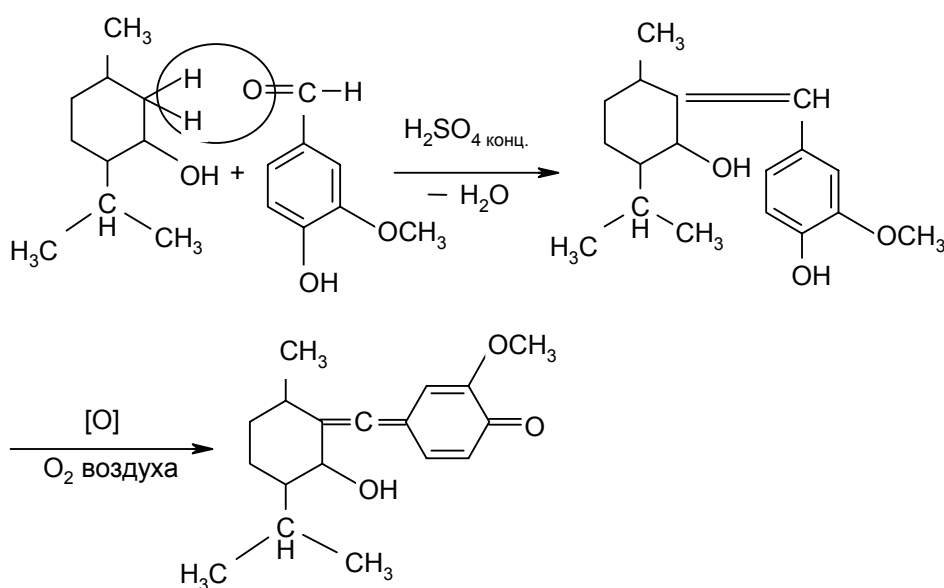
Характерным свойством терпенов является их легкая изомеризация под действием света, температуры, pH среды, катализаторов, что обуславливает их многообразные взаимопревращения. Это свойство используется при получении лекарственных средств данной группы, но может иметь место и в процессе хранения.

Некоторые терпены поглощают в УФ-области спектра: камфора и ее производные благодаря наличию кетогруппы в структуре молекулы, ретинол – благодаря наличию сопряженных двойных связей.

ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА И АНАЛИЗ КАЧЕСТВА

Общая реакция для моно- и бициклических терпенов

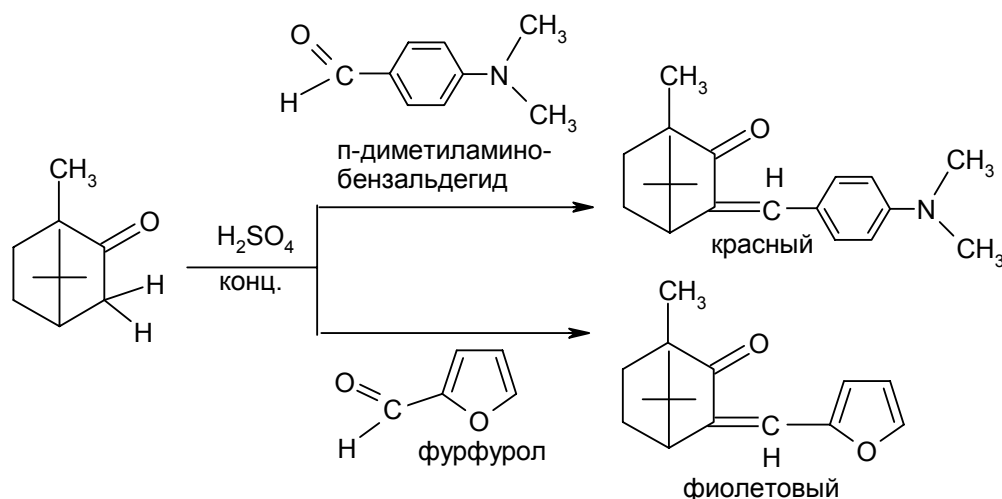
Это реакция конденсации с ароматическими альдегидами, например с ванилином, в присутствии кислоты серной концентрированной. Она характерна для ментола, валидола и камфоры, имеющих свободное α -положение в цикле по отношению к спиртовому гидроксилу или кето-группе:



Продукт реакции окрашен в малиновый цвет за счет наличия в структуре системы сопряженных двойных связей.

При конденсации камфоры с ванилином в присутствии кислоты серной концентрированной образуется продукт реакции аналогичного строения.

При конденсации камфоры с другими альдегидами, например, с парадиметиламинобензальдегидом образуется продукт конденсации, окрашенный в красный цвет, с фурфуролом – в фиолетовый цвет:



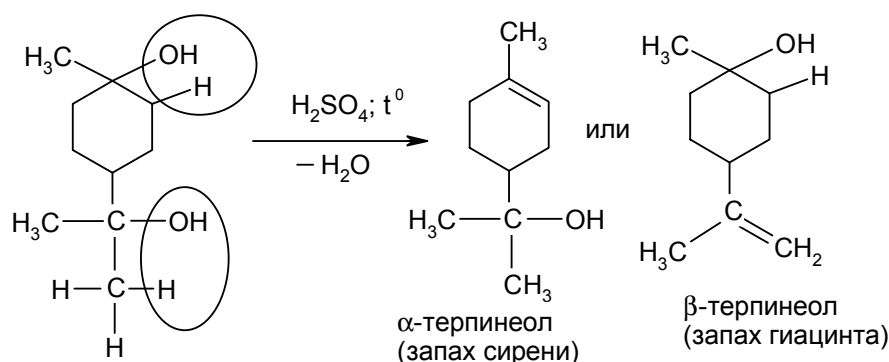
Реакции, характерные для моноциклических терпенов

1) Образование сложных эфиров.

Общим свойством спиртов является их способность образовывать сложные эфиры с кислотами. Это свойство используется при получении валидола, который является 25% раствором ментола в ментиловом эфире изовалериановой кислоты.

Реакция этерификации ментола уксусным ангидридом используется в количественном анализе ментола методом ацетилирования.

2) Реакция дегидратации в присутствии кислоты серной концентрированной включена в ГФ как реакция подлинности на терпингидрат:



Реакции окисления

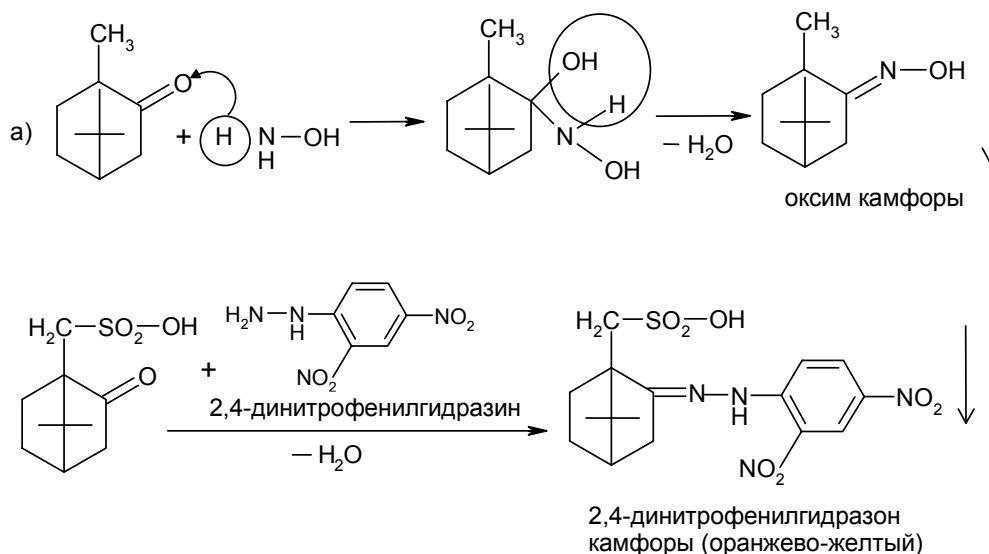
Ментол как вторичный спирт может окисляться до кетона – ментона, который как и ментол является компонентом мятного масла.

Терпингидрат при взаимодействии со спиртовым раствором хлорида окисного железа в процессе выпаривания образует карминно-красное, фиолетовое и зеленое окрашивание в различных местах чашки, переходящее в синий цвет при добавлении бензола. Вероятно, происходит окисление терпингидрата с извлечением продуктов окисления бензолом.

Реакции, характерные для бициклических терпенов

1) Реакции присоединения-отщепления на кетогруппу

При взаимодействии кетогруппы с гидросиламином образуются оксимы, а с производными гидразина – гидразоны. Образующиеся продукты это кристаллические вещества, которые характеризуются четкими температурами плавления, что можно использовать для характеристики подлинности или в количественном анализе лекарственных средств:



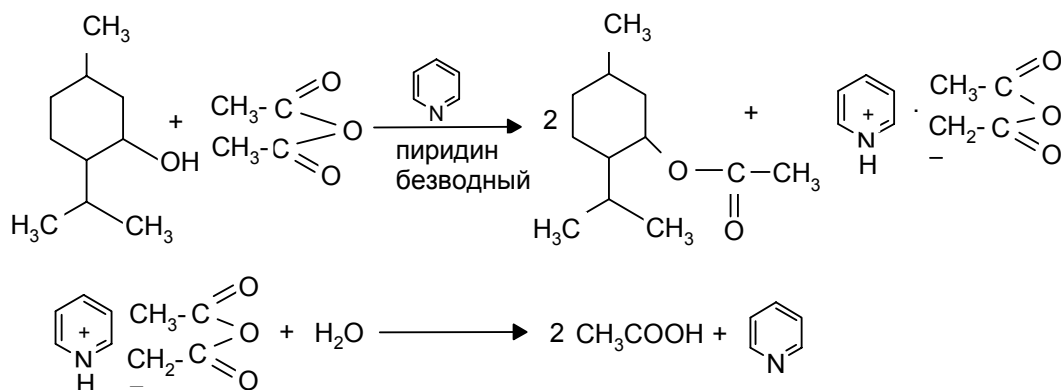
АНАЛИЗ КАЧЕСТВА ИНДИВИДУАЛЬНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ

Ментол

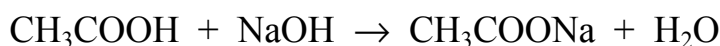
Для определения подлинности ментола ГФХ рекомендует реакцию с ванилином в среде концентрированной серной кислоты: появляется желтое окрашивание, переходящее в малиново-красное при добавлении 1 мл воды.

Для характеристики подлинности и чистоты препарата в ГФ включены также и физико-химические константы: его $t_{пл}^{\circ}$ (41-44°) и удельное вращение. Лекарственное вещество – это левовращающий изомер ментола - 1-ментол, получаемый из мятного масла.

Количественное определение ментола по ГФ проводят методом ацетилирования, нагревая препарат на песчаной бане в течение 2-х часов с раствором ангидрида уксусного в безводном пиридине (применяя обратный холодильник):



На второй стадии избыток уксусного ангидрида добавлением воды переводят в уксусную кислоту и титруют ее 0,5 М раствором гидроксида натрия (индикатор фенолфталеин):



Параллельно проводят контрольный опыт при комнатной температуре.

Валидол

Это прозрачная маслянистая жидкость с запахом ментола, представляющая собой раствор ментола в ментиловом эфире изовалериановой кислоты.

Подлинность препарата определяют по реакции на ментол.

Количественное определение валидола по ГФ проводят по содержанию ментилового эфира изовалериановой кислоты. Препарат подвергают омылению 1 М спиртовым раствором гидроксида калия (кипятят 5 часов с обратным холодильником). Избыток гидроксида калия оттитровывают 0,5М раствором кислоты хлороводородной (индикатор фенолфталеин).

Терпингидрат

Для определения подлинности терпингидрата ГФ предлагает 2 реакции:

- 1) реакция дегидратации с концентрированной серной кислотой – раствор мутнеет и приобретает аромат терпинеола;
- 2) после выпаривания препарата со спиртовым раствором хлорида окисного железа образуются окрашенные продукты, которые при извлечении в бензол дают синее окрашивание.

Количественное определение терпингидрата в ГФ не приводится, но его можно определить фотоэлектроколориметрическим методом по реакции с фосфорно-молибденовой кислотой, которая за счет восстановительных свойств препарата переходит в молибденовую синь. Реакция не специфична, ее можно использовать для многих соединений, способных к окислению.

В таблетках терпингидрат определяют гравиметрическим методом.

Камфора

Для подтверждения подлинности камфоры в ГФ включена реакция с ванилином в среде конц. серной кислоты. Кроме того, физические свойства камфоры и физико-химические константы (темп. плавления, удельное вращение) также являются важными характеристиками подлинности и доброкачественности препарата.

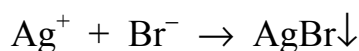
Количественное определение камфоры в ГФ не приводится. Для этой цели можно предложить методы, основанные на взаимодействии камфоры по кетогруппе с гидроксиламином или с производными гидразина. Нерастворимый продукт реакции (оксим) можно определить гравиметрическим методом или оттитровать выделившееся эквивалентное количество кислоты хлороводородной стандартным раствором натрия гидроксида.

Бромкамфора

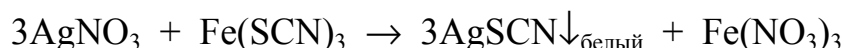
Испытание подлинности для бромкамфоры основано на доказательстве ковалентно связанного галогена в молекуле. Лекарственное вещество подвергают минерализации путем нагревания с цинковой пылью в щелочной среде. Далее в фильтрате обнаруживают бромид-ионы по реакции с хлорамином в присутствии хлороформа.

Количественное определение проводят на основе той же реакции, используя аргентометрическое титрование для определения образовавшегося эквивалентного количества бромид-иона (индикатор – квасцы желе-

зоаммониевые в смеси с аммония тиоцианатом; при этом образуется окрашенный в красный цвет железа (III) тиоцианат). На первой стадии титрования серебра нитрат взаимодействует с бромид-ионом:



Затем титрант реагирует с железа (III) тиоцианатом, обесцвечивая последний:



Поэтому из общего объема раствора серебра нитрата, пошедшего на титрование, вычитают объем добавленного ранее раствора аммония тиоцианата.

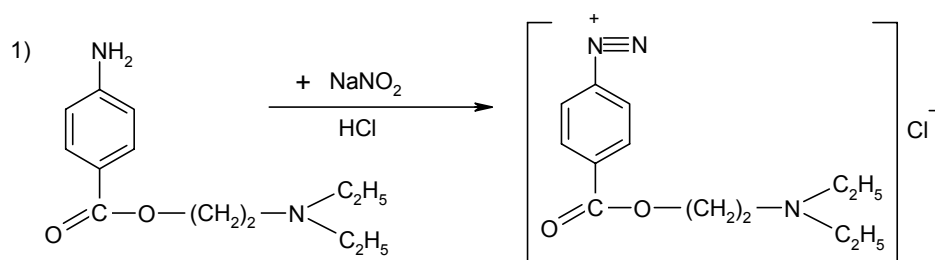
Сульфокамфокаин 10% для инъекций

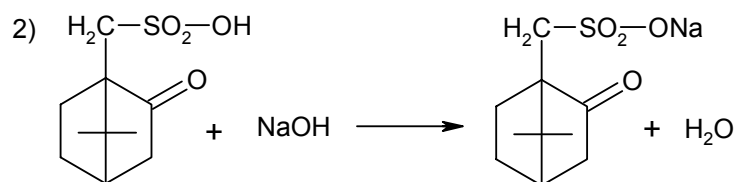
Это водорастворимое производное камфоры, представляющее собой соль органической кислоты (сульфокамфорной) и органического основания (новокаина). При определении подлинности препарата доказывают наличие в структуре кетогруппы по реакции образования 2,4,-динитрофенилгидразона.

Наличие сульфогруппы в органической части молекулы – по реакции с бария хлоридом после минерализации препарата путем сплавления с натрия карбонатом и натрия нитратом.

Новокаин открывают после экстрагирования его в хлороформ. Далее хлороформ отгоняют и новокаин обнаруживают по реакции образования азокрасителя (ароматическая аминогруппа).

Количественное определение включает определение содержания новокаина в препарате методом нитритометрии (индикатор тропеолин 00 плюс метиленовый синий) и определение кислоты сульфокамфорной алкалометрическим методом в присутствии смеси из спирта и хлороформа, предварительно нейтрализованной по фенолфталеину (для экстрагирования новокаина):





В процессе титрования выделяется основание новокаина, которое экстрагируется в спирто-хлороформный слой.

Ретинола ацетат

Содержит в своей структуре систему сопряженных двойных связей. Крайне неустойчив к действию света и кислорода воздуха. Препарат хранят в запаянных в токе азота ампулах.

Для идентификации препарата используют реакцию с хлоридом сурьмы в хлороформе. Образуется продукт присоединения синего цвета.

Препарат в процессе хранения легко окисляется и изомеризуется. Поэтому ГФ регламентирует содержание поглощающих примесей (спектрофотометрия в УФ области при λ_{\max} 300, 311,5, 326, 337 и 360 нм).

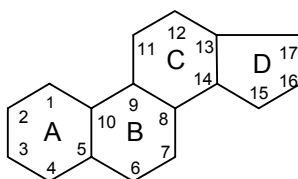
Количественное определение: ГФ предлагает спектрофотометрическое определение в УФ области спектра при λ_{\max} 326 нм.

Возможно фотоэлектроколориметрическое определение на основе реакции с хлоридом сурьмы (для лекарственных форм).

II. АНАЛИЗ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ ПРОИЗВОДНЫХ ЦИКЛОПЕНТАНПЕРГИДРОФЕНАНТРЕНА

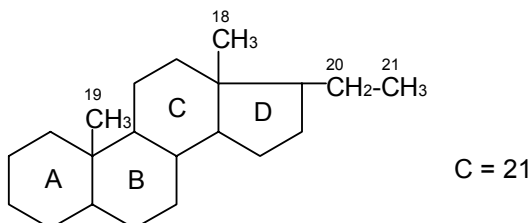
К производным циклопентанпергидрофенантрена относятся карденолиды, стероидные гормоны (кортикостероиды, анаболики, гестагены, андрогены, эстрагены), витамины группы Д и некоторые другие соединения, которые легко подвергаются изменениям и имеют сложную химическую структуру.

В основе химической структуры производных этой группы лежит циклопентанпергидрофенантрен, состоящий из четырех циклов (А, В, С, Д):



Классификация:

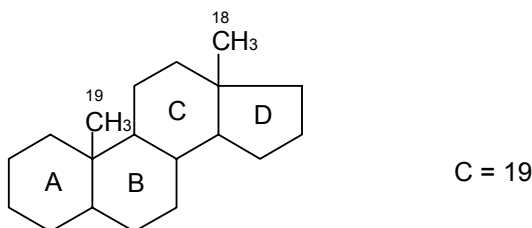
1. Производные прегнана:



➤ гестагенные гормоны (гормоны желтого тела) и их синтетические аналоги: прогестерон, прегнин, норэтистерон (норколут), медроксипрогестерона ацетат (депо-провера);

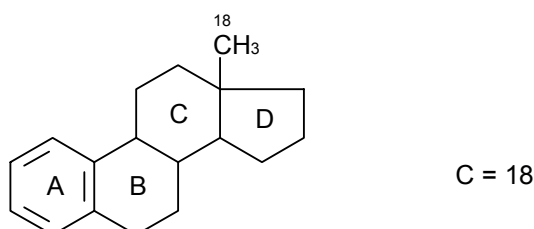
➤ кортикостероиды: дезоксикортон ацетат (дезоксикортикостерона ацетат), кортизона ацетат, гидрокортизон, преднизолон, фторзамещенные вещества (дексаметазон и др.).

2. Производные андростана:



➤ Андрогенные гормоны и полусинтетические производные, обладающие анаболическим действием (анаболические стероиды): тестостерона пропионат, метилтестостерон, метандиенон (метандростенолон), метандриол (метиландростендиол), нандролона фенилпропионат (феноболин), нандролона деканоат (ретаболил), ципротерона ацетат (андрокур), пипекурония бромид.

3. Производные эстрана:



➤ эстрогенные гормоны: этинилэстрадиол, эфиры эстрадиола.

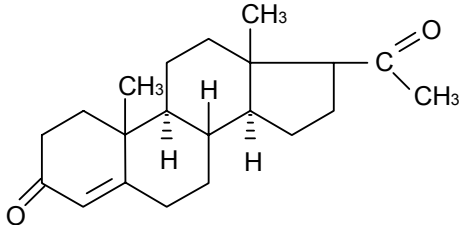
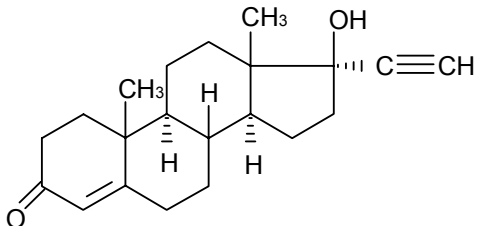
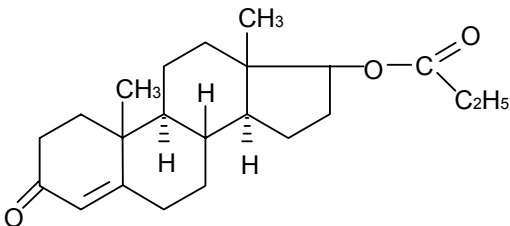
4. Сердечные гликозиды:

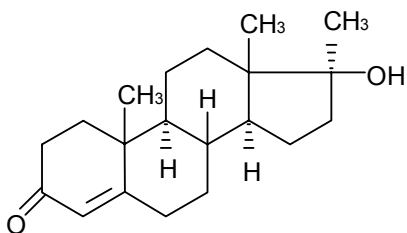
➤ Карденолиды (сердечные гликозиды): вещества рядов дигитоксигенина (дигитоксин, ацетилдигитоксин, дигоксин) и строфантидина (строфантин К), гликозиды ландыша (коргликон).

5. Витамины группы Д:

➤ Циклогексанолэтиленгидриндановые соединения: кальциферолы (витамины группы Д): эргокальциферол (витамин Д₂), холекальциферол (витамин Д₃).

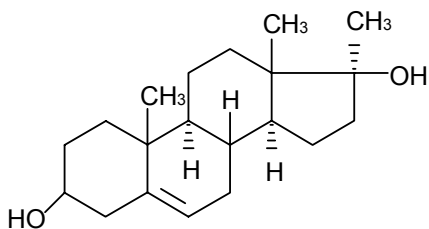
Таблица 2. Общие свойства лекарственных веществ группы циклопентанпергидрофенантрена

Производные гестагенных гормонов и их полусинтетических аналогов	
Химическая структура	Описание
	<p>Progesteronum. Прогестерон. Прегнен-4-дион-3,20. Белый кристаллический порошок. Т. пл. 127-131 °С. Удельное вращение от + 190 до + 200° (0,5 % раствор в спирте).</p>
	<p>Praegninum. Прегнин. Прегнен-4-ин-20-ол-17β-он-3 или 17α-этинилтестостерон. Белый или белый с желтоватым оттенком кристаллический порошок без запаха. Т. пл. 270-276 °С. Удельное вращение от + 28 до + 32° (0,5 % раствор в смеси равных объемов спирта и хлороформа).</p>
Производные андрогенных гормонов и синтетических анаболических	
	<p>Testosteroni propionas. Тестостерона пропионат. Андростен-4-ол-17β-она-3-пропионат. Белый кристаллический порошок. Т. пл. 118-123 °С. Удельное вращение от + 87 до + 90° (1 % раствор в спирте).</p>



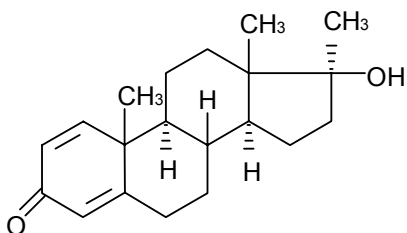
Methyltestosteronum. Метилтестостерон

17 α -метиландростен-4-ол-17 β -он-3.
Белый кристаллический порошок без запаха. Слегка гигроскопичен Т. пл. 162-168 °С. Удельное вращение от + 82 до + 85° (1 % раствор в спирте).



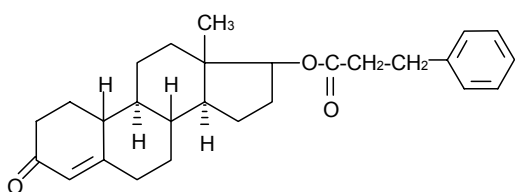
Methylandrostendiolum. Метиландростендиол. (Метандриол).

17 α -метиландростен-5-диол-3 β , 17 β .
Белый кристаллический порошок без запаха. Т. пл. 199-206 °С. Удельное вращение от - 70 до - 77° (1 % раствор в спирте).



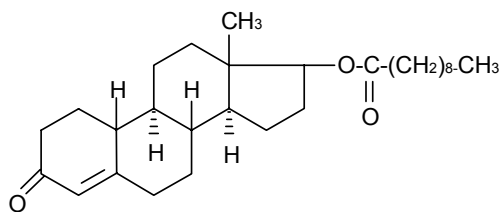
Methandrostenolonum. Метандростенолон. (Метандиенон).

17 α -метиландростендиен-1,4-ол-17 β -он-3.
Белый или белый с желтоватым оттенком кристаллический порошок. Т. пл. 162-170 °С. Удельное вращение от 0 до \pm 5° (1 % раствор в хлороформе).



Феноболин. Phenobolinum.

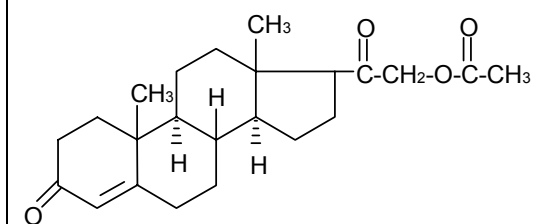
17 β -Окси-19-нор-4-андростен-3-он-17 β -фенилпропионат, или фенилпропионат 19-нортестостерона.
Белый или белый с кремовым оттенком кристаллический порошок. Трудно растворим в спирте, практически нерастворим в воде.



Ретаболил. Retabolil. (Нандролон деканоат).

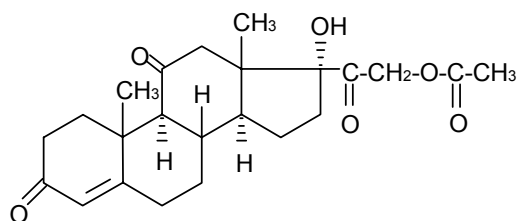
19-Нор-тестостерон-17 β -деканоат.

Кортикостероиды и их синтетические аналоги



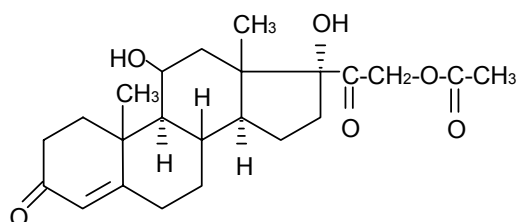
Desoxycorticosteroni acetat. Дезоксикортикостерона ацетат.

Прегнен-4-ол-21-диона-3,20-ацетат.
Белый или белый со слабым кремовым оттенком кристаллический порошок. Т. пл. 155-160 °С. Удельное вращение от +176 до +184° (1 % раствор в хлороформе).



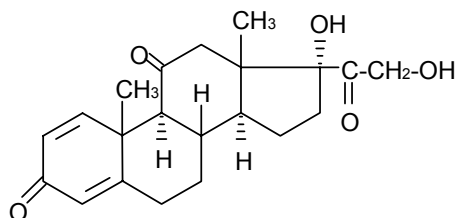
Cortisoni acetat. Кортизона ацетат.

Прегнен-4-диол-17 α ,21-триона-3,11,20-ацетат.
Белый или белый со слабым желтоватым оттенком кристаллический порошок. Т. пл. 238-243 °С (с разложением). Удельное вращение от +178 до +194° (0,5 % раствор в ацетоне).



Hydrocortisoni acetat. Гидрокортизона ацетат.

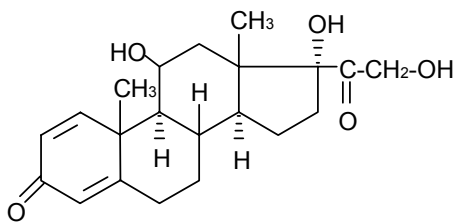
Прегнен-4-триол-11 β ,17 α ,21-триона-3,20,21-ацетат.
Белый или белый со слегка желтоватым оттенком кристаллический порошок без запаха. Т. пл. 217-221 °С. Удельное вращение от +157 до +167° (1 % раствор в диоксане).



Prednisonum. Преднизон.

ГФ X, стр. 558.

Прегнадиен-1,4-диол-17 α ,21-трион-3,11,20.
Белый или почти белый кристаллический порошок без запаха. Т. пл. 223-228 °С (с разложением). Удельное вращение от +168 до +176° (0,5 % раствор в диоксане).



Prednisolonum. Преднизолон.

Прегнадиен-1,4-триол-11 β ,17 α ,21-дион-3,20.

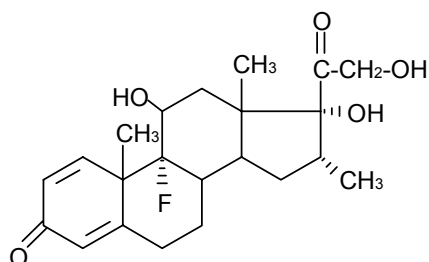
Белый или белый со слабым желтоватым оттенком кристаллический порошок без запаха. Т. пл. 227-230 °С. Удельное вращение от + 96 до + 104° (1 % раствор в диоксане).

Фторпроизводные преднизолона

Фторпроизводные преднизолона отличаются более активным противовоспалительным, антиаллергическим действием. Они высокоэффективны при местном применении.

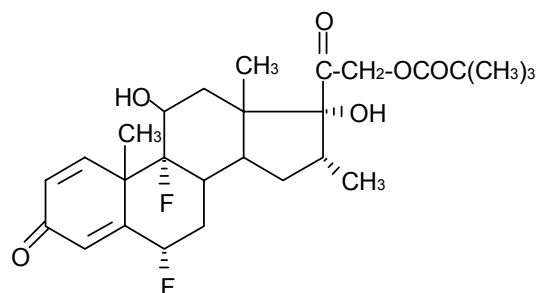
Дексаметазон в 7 раз активнее преднизона и в 35 раз активнее кортизона. Дексаметазон назначают внутрь до 0.002-0.003 г, а триамцинолон до 0.01 – 0.02 г в сутки.

Флуметазона пивалат и флюоцинолона ацетонид применяют в виде 0.02-0.025%-ных мазей, кремов, эмульсий.



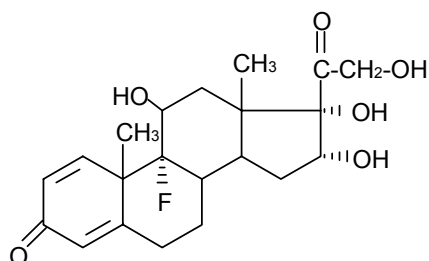
Дексаметазон

16 α -метил-9 α -фторпреднизолон



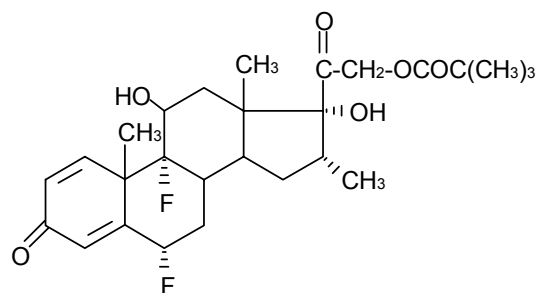
Флуметазона пивалат

6 α ,9 α -дифтор-16 α -метилпреднизолон-21-триметилацетат



Триамцинолон

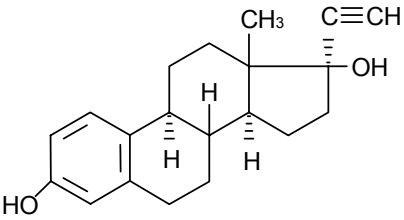
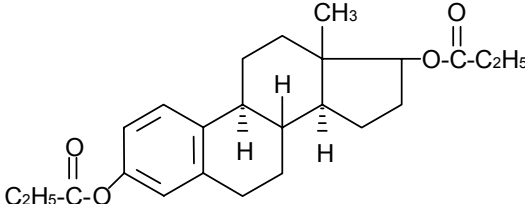
9 α -фтор-16 α -оксипреднизолон



Флюоцинолона ацетонид

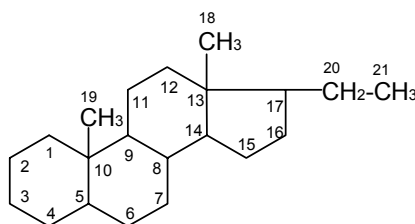
6 α ,9 α -дифтор-16 α -оксипреднизолон-16,17-ацетонид

Производные эстрадиола

	<p>Aethinyloestradiolum. Этинилэстрадиол. 17α-этинилэстратриен-1,3,5(10)-диол-3,17β. Белый или кремовато-белый мелкокристаллический порошок без запаха. Т. пл. 181-186 °С. Удельное вращение от 0 до +3° (1 % раствор в диоксане).</p>
	<p>Oestradioli dipropionas. Эстрадиола дипропионат. Эстратриен-1,3,5(10)-диола-3,17β дипропионат. Белый кристаллический порошок без запаха. Т. пл. 104-108 °С. Удельное вращение от +37 до +41° (1 % раствор в диоксане).</p>

1. ГЕСТАГЕННЫЕ (ЛУТОИДНЫЕ) ГОРМОНЫ И ИХ ПОЛУСИНТЕТИЧЕСКИЕ АНАЛОГИ

В основе химического строения лежит углеводород прегнан (C = 21):



В ГФ включены препараты естественного гормона прогестерона и его полусинтетического аналога прегнина. Прогестерон может быть получен из гормонов желтого тела свиней и полусинтетическим способом из саласодина как промежуточный продукт синтеза кортизона.

Физические свойства

Белые с желтоватым оттенком мелкокристаллические порошки, практически нерастворимые в воде, растворимы в маслах и хлороформе.

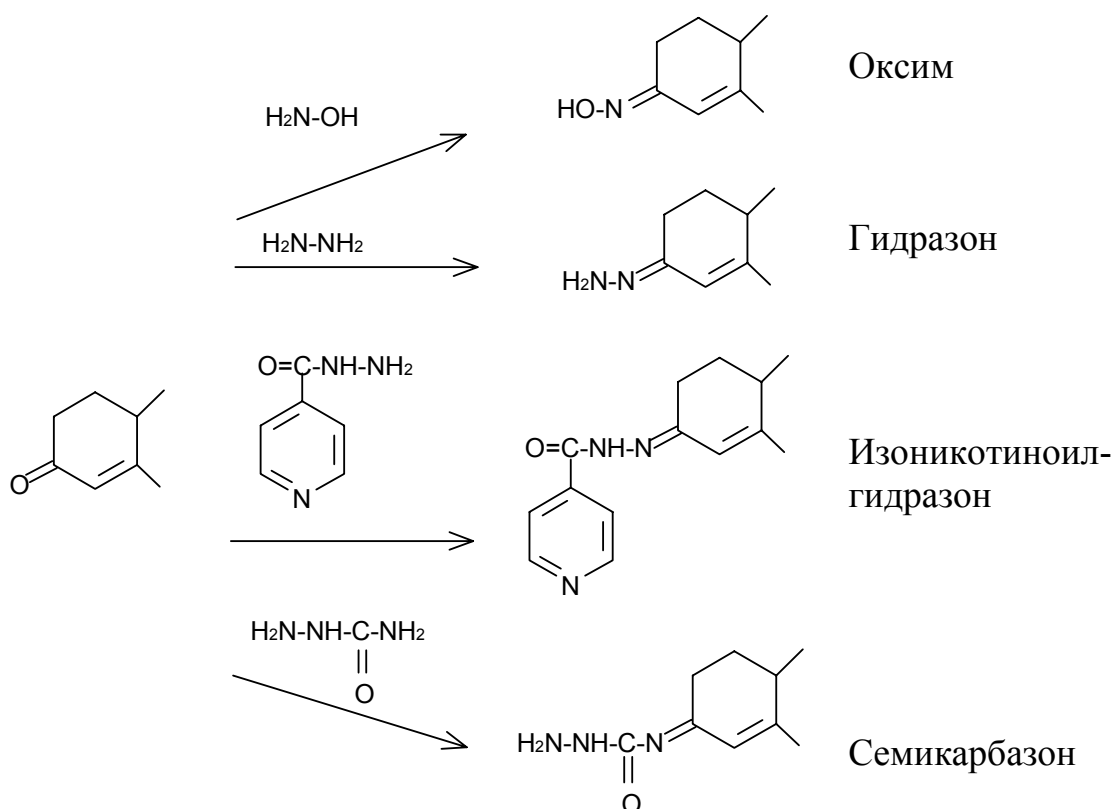
Оба вещества имеют общий хромофор: карбонильная группа в 3-м положении и двойная связь в положении 4-5. За счет этого хромофора они поглощают в УФ-области спектра и имеют $\lambda_{\max} = 240 \text{ нм} \pm 2 \text{ нм}$.

Метод УФ-спектрофотометрии применяется для оценки качества лекарственных веществ по величине удельного показателя поглощения ($E^{1\%}_{1\text{см}}$), в частности для количественного определения веществ относительно стандартных образцов.

Прогестерон и прегнин обладают оптической активностью, так как содержат центры хиральности. В оценке качества предусмотрено определение удельного вращения.

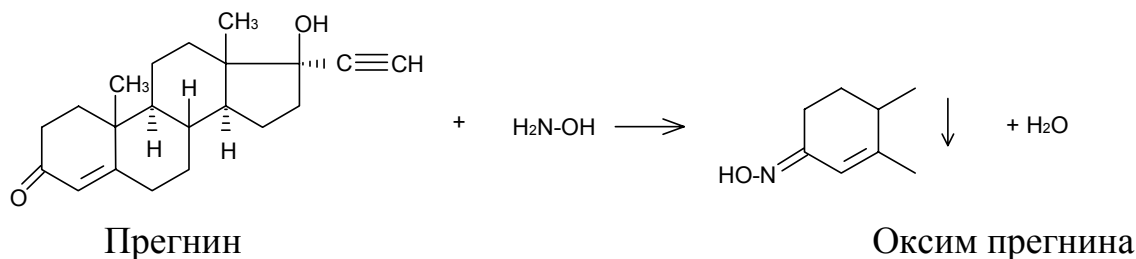
Химические свойства и методы анализа

1. Концентрированная кислота серная является общим внутригрупповым специфическим реактивом, подтверждающим наличие стероидного цикла. При взаимодействии с ней образуются окрашенные в желтый (прогестерон) или малиновый (прегнин) цвет флуоресцирующие растворы. Специфичность данной реакции низкая. Для более надежной идентификации веществ применяют ИК-спектроскопию.
2. Гестагенные гормоны содержат в 3-м положении карбонильную группу, поэтому способны к взаимодействию с аминами, образуя окрашенные продукты или продукты с характерными температурами плавления (подлинность).



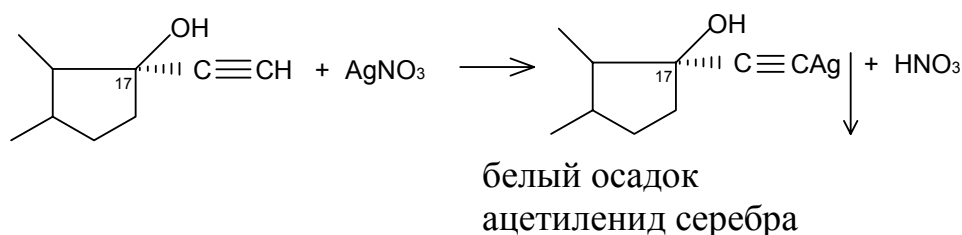
Эти продукты могут служить гравиметрической формой для количественного определения (прогестерон в масляном растворе).

Реакцию образования оксима ГФ рекомендует для испытания подлинности прегнина (Т.пл. – 226-232 °С):

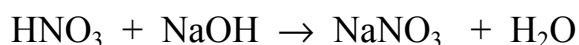


Прогестерон и прегнин отличаются по заместителям в 17-ом положении. Прогестерон содержит ацетильный фрагмент. При нагревании с иодом в щелочной среде образуется желтый осадок с характерным запахом – иодоформ (CHI_3).

Для прегнина отличительной особенностью строения является наличие этинильной группы (остаток ацетилена), который сохраняет кислотные свойства и взаимодействует с серебра нитратом:



Кислота азотная выделяется в количестве, эквивалентном прегнину, что может использоваться для количественного алкалометрического определения:

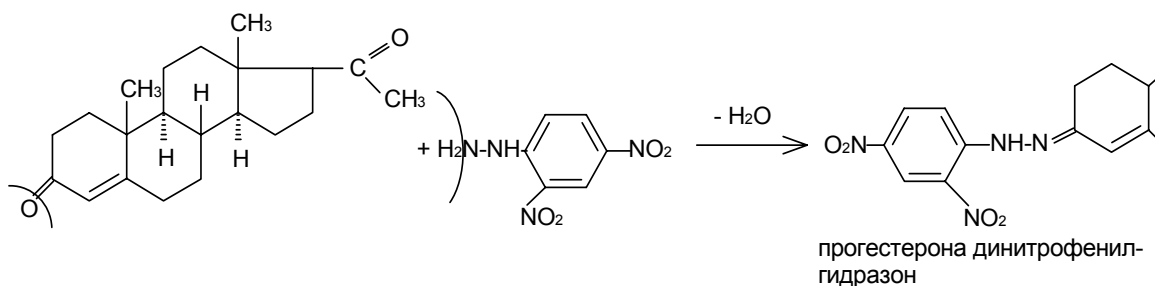


Методы количественного определения

1. Прегнин в порошке и таблетках определяют спектрофотометрически при длине волны 241 нм (по отношению к 0.001 % раствору стандартного образца прегнина):

$$X(\%) = \frac{D_1 \cdot C_0 \cdot 100}{D_0 \cdot C_1}$$

2. Реакцию образования 2,4-динитрофенилгидразона используют по ГФ для количественного определения прогестерона (весовой метод):



Хранение и применение

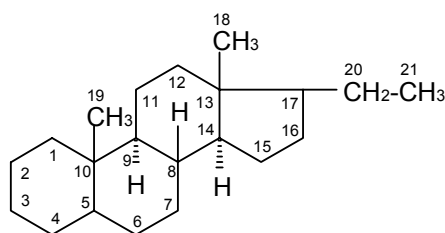
Лекарственные вещества светочувствительны, поэтому их хранят в темном месте в хорошо закупоренной таре, по списку Б.

Прогестерон и прегнин применяют в качестве гестагенных препаратов при нарушениях функции яичников, связанных с недостаточностью желтого тела.

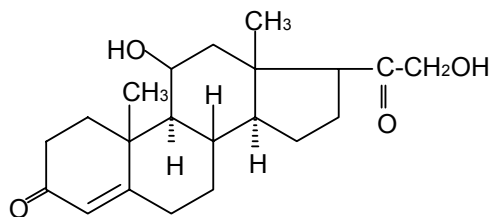
Прогестерон назначают в виде 1% или 2,5%-ных растворах в масле для инъекций. Прегнин в 5-6 раз менее активен, чем прогестерон, но, в отличие от него, сохраняет активность при пероральном введении, особенно при подъязычном применении.

2. Кортикостероиды и их полусинтетические аналоги

Гормоны коркового слоя надпочечных желез (кортикостероиды) являются производными кортикостерона, структура которого включает стероидный цикл – прегнан:



прегнан



кортикостерон
(прегнен-4-диол11,21-дион-3,20)

По действию на организм кортикостероиды условно делят на две группы: минералокортикостероиды и глюкокортикостероиды.

Минералокортикостероиды активно регулируют минеральный обмен и слабо влияют на углеводный и белковый обмен.

Глюкокортикостероиды активно регулируют углеводный и белковый обмен и слабо влияют на минеральный.

Лекарственные средства – производные глюкокортикостероидов – по своей активности превосходят природные соединения, могут применяться внутрь и имеют меньше побочных реакций.

Источниками получения кортикостероидов служат либо надпочечные железы убойного скота, либо природные вещества стероидной структуры, в частности, холестерин, который считают предшественником кортикостероидов в организме.

Физические и химические свойства препаратов кортикостероидов и их полусинтетических аналогов сходны между собой. Это обусловлено общностью химической структуры. Являясь производными прегнана, все они имеют карбонильную (кетонную) группу в положении 3, гидроксильную или кетонную группу в положении 11. В положении 17 все кортикостероиды содержат лабильную α -кетольную группировку, отличающуюся высокой восстановительной способностью. Спиртовая группа в положении 21 позволяет получать сложные эфиры кортикостероидов.

Физические свойства

Препараты гормонов коры надпочечников и их синтетических аналогов представляют собой белые кристаллические вещества, имеющие желтоватый или кремовый оттенок без запаха. Они практически нерастворимы в воде, трудно или мало растворимы в большинстве органических растворителей.

Препараты кортикостероидов и их аналоги являются правовращающими оптическими изомерами. Они поглощают в УФ-спектре за счет хромофора в кольце А ($\lambda_{\max} = 238-244$ нм).

Химические свойства и методы анализа

1) Стероидный цикл

Вещества идентифицируются общегрупповой цветной реакцией с концентрированной кислотой серной.

Реакция проводится с кристаллическими веществами, образуются окрашенные, а иногда и флуоресцирующие в УФ-свете, продукты. Например, дезоксикортикостерон дает вишневое окрашивание с зелено-коричневой флуоресценцией; кортизон – желтое окрашивание; гидрокортизон – желтое окрашивание с зеленой флуоресценцией; преднизон –зеленовато-желтое; преднизолон - красное окрашивание.

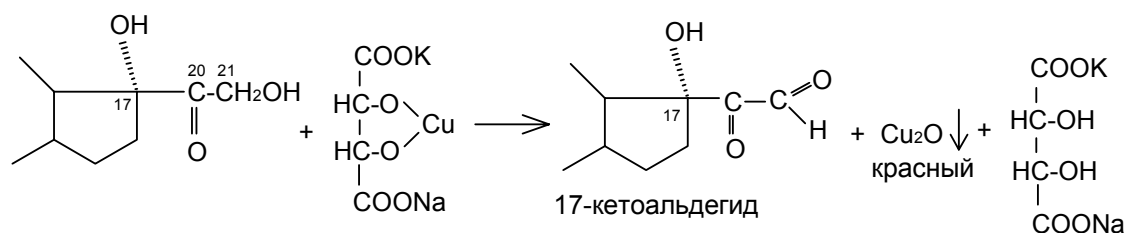
2) α -Кетольная группа

Все кортикостероиды, благодаря наличию α -кетольной (20-кето-21-гидрокси-)группы, обладают восстановительными свойствами.

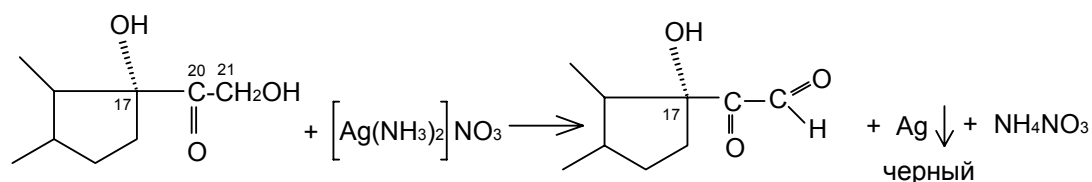
Кортикостероиды очень легко окисляются, причем под действием разной силы окислителей образуются различные продукты. Реакции могут использоваться в определении подлинности веществ и для их количественного определения в лекарственных формах (ФЭК).

Так, например, под действием слабых окислителей образуется 17-кетоальдегид. В качестве таких окислителей могут быть использованы:

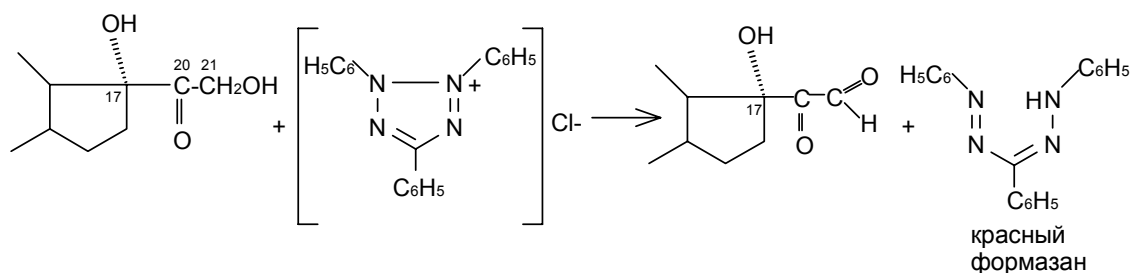
а) реактив Фелинга:



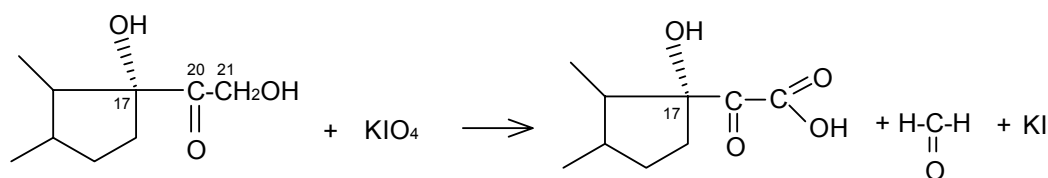
б) аммиачный раствор серебра нитрата:



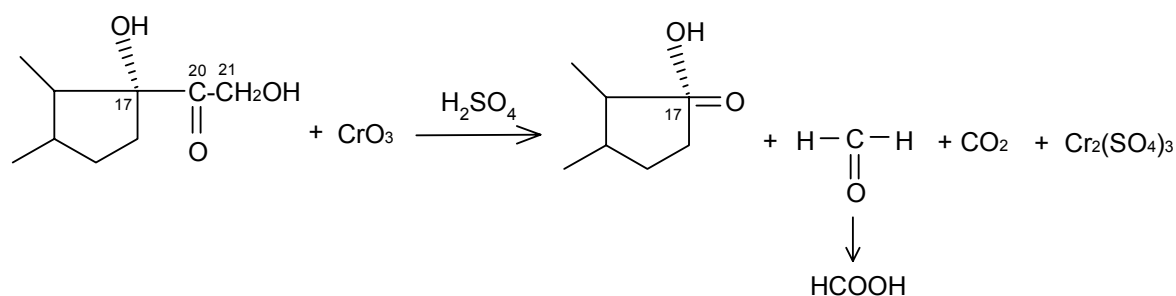
в) раствор хлорида 2,3,5-трифенилтетразолия (специфичная реакция Гёрёга). Соль тетразолия восстанавливается до красного формазана и происходит раскрытие цикла. Данную реакцию используют все зарубежные фармакопеи для количественного определения кортикостероидов (ФЭК при $\lambda_{\max} = 590$ нм):



Под действием перйодата калия, хлорной кислоты или фосфорномолибденовой кислоты образуется 17-карбоновая кислота, выделяется формальдегид, который можно связывать хромотроповой кислотой (получение ауринового красителя фиолетового цвета):



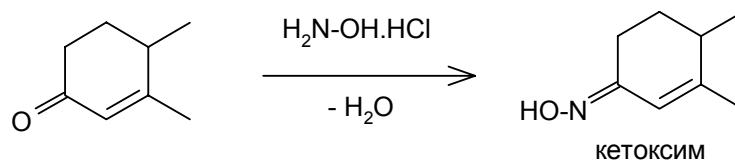
В жестких условиях, с сильными окислителями (хромовым ангидридом), происходит окисление кортикостероида до 17-кетостероида, декарбоксилирование и выделение формальдегида, который легко окисляется до муравьиной кислоты:



3) Карбонильная группа в 3-м положении

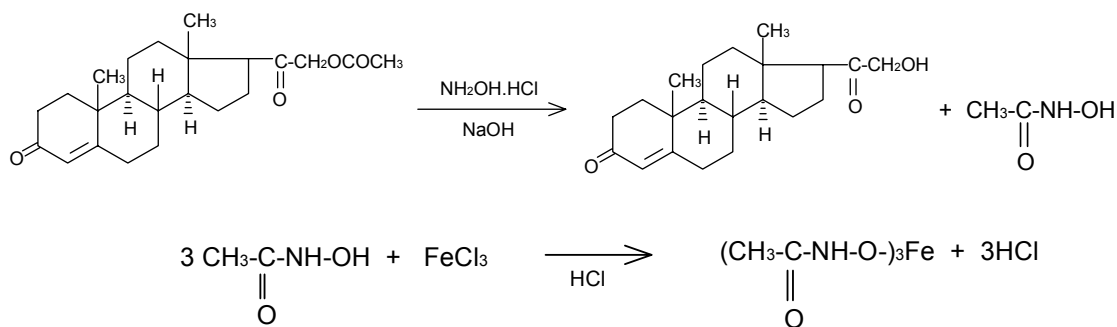
Реакции присоединения с элиминированием воды, которые приводят к образованию окрашенных продуктов или веществ, имеющих определенную температуру плавления.

Эти реакции применяются для подтверждения подлинности лекарственных веществ и их количественной оценки:



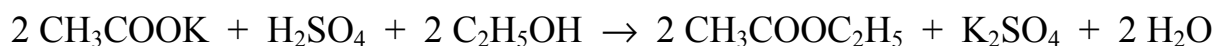
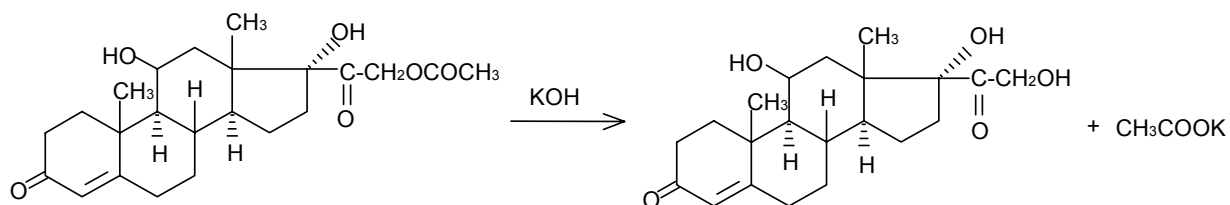
4) Сложно-эфирная группа

Для идентификации лекарственных средств, представляющих собой сложные эфиры, используется реакция получения ацетгидроксамовой кислоты (гидролиз сложно-эфирной связи в щелочной среде и взаимодействие с NH_2OH), которая затем с солями железа (III) образует соединения, окрашенные в красно-коричневый (дезоксикортикостерона ацетат) или темно-вишневый (кортизона ацетат) цвет:



5) Гидролитическое расщепление

Ацетильную группу можно обнаружить после гидролиза ацетатов в спиртовом растворе гидроксида калия. Последующее прибавление конц. H_2SO_4 приводит к образованию этилацетата, имеющего характерный запах. Эта реакция рекомендована для испытания на подлинность гидрокортизона ацетата:



6) Доказательство ковалентно-связанного фтора

Во фторсодержащих лекарственных средствах (дексаметазоне и др.) фтор доказывается после минерализации (сжигание в колбе с кислородом) по реакции с цирконий ализариновым комплексом.

Методы количественного определения

Спектрофотометрическое определение в УФ-области (кортизона ацетат, преднизон).

Чистота

Из примесных соединений во всех препаратах этой группы определяются посторонние стероиды. Используется ВЭЖХ или ТСХ.

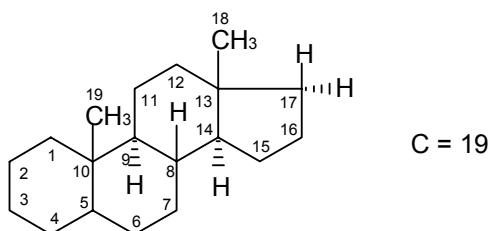
Хранение

Список Б. В защищенном от света месте.

3. АНДРОГЕННЫЕ ГОРМОНЫ И ПОЛУСИНТЕТИЧЕСКИЕ АНАБОЛИЧЕСКИЕ ПРЕПАРАТЫ

Андрогенные гормоны вырабатываются мужскими половыми железами (тестикулами) в период половой зрелости.

В химическом отношении эти вещества являются производными андростана:



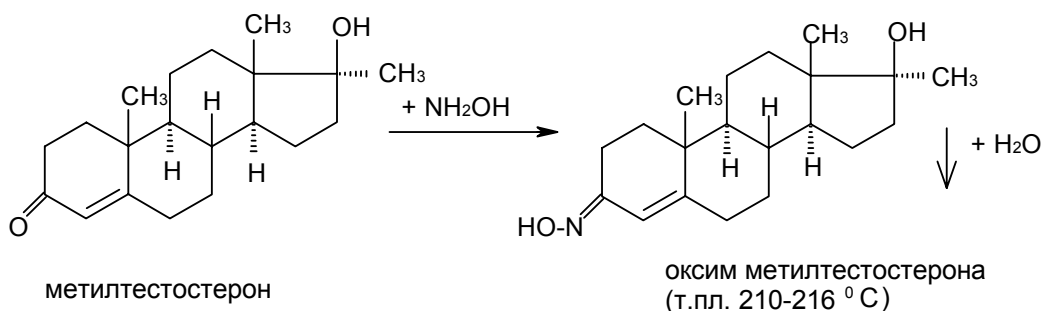
Физические свойства

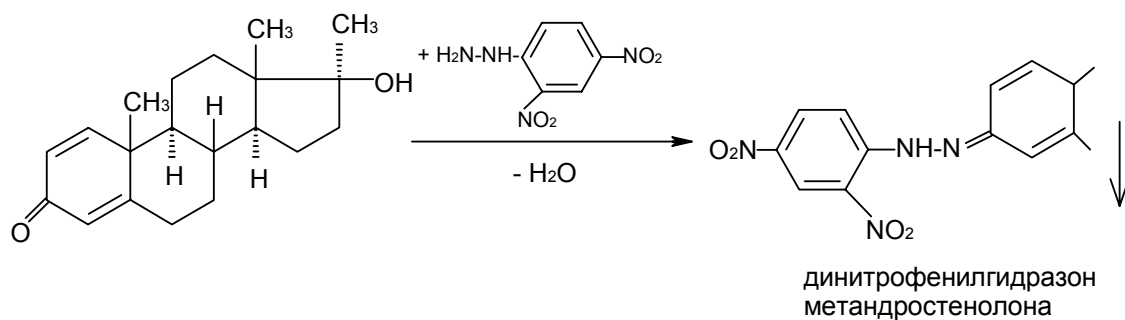
Белые с желтоватым оттенком мелкокристаллические порошки, нерастворимые в воде, растворимы в спирте, хлороформе и маслах.

Химические свойства и методы анализа

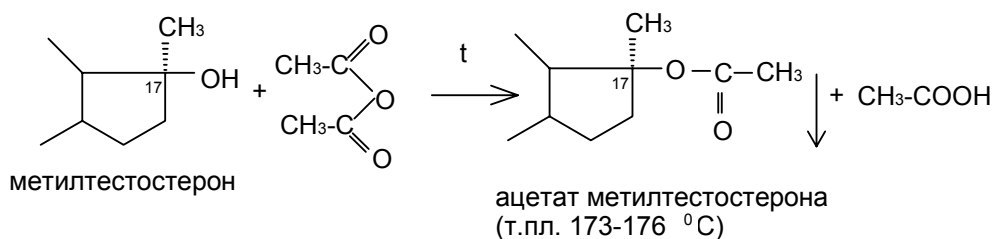
1. Для идентификации веществ используют общегрупповую реакцию на стероидный цикл с кислотой серной концентрированной: метилтестостерон и метиландростендиол образуют желто-оранжевое окрашивание с характерной флуоресценцией, метандростенолон – красное окрашивание.

2. Для обнаружения кетогруппы в 3 положении (тестостерона пропионат, метилтестостерон, метандростенолон) проводят общие реакции образования оксимов, гидразонов, изоникотиноилгидразонов, фенилгидразонов:



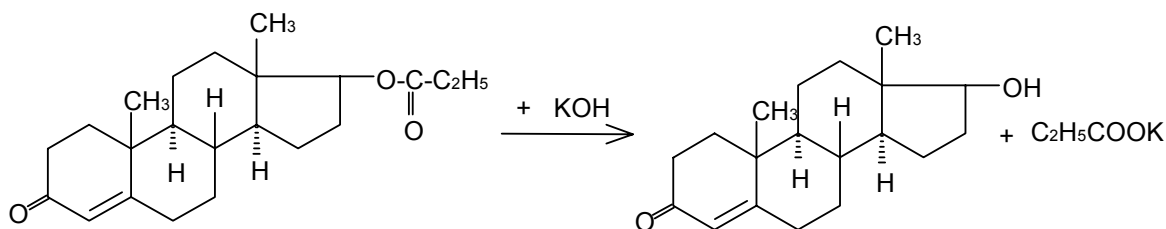


3) Спиртовые группы (тестостерона в 17 β положении, метилтестостерона в 17 β положении, метандростендиола - 3 β , 17 β положения, метандростенолона в 17 β положении) обуславливают реакции образования сложных эфиров, которые имеют характерные температуры плавления:

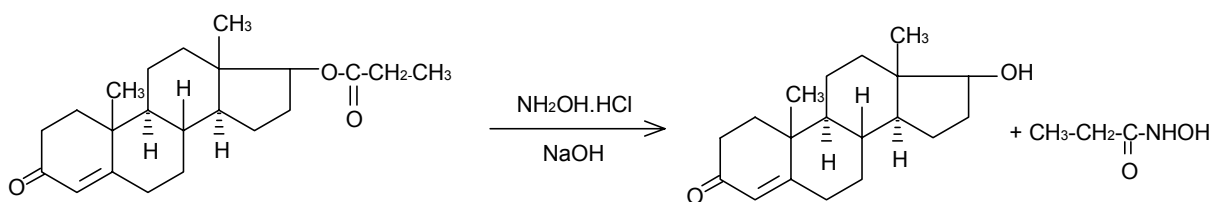


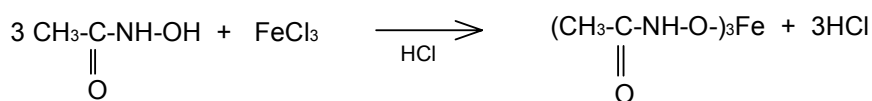
4) Тестостерона пропионат можно идентифицировать по сложноэфирной группировке:

а) по реакции гидролиза с последующей проверкой температуры плавления выделяющегося тестостерона (Т.пл. 150-156 °C):



б) по гидроксамовой реакции:





Количественное определение

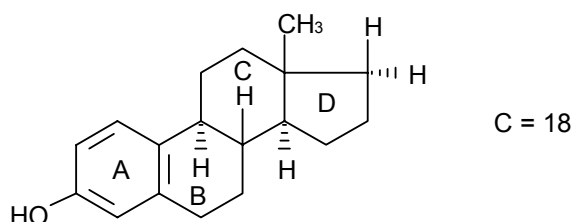
- 1) Перечисленные реакции лежат в основе методов количественного определения (гравиметрия оксимов, гидразонов; ФЭК гидроксаматов)
- 2) Метод УФ-спектрофотометрии.
- 3) Фотоколориметрия (1% и 5 % масляные растворы тестостерона пропионата определяют по окраске изоникотиноилгидразона тестостерона пропионата).

Хранение

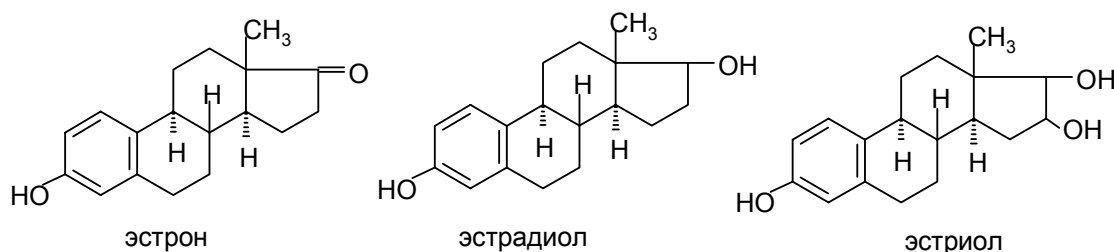
Андрогенные и анаболические стероидные препараты хранят по списку Б, в хорошо укупоренной таре, предохраняя от действия света и влаги.

4. ПРЕПАРАТЫ ЭСТРОГЕННЫХ ГОРМОНОВ

Эстрогенные гормоны вырабатываются в фолликулах. Они являются производными эстрана (кольцо А – ароматическое):



Известны три природных эстрогенных гормона:



Одним из основных эстрогенов является эстрадиол. Эстрадиол имеет два гидроксильных: в 3-м положении – фенольный и в 17-м положении – спиртовой. В качестве лекарственного средства применяется эстрадиола ди-

пропионат. В этой форме вещество более устойчиво и оказывает пролонгированное действие.

Наряду с этим препаратом применяется синтетический аналог с этинильной группой (не гормон, но обладает эстрогенной активностью) – этинилэстрадиол. Выпускается в таблетках по 0.00001 и 0.00005 г. Применяется при гипофункции яичников как средство заместительной терапии, а также входит в состав оральных контрацептивных средств (вместе с гестагенами).

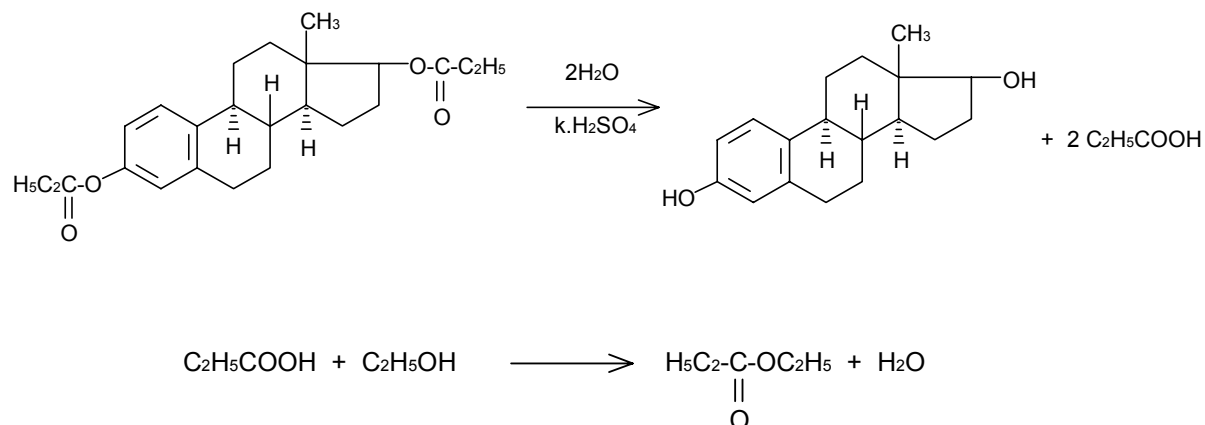
Физические свойства

Белые, слегка желтоватого цвета мелкокристаллические порошки, очень мало растворимые в воде, растворимы в спирте и в щелочах, так как являются фенолами. За счет ароматического кольца А поглощают в УФ-области спектра ($\lambda_{\max} = 280$ нм).

Химические свойства и методы анализа

Подлинность вещества устанавливается общей цветной реакцией на стероидный цикл с конц. H_2SO_4 : этинилэстрадиол дает оранжево-красную окраску с желтовато-зеленой флуоресценцией; местранол – кроваво-красное окрашивание с аналогичной флуоресценцией.

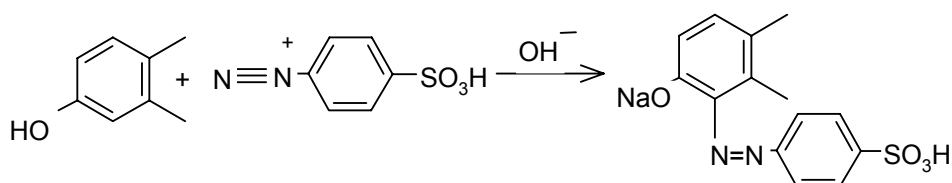
Эстрадиола дипропионат под действием конц. H_2SO_4 гидролизуеться с образованием пропионовой кислоты. Последующее нагревание в присутствии этанола ведет к образованию этилового эфира пропионовой кислоты, имеющего характерный запах:



Ароматическое кольцо А в стероидном цикле имеет фенольный гидроксил и его можно идентифицировать по реакциям:

а) электрофильного замещения (бромирование, нитрование, образование азокрасителя, ауринового красителя). Например, азокраситель полу-

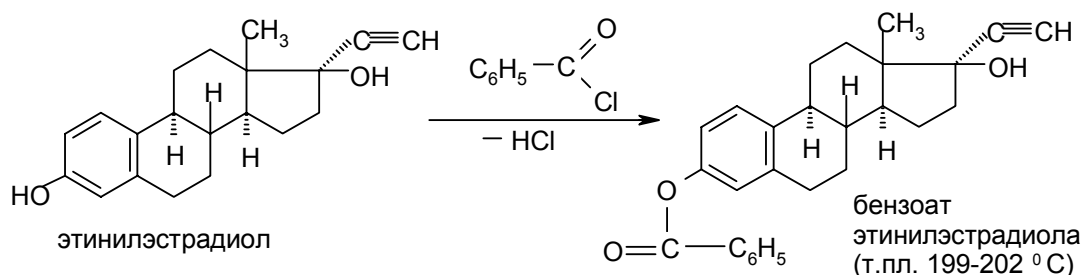
чают путем сочетания фенола с солью диазония (получают из сульфаниловой кислоты) в щелочной среде. Образуется раствор темно-красного цвета. Эта реакция применяется для количественного определения этинилэстрадиола в таблетках:



С реактивом Марки (формальдегид в конц. серной кислоте) образуется ауриновый краситель, окрашенный в малиновый или фиолетовый цвет;

б) по реакции солеобразования и комплексообразования с солями тяжелых металлов, например с FeCl_3 ;

в) образования сложных эфиров, например, с бензоилхлоридом, которые имеют характерную температуру плавления:



Эстрадиола дипропионат идентифицируют по образованию эстрадиола (Т.пл. 173-179 °C) после щелочного гидролиза с последующей очисткой его от примесей.

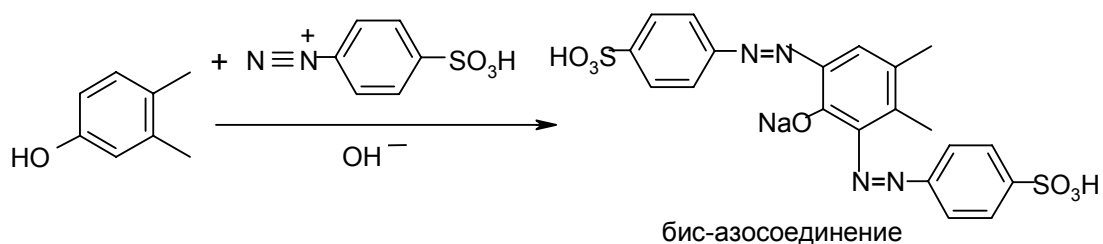
Для идентификации используют ИК- и УФ-спектры лекарственных веществ стероидной природы.

Для доказательства этинильной группы в структуре этинилэстрадиола применяется реакция с AgNO_3 . Этинилэстрадиол количественно определяют методом косвенной нейтрализации, также как прегнин.

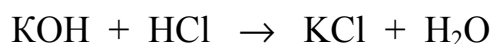
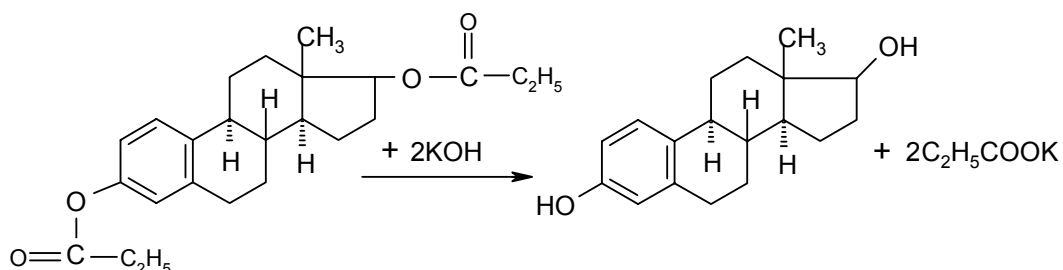
Методы количественного определения

1) ФЭК

Этинилэстрадиол (таблетки) определяют по окраске азокрасителя:



2) Для количественного определения эстрадиола дипропионата используют реакцию омыления точно отмеренным количеством 0.1 М спиртового раствора гидроксида калия, избыток которого титруют 0.1 М раствором соляной кислоты (индикатор фенолфталеин):



Хранение

Список Б. Этинилэстрадиол хранят в хорошо закупоренных банках оранжевого стекла, а эстрадиола дипропионат в сухом, защищенном от света месте.

5. СЕРДЕЧНЫЕ ГЛИКОЗИДЫ

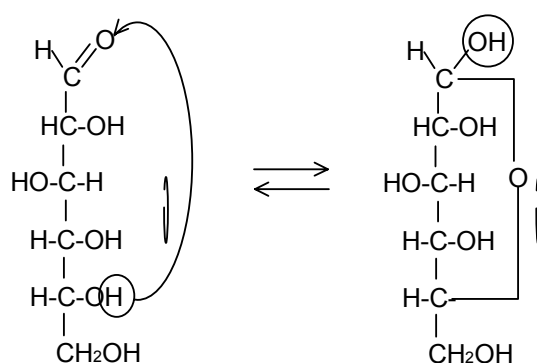
Гликозиды – это группа физиологически активных веществ природного происхождения, оказывающих специфическое действие на сердечную мышцу, при этом действие их проявляется в весьма малых дозах.

Препараты сердечных гликозидов находят применение для компенсации недостаточности сердечной деятельности, многие из них оказывают и диуретический эффект.

Большинство гликозидов сердечного действия относятся к списку А.

По своему строению гликозиды являются эфирами циклических форм сахаров (циклические ацетали), где сахарная часть и несакхарная часть (агликон) соединены через полуацетальный гидроксил сахарной части. Циклические формы сахаров, как известно, носят название полуацетальных

форм, так как они действительно представляют внутренние полуацетали, образовавшиеся в результате реакции альдегидной и спиртовой групп в пределах одной и той же молекулы.



Этот гидроксил, образовавшийся из альдегидной или кетонной группы, носит название полуацетального и отличается большой реакционной способностью.

Несахарная часть гликозидов называется агликоном; агликоны стероидной природы (в сердечных гликозидах) носят также название генины.

Сахарная часть может быть моносахаридом, дисахаридом, трисахаридом и т.д.

Гликозиды, как циклические ацетали, под действием кислот и ферментов легко расщепляются на составные части.

Ферменты (или энзимы) действуют избирательно и позволяют осуществлять ступенчатое отщепление сахаров. Ферменты часто находятся в тех же объектах, где и сами гликозиды, - поэтому необходимо соблюдать осторожность при выделении гликозидов из сырья.

Сырье сушат при 40-60 °С или помещают в сосуд с парами спирта, хлороформа – все это способствует инаktivации ферментов, а гликозиды остаются нерасщепленными.

В отличие от сахаров, гликозиды (за некоторым исключением) не обладают восстановительной активностью, поскольку полуацетальный гидроксил блокирован. Исключение – гликозиды с восстановительными группами (альдегидная группа). После разложения можно доказать восстановительные свойства сахаров, например с реактивом Фелинга (свободный сахар).

Строение сердечных гликозидов

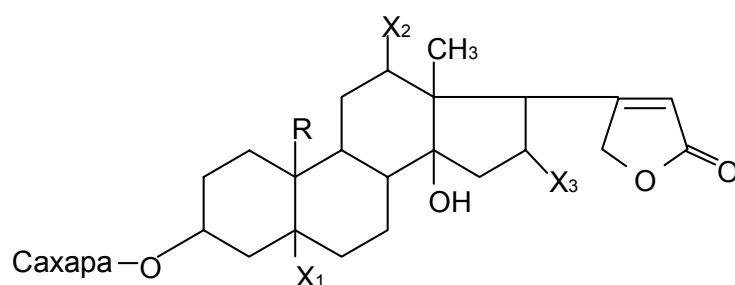
Различают естественные гликозиды (первичные, генинные) и вторичные, образовавшиеся из первичных, и содержащие на одну или две молекулы сахара меньше, чем первичные.

Установление строения сердечных гликозидов сводилось к установлению строения агликона.

Агликоны сердечных гликозидов содержат 23 или 24 углеродных атома и различаются между собой по различной степени окисленности. Они содержат не менее двух гидроксильных групп, некоторые альдегидную группу. Все агликоны содержат ненасыщенное лактонное кольцо.

Некоторые гликозиды содержат в положении 10 не метильную углеродную группу, а альдегидную (гликозиды строфанта, ландыша).

На основании многочисленных исследований было установлено, что в основе строения всех сердечных гликозидов лежит ядро циклопентанпергидрофенантрена, к которому в положении 17 присоединяется ненасыщенное лактонное кольцо с двойной связью в β,α -положении, а в положении 3 через атом кислорода – остаток сахара:



Общая формула карденолидов

Обязательными элементами проявления кардиотонической активности является, кроме β,α -ненасыщенного γ -лактонного кольца при C_{17} , наличие третичной β -ориентированной ОН-группы при C_{14} и углеводного фрагмента при C_3 , а также, в отличие от других природных стероидов, цис-сочленение колец С и Д. Агликоны различаются конфигурацией и количеством заместителей. Пространственная конфигурация определяется сочленением колец А,В,С,Д, а также расположением заместителей при C_{10} , C_{12} , C_{13} , C_{14} . Кроме упомянутого для кардиостероидов цис-сочленения колец С и Д, для них характерно цис- или транс-сочленение колец А и В и транс-сочленение колец В и С.

Сердечные гликозиды (карденолиды) по характеру заместителя в 10 положении можно разделить на две группы:

1. подгруппа наперстянки – в положении C_{10} содержит $-CH_3$ группу;
2. подгруппа строфанта – в положении C_{10} содержит альдегидную группу.

Таблица 1. Химический состав первичных гликозидов наперстянок

Вид наперстянки	Первичные гликозиды	Продукты гидролиза	Вторичные гликозиды
Наперстянка пурпурная	Пурпуреогликозид А	Глюкоза	Дигитоксин
Наперстянка шерстистая	Пурпуреогликозид В	Глюкоза	Гитоксин
	Дигиланид А	CH ₃ COOH + Глюкоза	Дигитоксин
	Дигиланид В	CH ₃ COOH + Глюкоза	Гитоксин
	Дигиланид С	CH ₃ COOH + Глюкоза	Дигоксин

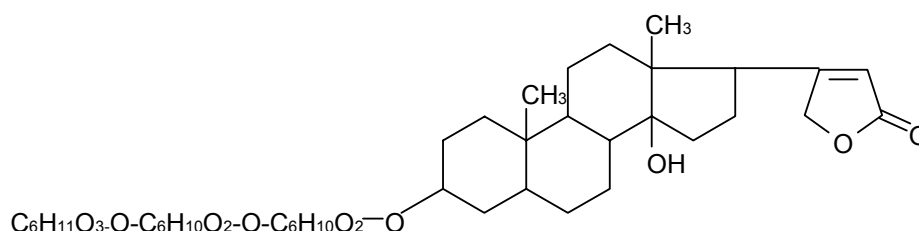
Вторичные гликозиды наперстянок состоят из агликонов и сахарной части, причем последняя у всех трех вторичных гликозидов одинакова.

Таблица 2. Химический состав вторичных гликозидов наперстянок

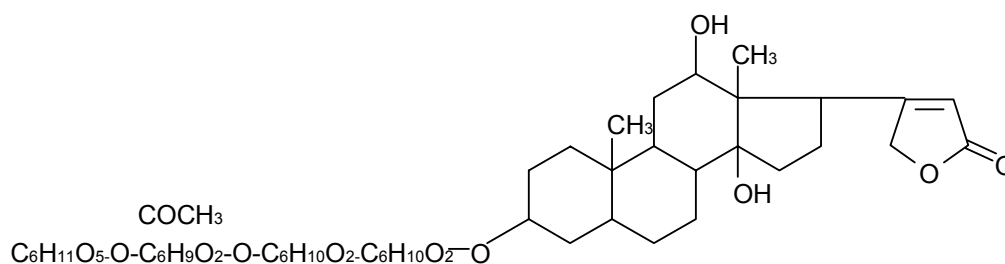
Вторичный гликозид	Агликон	Сахарная часть
Дигитоксин	Дигитоксигенин	Три молекулы дигитоксозы
Гитоксин	Гитоксигенин	Три молекулы дигитоксозы
Дигитоксин	Дигоксигенин	Три молекулы дигитоксозы

На основе данных таблиц 1 и 2, а также сведений о химическом составе агликонов можно написать формулы первичных и вторичных гликозидов наперстянок.

Формула дигитоксина:



Формула дигиланида С (целанида):



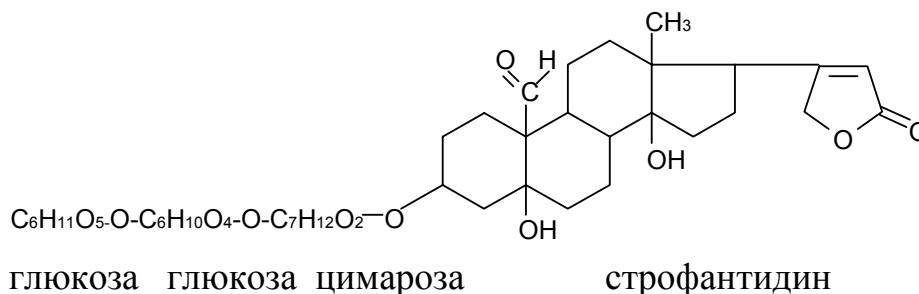
Первичный гликозид наперстянки шерстистой – дигиланид С под названием целанид (Celanidum) и вторичный гликозид наперстянки пурпурной – дигитоксин (Digitoxinum) включены в ГФ.

В ГФ включен также препарат строфантин К (Strophanthinum К). Его получают из семян строфанта Комбе. Препарат содержит в основном два гликозида, состав которых приведен в таблице 3.

Таблица 3. **Химический состав гликозидов строфантина К**

Гликозид	Агликон	Сахарная часть
К-строфантин-β К-строфантозид	Строфантидин Строфантидин	Глюкоза, цимароза Две молекулы глюкозы, цимароза

К-строфантин-β можно рассматривать как вторичный гликозид К-строфантозида. Последний, теряя молекулу глюкозы, превращается в К-строфантин-β. Формула К-строфантозида:



Свойства препаратов сердечных гликозидов

Препарат	Описание
Celanidum – целанид	Бесцветный или белый кристаллический порошок без запаха. На воздухе поглощает до 7,5% влаги. Гигроскопичен.
Digitoxinum – дигитоксин	Белый кристаллический порошок.
Digoxinum – дигоксин	Белый кристаллический порошок. Практически нерастворим в воде, очень мало - в этаноле.
Strophanthinum K- строфантин К	Белый или белый со слегка желтоватым оттенком порошок.

Сахарная часть гликозидов

Как отмечалось ранее, сахарный компонент может быть моно- и ди-, и три-сахаридом и т.д. У сахаров различают α и β -формы; D и L ряд и кроме того, оптическую активность (+ или -). D-ряд – это моносахариды, у которых конфигурация атомных групп у последнего ассиметрического атома углерода такая же, как у правовращающего – глицеринового альдегида.

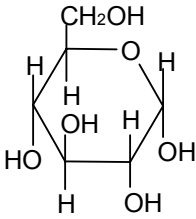
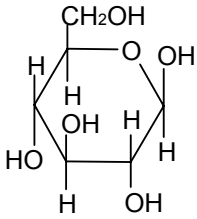
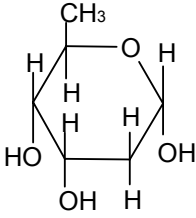
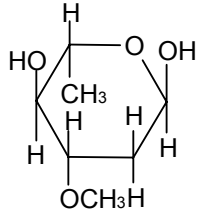
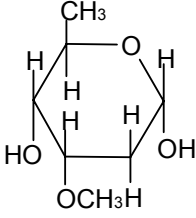
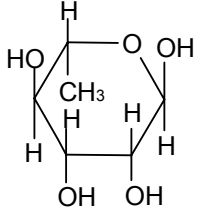
L-ряд – соответственно – у последнего ассиметрического атома углерода конфигурация атомных групп, как у L-глицеринового альдегида.

α -форма – это форма сахара, у которого полуацетальный гидроксил направлен в ту же сторону, что и OH у последнего ассиметрического атома углерода.

β -форма – полуацетальный гидроксил и гидроксил у последнего ассиметрического атома углерода направлены в противоположные стороны.

Оптическая активность сахаров зависит от конфигурации атомных групп у всех ассиметрических атомов углерода.

Сердечные гликозиды могут содержать:

D-глюкозу		L-глюкозу	
D-дигитоксозу		L-олеандрозу	
D-цимарозу (метилевый эфир дигитоксозы)		L-рамнозу	

Дигитоксоза, цимароза и олеандроза являются 2,6-дезоксисахарами. Агликоны сердечных гликозидов практически нерастворимы в воде. Сахарный компонент, сам по себе неактивный, способствует улучшению растворимости сердечного гликозида, усиливает его проницаемость через клеточные мембраны, тем самым усиливает действие агликона.

Методы выделения сердечных гликозидов из растительного сырья

Сердечные гликозиды находятся в растениях в небольших количествах от 0.001% до 0.2 %.

Растительное сырье экстрагируют эфиром для удаления жиров и смол, а затем экстрагируют спиртом или смесью спирта и хлороформа. При этом происходит инактивация энзимов, так как они представляют собой вещества белковой природы.

Полученный экстракт выпаривают в вакууме до густой консистенции и экстрагируют теплой водой. Сапонины, которые часто сопровождают сердечные гликозиды, осаждают ацетатом свинца, а избыток ацетата свинца удаляют добавлением серной кислоты, при этом образуется нерастворимый сульфат свинца.

При стоянии из водного раствора выпадает смесь неочищенных гликозидов. Для очистки суммы гликозидов, а также выделения их в индивидуальном состоянии, широко применяют методы фракционной кристалли-

зации. В последнее время широко используются адсорбционные методы на различных носителях (силикагеле, кизельгеле и др.)

Физические свойства сердечных гликозидов

Сердечные гликозиды – это твердые вещества, кристаллические, плохо растворимы в воде, оптически активные.

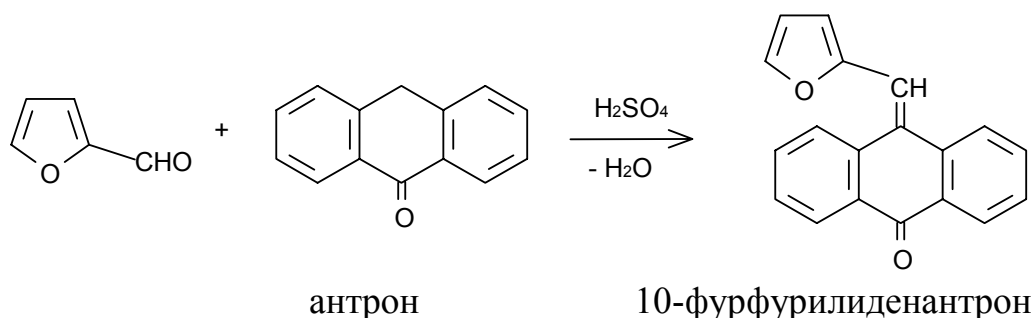
Методы идентификации

1) Анализ сахаров

Сахара, входящие в состав сердечных гликозидов, дают все цветные реакции, свойственные углеводам: восстанавливают реактив Фелинга, аммиачный раствор нитрата серебра (после гидролиза), образуют окрашенные соединения с ксантгидролом, п-диметиламино-бензальдегидом. Специфическими сахарами сердечных гликозидов являются 2,6-дезоксисахара, для обнаружения которых применяют тест Келлера-Киллиани. Наиболее распространенным реактивом для открытия сердечных гликозидов по углеводному фрагменту является ксантгидрол (реакция Пезеца).

При нагревании смеси ксантгидрола (дibenзо-γ-пиранола) с испытуемым гликозидом в присутствии ледяной CH_3COOH и последующим прибавлением нескольких капель серной или фосфорной кислоты появляется красное окрашивание.

Аналогичную цветную реакцию дает антрон. Методика основана на образовании фурфурола или его производных из сахарных компонентов под действием конц. H_2SO_4 . Фурфурол с антроном затем дает продукт конденсации, окрашенный в зеленый или сине-зеленый цвет:



2) Анализ стероидного цикла

Реакции стероидного цикла основаны на цветных реакциях, имеющих место при взаимодействии с реактивами, вызывающими дегидратацию гидроксильных групп (особенно при C_5 и C_{10}) стероидного скелета с образованием ангидропроизводных. Обычно эти реакции происходят в среде концентрированных кислот или под влиянием катализаторов Фриделя-

Крафтса. При нагревании до 100°C раствора гликозиды в уксусном ангидриде с 20-25 % раствором треххлористой сурьмы образуется лиловое окрашивание.

Тест Либермана-Бурхарда. Раствор испытуемого вещества в уксусной кислоте смешивают с 2 мл смеси, состоящей из 50 частей уксусного ангидрида и 1 части концентрированной серной кислоты: развивается розовое окрашивание, постепенно переходящее в зеленое или синее. Окраска определяется строением генина: строфантин и его гликозиды в этих условиях окрашиваются в оливково-зеленый цвет, переходящий в желтый.

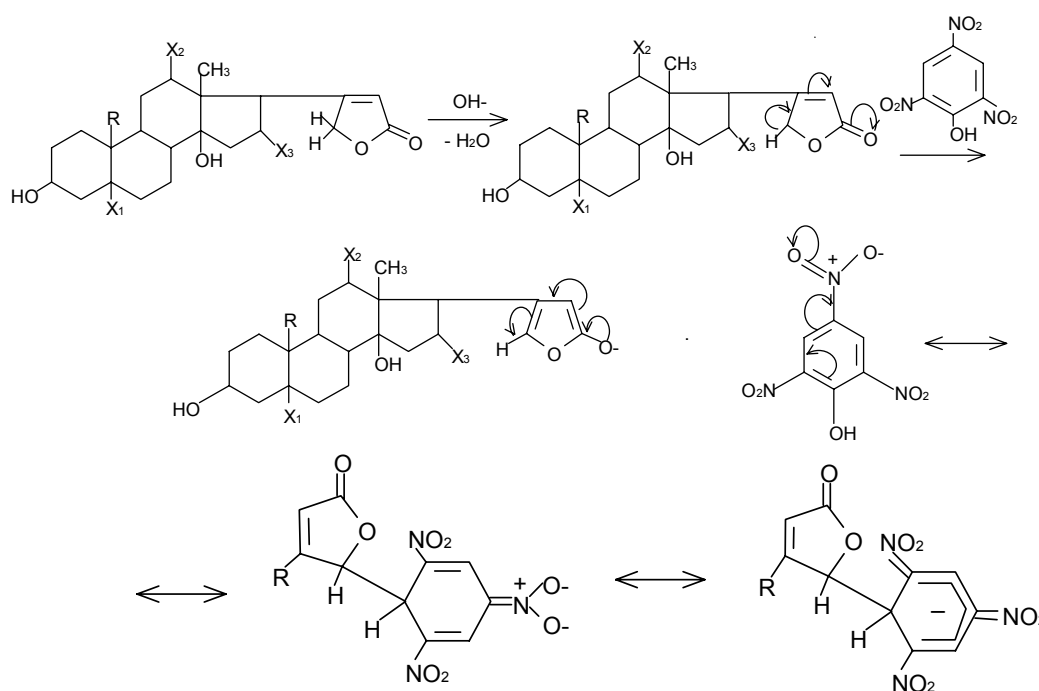
Для кардиоактивных гликозидов характерно явление галохромии: образование окрашенных соединений с концентрированными минеральными кислотами, из которых наибольшее распространение получили цветные реакции с серной кислотой.

Тест Рейхштейна. Несколько кристалликов гликозида смачивают 2 каплями 84 % H_2SO_4 и отмечают изменение окраски во времени. Лабильность окраски специфична и используется для первичной идентификации сердечных гликозидов. Для идентификации карденолидов также используется их способность флуоресцировать в УФ-свете в виде пятен различной окраски при взаимодействии, например, с фосфорной кислотой.

3) Реакции на β,α -ненасыщенное лактонное кольцо

К этой группе относятся реакции, в результате которых при взаимодействии сердечного гликозида с некоторыми полинитропроизводными в щелочной среде образуется окрашивание.

1. Сердечные гликозиды в присутствии щелочи дают с пикриновой кислотой (тринитрофенолом) – реакция Балье – оранжевую окраску:



2. Пятичленный лактонный цикл можно также обнаружить по образованию окрашенных в красно-фиолетовый цвет продуктов взаимодействия в щелочной среде с м-динитробензолом (реакция Раймонда).

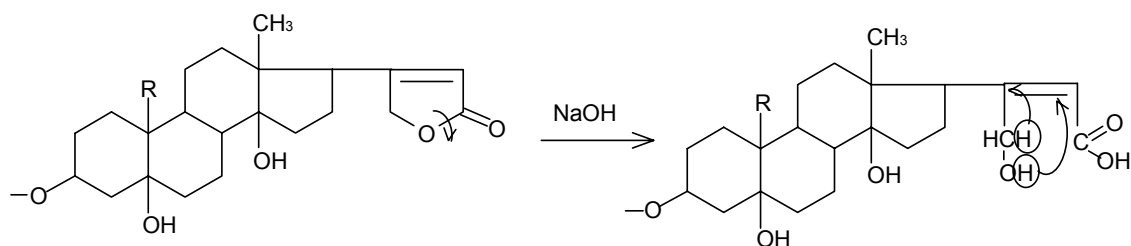
Несовместимость гликозидов сердечного действия

1. С кислотами и соединениями, которые дают кислую реакцию среды. В данном случае происходит гидролиз по гликозидной связи (отщепление сахаров). Реакция проходит без видимых внешних изменений (с аскорбиновой кислотой и другими витаминами кислой реакции среды).

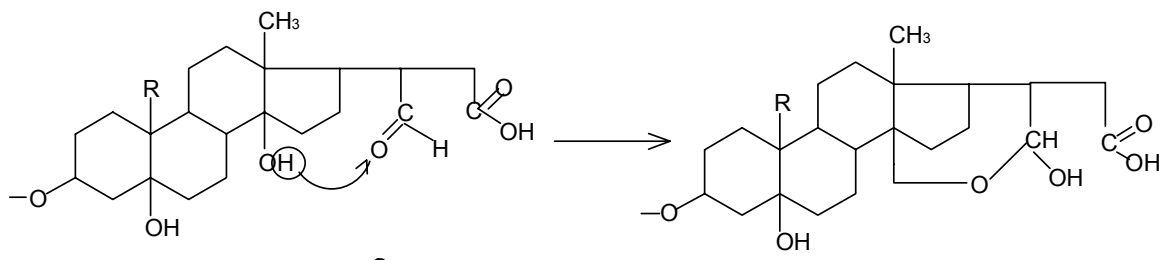
2. Со щелочами и соединениями, которые дают щелочную реакцию среды (NaHCO_3 , барбитал-натрия и др.).

В щелочной среде не происходит гидролиз гликозидной связи, а идет алломеризация с образованием неактивного гликозида (расщепляется лактонное кольцо).

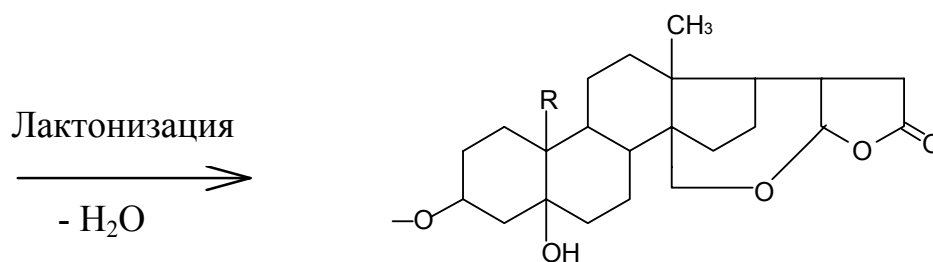
На первой стадии происходит расщепление β, α -ненасыщенного лактонного кольца с образованием соответствующей оксикислоты:



Затем происходит образование полуацетала:



Далее образовавшаяся γ -кислота способна образовывать внутренний сложный эфир (лактон), что приводит к созданию новой циклической системы (лактонизация). Образовавшийся неактивный изоагликон имеет УФ-спектр, который резко отличается от нативного гликозида (возможность оценки чистоты методом УФ-спектрометрии).



3. Соли тяжелых металлов осаждают сердечные гликозиды из растворов.

4. Гликозиды несовместимы с дубильными веществами (отвар толокнянки и др.), с препаратами валерианы (уменьшение фармакологической активности сердечных гликозидов), с производными барбитуровой кислоты (уменьшение амплитуды сердечных сокращений), с диуретиками (усиление действия сердечных гликозидов, гипокалиемия).

5. Карденолиды разлагаются при нагревании.

Методы количественного определения кардиоактивных стероидов

Кардиоактивные стероиды являются терапевтически важной группой веществ и для понимания роли этих соединений в жизни растений проводили исследования их метаболизма в живом организме. Результаты этих исследований позволили успешно применять их в медицине (налажен выпуск сердечных гликозидов промышленностью). Однако, для безопасного использования этих веществ, требуется проводить стандартизацию не только самих лекарственных средств, но и природных источников всевозможными методами количественного определения.

До настоящего времени количественная оценка кардиоактивных стероидов проводится, в основном, с помощью биологических тестов на животных (ГФ). Биологические методы трудоемки, длительны, плохо воспроизводимы, мало достоверны (ошибки в пределах 10-20%). Результаты биологического анализа зависят от индивидуальных особенностей животных и не позволяют получать объективную качественную и количественную информацию о действующем веществе.

Стандартизация сердечных гликозидов с помощью биологического метода основана на способности карденолидов вызывать в токсических дозах остановку сердца животных в стадии систолы. Их активность оценивают по сравнению с активностью стандартных препаратов и выражают в единицах действия (ЕД) – кошачих (КЕД), лягушачих (ЛЕД) или голубиных (ГЕД).

Сейчас известно значительное число методов, в основе которых лежит титриметрическое, фотометрическое, флуориметрическое и полярографическое определение кардиостероидов.

Химические методы

Кислотно-основное титрование в неводной среде (подгруппа строфанта).

И.А.Казаринов и Н.П.Дзюба предложили объемный метод, основанный на способности альдегидной группы при C_{10} (агликон строфантина) образовывать оксим при взаимодействии с гидроксиламином в среде диэтиламина. Диэтиламин связывает соляную кислоту, образующуюся при оксимировании, а избыток его оттитровывают хлорной кислотой. Ошибка метода 0,7-2,6%. Несмотря на то, что метод быстр в исполнении, он не нашел распространения, так как пригоден только для анализа стандартных образцов. Метод требует тщательной очистки реактивов от соединений, содержащих карбонильные группы.

Физико-химические методы

1. УФ-спектрофотометрический (используется в анализе сырья и стандартного вещества при 217-219 нм).
2. Фотометрический метод:
 - а) целанид – с ксантгидроловым реактивом
 - б) реактив Татъе – 2,4-динитрофенилсульфон – рекомендуется для анализа сырья, лекарственных веществ и лекарственных препаратов (ГФ Х1) (реакция на пятичленное лактонное кольцо).

3. Хроматографические методы (ВЭЖХ, ГЖХ).

4. Флуориметрические методы анализа

Основаны на способности сердечных гликозидов флуоресцировать под действием сильных кислот и окислительных агентов после кратковременного облучения УФ-светом.

Под действием сильных кислот или окислительных агентов происходит дегидратация гликозидов с образованием ангидропроизводных.

Так, при действии на гитоксин фосфорной кислоты образуется диангидрогитоксин, который под влиянием УФ-света флуоресцирует. При этом интенсивность флуоресценции пропорциональна концентрации гликозида, что позволяет проводить количественную оценку. Необходимо сопоставление химических и физико-химических методов с результатами биологических методов.

Испытание на чистоту

Чистота характеризуется по различным физико-химическим параметрам (удельное вращение, ИК- и УФ-спектрам, температуре плавления). Кроме того, регламентируется содержание влаги (способствует гидролизу полуацетальной связи), сульфатной золы и тяжелых металлов (факторы, катализирующие окисление препаратов). Для оценки доброкачественности инъекционных растворов дополнительно оценивают их прозрачность и цветность.

Особое внимание обращается на наличие примесей посторонних гликозидов. Это относится, прежде всего, к лекарственным средствам, полученным из растений, содержащих несколько сходных по структуре сердечных гликозидов. Примесь посторонних стероидов обнаруживают с помощью бумажной хроматографии по величине R_f и флуоресценции пятен.

Хранение

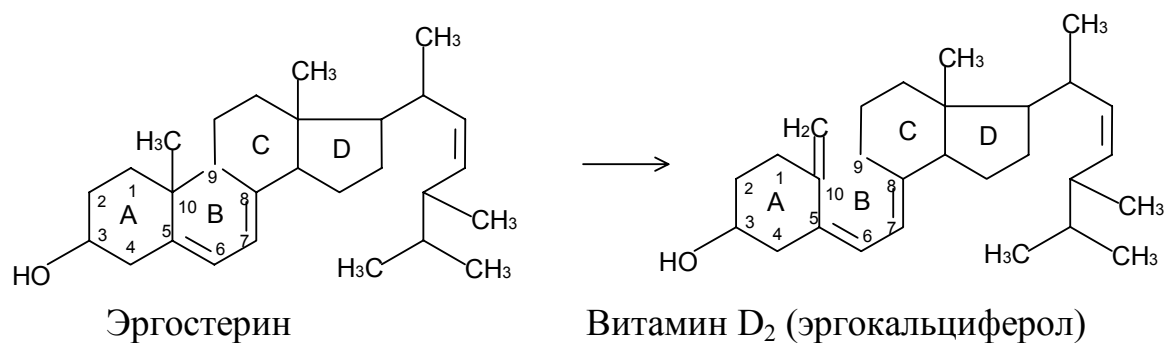
Список А. В хорошо закупоренных банках оранжевого стекла, в сухом, предохраняющем от света месте.

6. ЦИКЛОГЕКСАНОЛЭТИЛЕНГИДРИНДАНОВЫЕ СОЕДИНЕНИЯ (ВИТАМИНЫ ГРУППЫ D)

Витамин D (кальциферол, антирахитический витамин) существует в виде нескольких соединений, отличающихся по химическому строению и биологической активности. Для человека и животных активными препаратами считаются витамины D_2 и D_3 , хотя известны и другие витамины группы, например витамин D_4 (дигидроэргокальциферол). В природных продуктах содержатся преимущественно провитамины D_2 и D_3 , соответственно – эргостерин и холестерин.

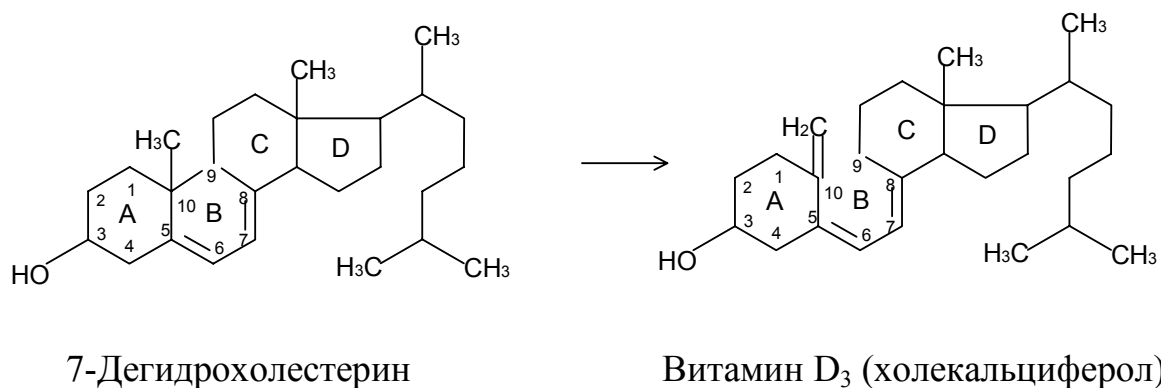
В 1924 г. А.Гесс и М.Вейншток и независимо Г.Стинбок из растительных масел и продуктов питания после воздействия УФ-излучением с длиной волны 280-310 нм получили активный препарат, предотвращающий развитие рахита у детей. Оказалось, что это действие оказывает эргостерин (витамин D_1). В 1932 г. А.Виндаус выделил эргостерин из дрожжей и показал, что истинным витамином D является не эргостерин, а продукт его превращения, образующийся при УФ-облучении, который был обозначен витамином D_2 , или кальциферолом. В 1956 г. Международная комиссия по химической номенклатуре предложила для витамина D_2 новое название – эргокальциферол.

С химической точки зрения эргостерин представляет собой одноатомный ненасыщенный циклический спирт, в основе структуры которого лежит конденсированная кольцевая система циклопентанпергидрофенантрена; под действием УФ-излучения эргостерин через ряд промежуточных продуктов (люмистерин, тахистерин) превращается в витамин D₂:

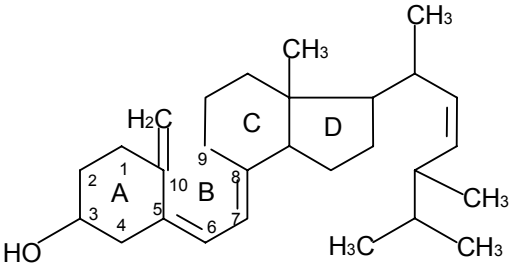
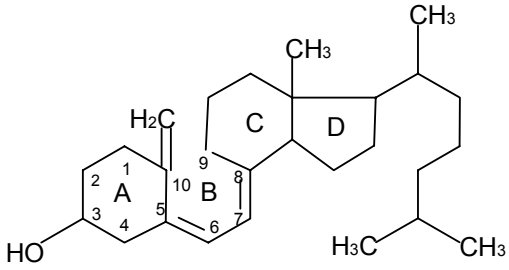


Как видно, витамин D₂ образуется из эргостерина в результате разрыва между 9-м и 10-м углеродным атомами кольца В под действием УФ-излучения.

В 1936 г. в лаборатории А.Виндауса был выделен активный в отношении рахита препарат из рыбьего жира и назван витамином D₃. Предшественником витамина D₃ является 7-дегидрохолестерин, который при УФ-облучении превращается в активный витамин D₃:



Отмечено, что благодаря наличию холестерина и 7-дегидрохолестерина в составе липидов кожи человека имеется возможность синтеза витамина D₃ при солнечном облучении или облучении лампой ультрафиолетового излучения поверхности тела. Этим приемом широко пользуются при лечении рахита у детей.

Химическая структура	Описание
	<p>Эргокальциферол (витамин D₂) Секо-9,10-эргостатетраен-5,7,10(19),22-ол-3β-(5Z,7E,22E). Бесцветные или слегка желтоватые кристаллы без запаха или почти без запаха. Практически нерастворим в воде, легко растворим в этаноле, хлороформе, ацетоне и эфире. Удельное вращение от + 103° до + 107°.</p>
	<p>Холекальциферол (витамин D₃) Секо-9,10-холестатриен-5,7,10(19)-ол-3β-(5Z,7E). Бесцветные кристаллы или белый кристаллический порошок без запаха. Практически нерастворим в воде, растворим в этаноле, хлороформе и эфире. Удельное вращение от + 105° до + 112°.</p>

Физические свойства

Витамины D₂ и D₃ представляют собой бесцветные кристаллы с температурой плавления 115-117 °С, нерастворимые в воде, но хорошо растворимые в жирах, хлороформе, эфире.

Вещества характеризуются специфическими ИК-спектрами, поглощают в УФ-свете ($\lambda_{\max} = 265$ нм), обладают оптической активностью.

Метод УФ-спектрофотометрии применим для оценки чистоты препаратов и количественного определения (холекальциферола) с использованием стандартного образца.

Методы анализа качества

Оценка подлинности основана на подтверждении наличия специфических функциональных групп. Так, стероидная часть молекулы обуславливает реакцию Либермана. Вещества растворяют в хлороформе, добавляют уксусный ангидрид, содержащий небольшое количество серной кислоты. После энергичного встряхивания образуется ярко-красное окрашивание,

которое быстро изменяется в фиолетовое, затем синее и, наконец, зеленое. Эти изменения связаны с процессами окисления и дегидратации молекул.

Специфическое испытание на холекальциферол согласно МФ проводится при растворении препарата в дихлорэтаноле – появляется желто-оранжевое окрашивание. В отличие от витамина D₃, эргокальциферол в среде этанола при добавлении конц. серной кислоты дает красное окрашивание.

Кроме того, эргокальциферол дает различные цветные реакции. С треххлористой сурьмой в хлороформе развивается оранжевое окрашивание, которое постепенно становится розовым (МФ). Эта реакция специфична и в присутствии витамина А, который с этим же реактивом дает синее окрашивание. Известны и другие нефармакопейные реакции, например, с пирогалловой кислотой, трихлоруксусной кислотой, сахарозой, ароматическими альдегидами и др. Все эти реакции могут использоваться как для качественного, так и для количественного определения (ФЭК).

Витамины группы Д за счет наличия спиртового гидроксильного в 3-м положении стероидного цикла образуют сложные эфиры (ацетаты, бензоаты и др.), которые характеризуются определенной температурой плавления.

Хранение

В герметически закупоренной таре, предохраняющей от действия света в инертной атмосфере (азот), не содержащей кислорода воздуха, в прохладном месте. Даже в отсутствии света постепенно разрушается во влажной атмосфере, разрушение ускоряется при повышении температуры. Хранят при температуре 2-8 °С.

Тема 9. АНАЛИЗ ПРОИЗВОДНЫХ ФЕНОЛОВ, ХИНОНОВ, АРОМАТИЧЕСКИХ КИСЛОТ, ФЕНОЛОКИСЛОТ, АРОМАТИЧЕСКИХ АМИНОКИСЛОТ И ИХ ПРОИЗВОДНЫХ

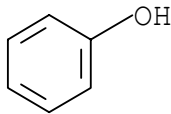
1. ЛЕКАРСТВЕННЫЕ ВЕЩЕСТВА ГРУППЫ ФЕНОЛОВ

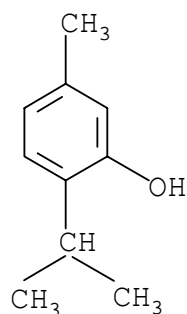
Фенолы можно рассматривать как ароматические спирты у которых одна или несколько гидроксильных групп связаны непосредственно с ароматическим ядром. Этим обусловлены главные отличия фенолов от алифатических спиртов.

Простые фенолы, т.е. вещества, не содержащие в молекуле никаких функциональных групп кроме ароматического ядра и одного или более фенольных гидроксиллов (оксибензол, резорцин, тимол), применяют в качестве антисептических средств. Среди лекарственных веществ гомологом фенола (оксибензола) является тимол. К производным фенолов (по химической классификации) можно отнести синтетические аналоги эстрогенов нестероидной структуры гексэстрол (синэстрол), диэтилстильбэстрол. Один или несколько фенольных гидроксиллов содержатся в лекарственных веществах как природного, так и синтетического происхождения с различным фармакологическим действием (морфина гидрохлорид, рутозид, синэстрол, пиридоксина гидрохлорид и др.).

Общие свойства лекарственных веществ группы фенолов приведены в таблице 1.

Таблица 1. Общие свойства лекарственных веществ группы фенолов

Структурная формула	Описание
	Phenolum purum. Фенол. Оксибензол Бесцветные или слабо розовые, или желтоватые кристаллы или кристаллическая масса со своеобразным запахом. Гигроскопичен. Растворим в воде; легко растворим в спирте, глицерине, метиленхлориде. Лекарственные формы: растворы в глицерине, мазь. Антисептическое средство.



Thymolum. Тимол.

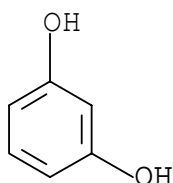
2-изопропил-5-метилфенол.

Крупные бесцветные кристаллы или кристаллический порошок с характерным запахом. Летуч с водяным паром.

Очень мало растворим в воде, легко растворим в спирте, хлороформе, эфире, жирных маслах и кислоте уксусной ледяной.

Лекарственные формы: порошок.

Противоглистное средство.



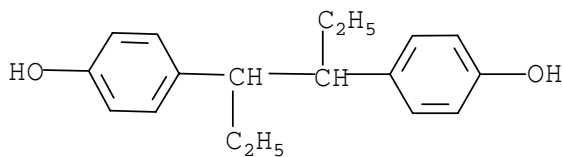
Resorcinum. Резорцин.

m-Диоксибензол.

Белый или белый со слабым желтоватым оттенком кристаллический порошок. Под влиянием света и воздуха постепенно окрашивается в розовый цвет. Очень легко растворим в воде и 95 % спирте, легко растворим в эфире, мало растворим в хлороформе.

Лекарственные формы: мази, спиртовые растворы.

Антисептическое средство.



Synoestrolum. Синэстрол.

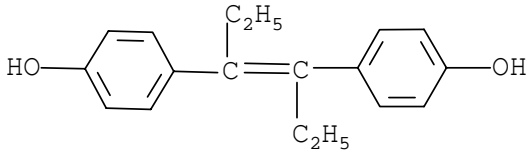
Мезо-3,4-ди-(п-оксифенил)-гексан.

Белый или белый со слегка желтоватым оттенком порошок.

Практически нерастворим в воде, легко растворим в 95 % спирте, эфире, мало растворим в хлороформе, трудно растворим в персиковом масле.

Лекарственные формы: порошок, раствор синэстрола в масле 2 % для инъекций, таблетки синэстрола 0.001 г.

Эстрогенное средство

	<p>Diaethylstilboestrolum. Диэтил-стильбэстрол. Транс-3,4-ди-(пара-оксифенил)-гексен-3. Белый кристаллический порошок. Растворим в 95 % спирте, эфире, мало растворим в хлороформе. Лекарственные формы: таблетки Эстрогенное средство.</p>
---	---

ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА И АНАЛИЗ КАЧЕСТВА

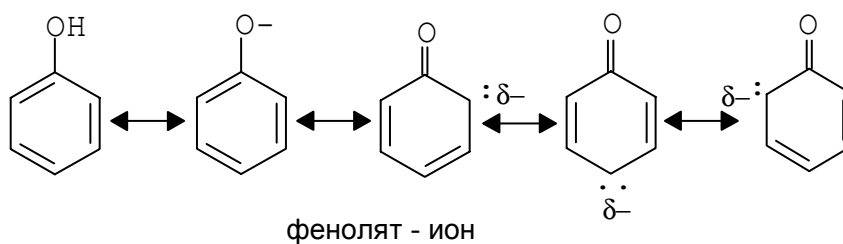
Кислотные свойства

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

Значения рКа следующие:

Фенол	9,89
Уксусная кислота	4,76
Угольная кислота	6,12

Кислотность определяется наличием в структуре фенольного гидроксила и образованием соответствующего аниона:



Чем стабильнее анион, тем сильнее кислота.

Внутри данной группы кислотность различна и зависит от заместителей, количества гидроксильных групп.

Фенолы хорошо растворяются в водных растворах щелочей с образованием фенолятов. Однако данную реакцию нельзя использовать для количественного определения из-за гидролиза образующейся соли.

Фенолы не взаимодействуют с гидрокарбонатами щелочных металлов, потому что слабее угольной кислоты и не могут вытеснить ее. По реакции взаимодействия с гидрокарбонатами щелочных металлов различаются фенолы и карбоновые кислоты.

Характерной качественной реакцией на фенолы является образование окрашенных комплексов состава $[\text{Fe}(\text{OR})_6]^{3-}$ с солями трехвалентного железа. Окраска зависит от количества гидроксильных групп, их расположения, наличия других функциональных групп.

Окраска комплексов производных фенола и железа (III) хлорида

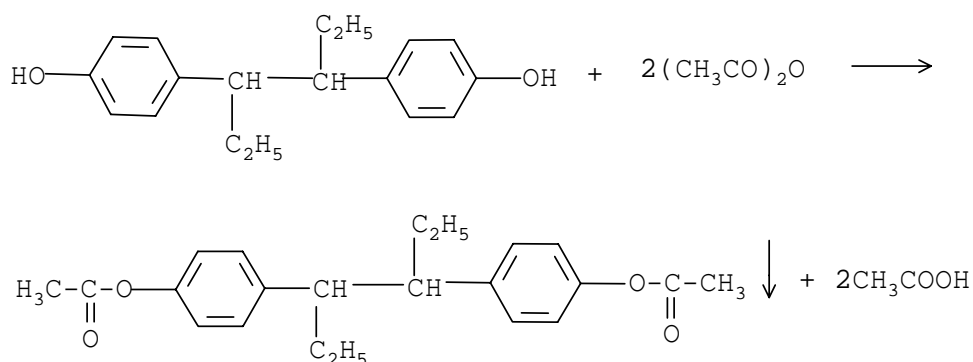
Название лекарственного вещества	Окраска
Фенол	Фиолетовое
Резорцин	Сине-фиолетовое
Тимол (спиртовой раствор)	Красно-фиолетовое
Синэстрол	Зеленое

Комплекс неустойчив, разрушается при действии на него органических и минеральных кислот.

Реакция используется, кроме определения подлинности, и в анализе чистоты. Так, примесь пирокатехина в резорцине определялась по реакции осаждения с ацетатом свинца, а примесь фенола в тимоле по окраске с железа (III) хлоридом.

Образование сложных эфиров

В фармацевтическом качественном и количественном анализе часто используются реакции ацетилирования. Образующийся сложный эфир идентифицируется по характерной температуре плавления:



Тпл. = 137-139°C

Количественное определение синэстрола и диэтилстильбэстрола проводится методом ацетилирования.

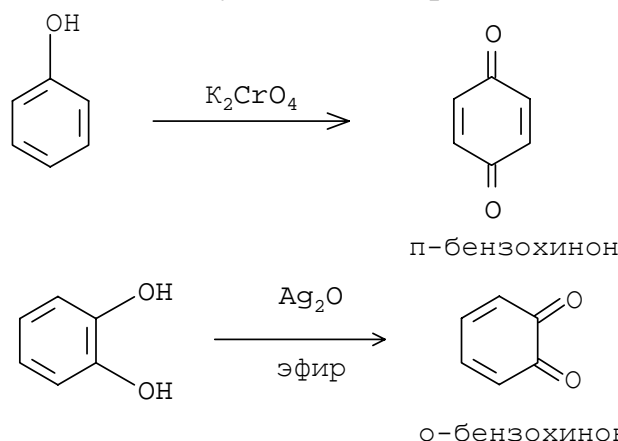
Восстановительные свойства

Фенолы легко окисляются даже кислородом воздуха, поэтому при хранении фенолов возможно появление оттенков (розовое, желтое, бурое).

Быстрее окисляются двухатомные фенолы, чем одноатомные. Скорость окисления зависит также от pH среды. В щелочной среде окисление идет быстрее. Вследствие легкости окисления фармакопея вводит показатель – цветность.

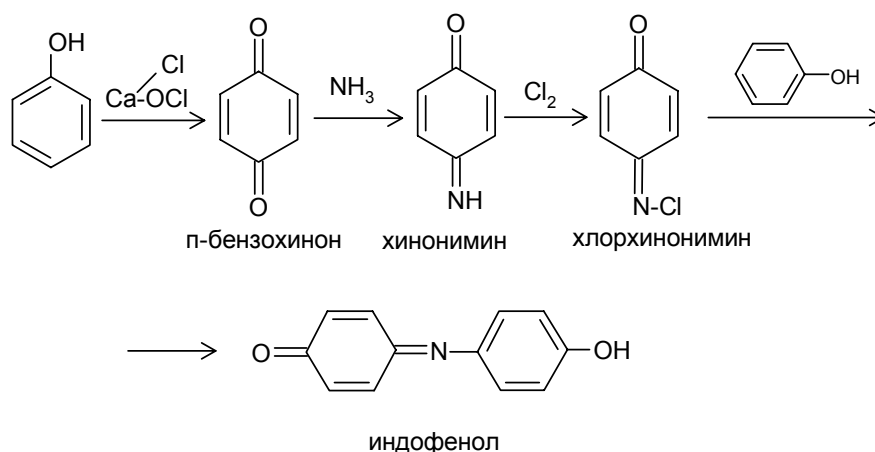
Реакция окисления фенолов протекает сложно и характер продуктов во многом зависит от природы заместителей.

Можно представить схему окисления фенола таким образом:

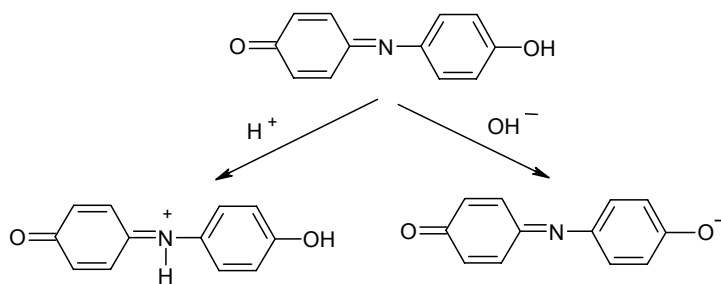


Резорцин окисляется с образованием сложной смеси продуктов, но нет м-хинонов.

На способности препаратов окисляться основана такая реакция подлинности как индофеноловая проба. В качестве окислителя используют хлорную известь, хлорамин, бромную воду:



Образующийся индофенол амфотерного характера и может образовывать хорошо диссоциируемые соли как с кислотами, так и с основаниями. Соли имеют различную окраску:



Окраска индофенолов

Лекарственное вещество	Без добавления кислот	При добавлении кислот
Фенол Тимол Резорцин	сине-зеленое слабо-розовая буровато-желтая	красная желтая красная

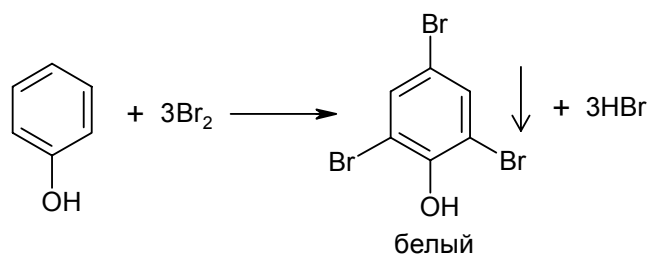
Реакции идут легко, если о- и п-положения не заняты.

Реакции электрофильного замещения

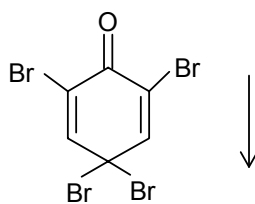
Гидроксильная группа, связанная с ароматическим ядром, в щелочном растворе – сильнейший орто- и пара-ориентант. В связи с этим для фенолов легко проходят реакции галогенирования, нитрозирования, нитрования и др.

Галогенирование

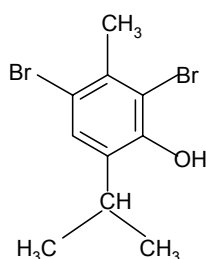
Бромирование и йодирование широко применяются в анализе фенолов. Образование трибромфенола в виде осадка используется для подтверждения подлинности фенола:



При избытке бромной воды образуется желтого цвета 2,4,4,6-тетрабромциклогексадиен-2,5-он:



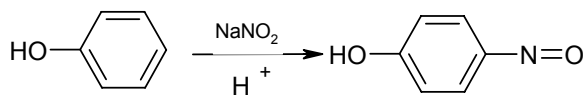
Наиболее легко идет галогенирование фенолов в щелочной среде, но в сильнощелочной среде происходит окисление фенола. Резорцин бромится в кислой среде, образуя трибромрезорцин, который в воде растворим. Если одно из положений занято (как у тимола), то образуется дибромпроизводное:



Реакции галогенирования используются также для количественного определения фенолов.

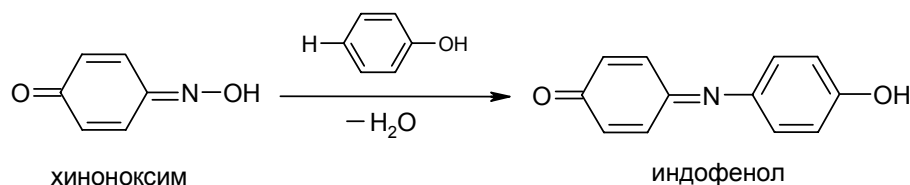
Нитрозирование (нитрозореакция Либермана)

Реакция нитрозирования является разновидностью индофеноловой реакции:



п-нитрозофенол (зеленого цвета)

Нитрозогруппа усиливает подвижность водорода у фенольного гидроксила, происходит изомеризация. Образующийся хиноноксим конденсируется с фенолом:



хиноноксим

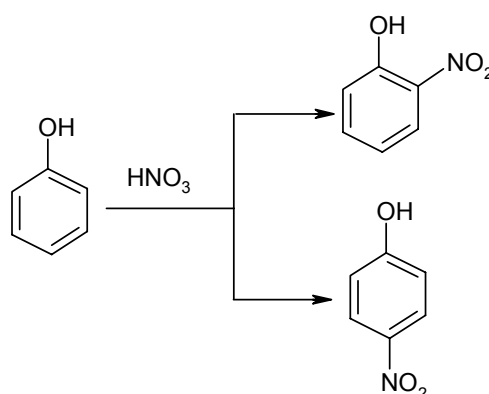
индофенол

Окраска индофенолов (полученных по реакции Либермана)

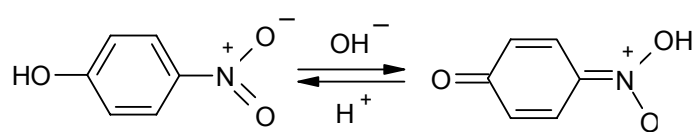
Лекарственное вещество	Окраска индофенола	
	без добавления щелочи	после добавления щелочи
Фенол	темно-зеленая	вишнево-красная
Тимол	сине-зеленая	фиолетовая
Резорцин	фиолетово-черная	фиолетовая
Синэстрол	красно-фиолетовая	вишневая

Нитрование

Фенолы нитруются кислотой азотной разбавленной при комнатной температуре с образованием о- и п-нитрофенола:

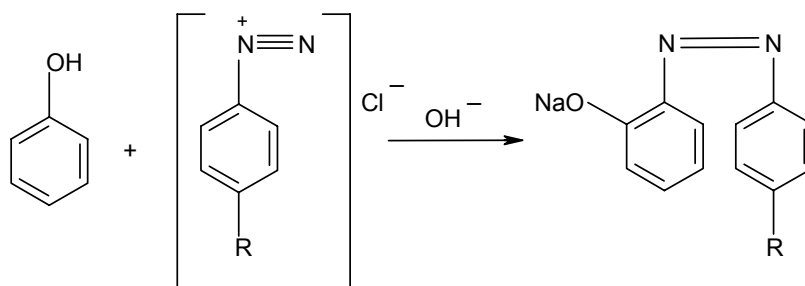


Добавление раствора натрия гидроксида усиливает окраску вследствие образования хорошо диссоциируемой соли:



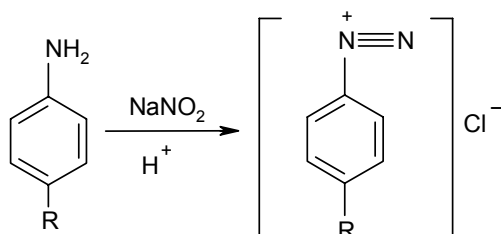
Реакция сочетания фенолов с солью диазония в щелочной среде

Фенолы легко вступают в реакцию замещения с солями диазония в щелочной среде с образованием азокрасителей, имеющих в щелочной среде окраску от оранжевой до вишнево-красной:

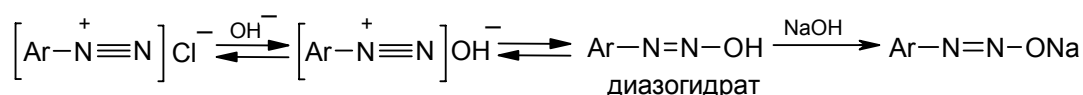


Это общая реакция на фенолы, не имеющие заместителей в орто- и пара-положениях. Легче сочетание происходит в пара-положении из-за образования длинной цепи сопряженных связей.

Соль диазония из-за своей нестойкости готовят непосредственно перед проведением реакции, используя соединения с первичной ароматической аминогруппой:



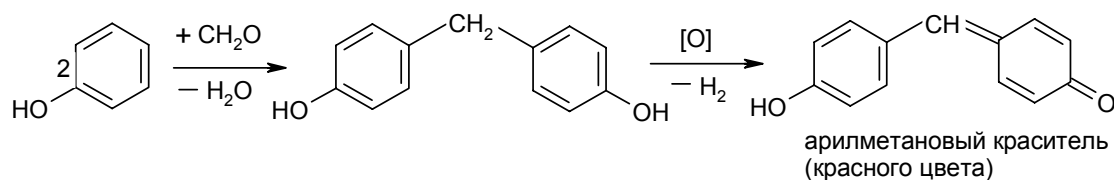
pH среды при образовании азокрасителя не должна быть выше 9,0 – 10,0, так как в сильно-щелочной среде соль диазония образует неспособный к азосочетанию диазогидрат:



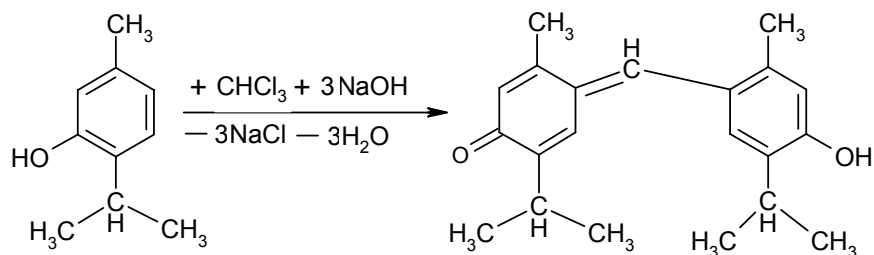
Реакции окисления и конденсации

Широко используются в анализе для подтверждения подлинности как открытого, так и заблокированного фенольного гидроксила.

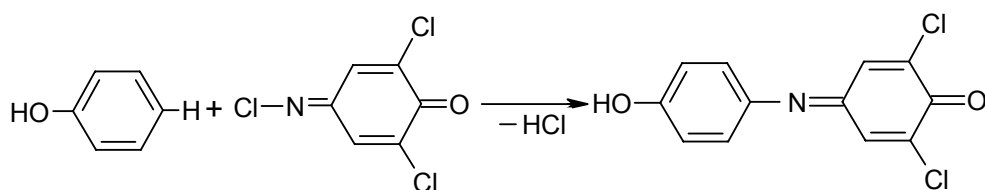
Образование арилметановых красителей происходит при конденсации фенолов с альдегидами, ангидридами кислот, кетонами:



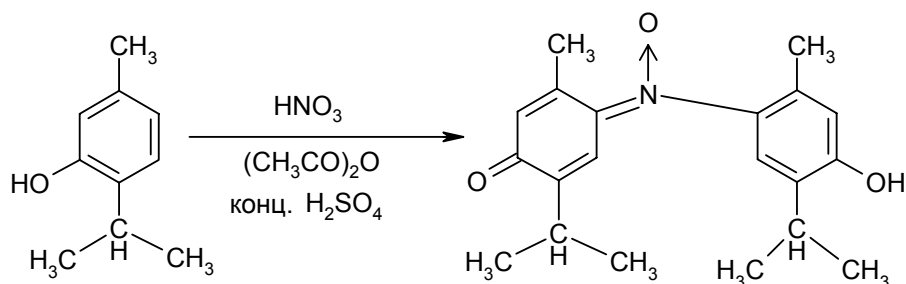
Для тимола предлагается реакция конденсации с хлороформом в щелочной среде. Продукт реакции окрашен в красно-фиолетовый цвет:



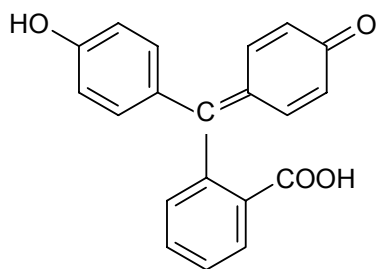
Для фенолов со свободным п-положением характерна реакция конденсации с 2,6-дихлорхинонхлоримидом, при этом образуется индофенол:



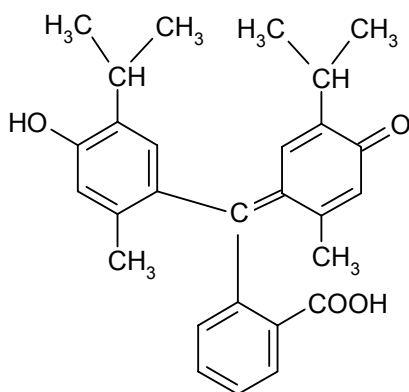
Образование производного индофенола возможно при нитровании тимола в среде уксусного ангидрида и концентрированной серной кислоты:



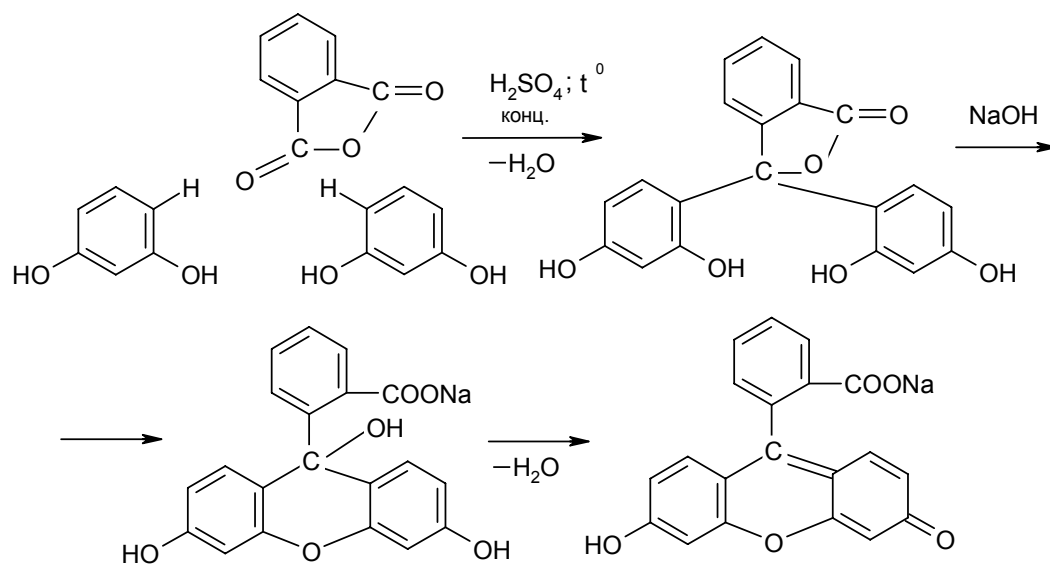
Часто используются реакции конденсации фенолов с лактонами (фталевый ангидрид). С фенолом продукт конденсации называется фенолфтаlein и используется как индикатор, имеющий в щелочной среде малиновую окраску:



С тимолом образуется тимолфталейн – индикатор, окрашенный в щелочной среде в синий цвет:



Резорцин сплавляют в фарфоровом тигле с избытком фталевого ангидрида в присутствии нескольких капель кислоты серной концентрированной. Полученный плав желто-красного цвета после охлаждения выливают в разбавленный раствор щелочи. Появляется интенсивно-зеленая флуоресценция образующегося в результате реакции флуоресцеина:



Анализ чистоты

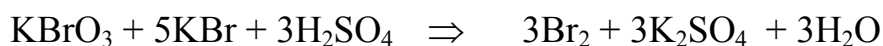
В *резорцине* определяется примесь *пирокатехина* по реакции с аммония молибдатом. При наличии примеси появляется окраска, интенсивность которой сравнивают с эталоном.

Другая примесь в препарате резорцина – *фенол*. Примесь фенола определяют по запаху, для этого препарат с небольшим количеством воды нагревают на водяной бане при температуре 40 – 50 °С.

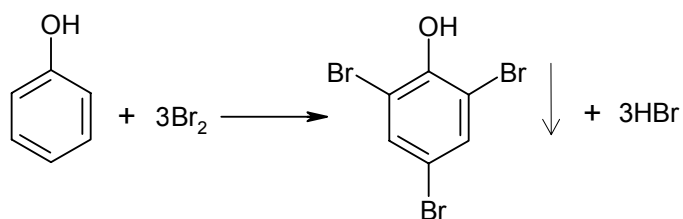
В *тимоле* определяют примесь *фенола* по реакции с железа (III) хлоридом. По условию методики ГФ концентрация тимола вследствие малой его растворимости 0,085 %. Окраска комплекса тимола с железа хлоридом при такой концентрации не воспринимается. При наличии примеси фенола в тех же условиях появляется фиолетовая окраска. Примесь фенола в препарате недопустима.

Количественное определение

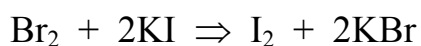
Для количественного определения фенолов используется броматометрия: как прямой способ (тимол), так и обратный (фенол, резорцин, синэстрол). В склянку с притертой пробкой помещают препарат, избыток титрованного раствора калия бромата и калия бромида. Подкисляют серной кислотой:



Выделившийся в результате реакции бром идет на галогенирование фенола:



Реакция протекает в течение 10 – 15 минут, на это время склянку оставляют в темном месте. После этого к смеси прибавляют раствор калия йодида, оставляют еще на 5 минут:



Прямое титрование принято ГФ для количественного определения тимола. В прямом титровании избыточная капля йода изменяет окраску индикаторов (метилового оранжевого, метилового красного).

В обратном титровании выделившийся йод оттитровывают раствором тиосульфата натрия. Индикатор – крахмал.

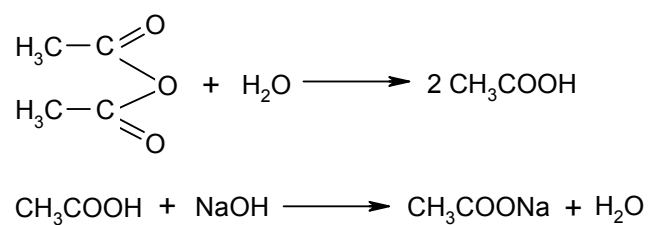
Следует помнить, что на процесс бромирования влияют условия определения: длительность реакции, концентрация кислоты.

Молярные массы эквивалентов следующие:

Фенол	1/6 М.м.
Резорцин	1/6 М.м.
Тимол	1/4 М.м.
Синэстрол	1/8 М.м.

В обратном способе обязательно проводят контрольный опыт.

Ацетилирование применяется для количественного определения синэстрола и диэтилстильбэстрола. Навеску препарата помещают в колбу с избытком уксусного ангидрида и нагревают в течение 45 минут в присутствии пиридина (реакцию см. ранее). Затем в реакционную среду добавляют воду, непрореагировавший уксусный ангидрид гидролизуется. Уксусную кислоту оттитровывают стандартным раствором натрия гидроксида:



Проводят контрольный опыт. Молярная масса эквивалента равна 1/2 молярной массы препарата.

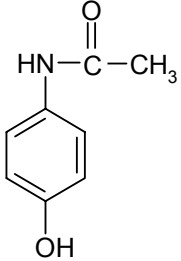
2. ПРОИЗВОДНЫЕ п-АМИНОФЕНОЛА

К данной группе относится лекарственное вещество парацетамол (см. табл. 2). Парацетамол является многофункциональным соединением, так как его молекула, наряду с фенольным гидроксилем, содержит блокированную остатком уксусной кислоты первичную ароматическую аминогруппу (которую можно рассматривать и как карбамидную группу). Исходя из этого, анализ качества лекарственного вещества базируется на свойствах каждой из функциональных групп и их сочетания.

Кислотные свойства

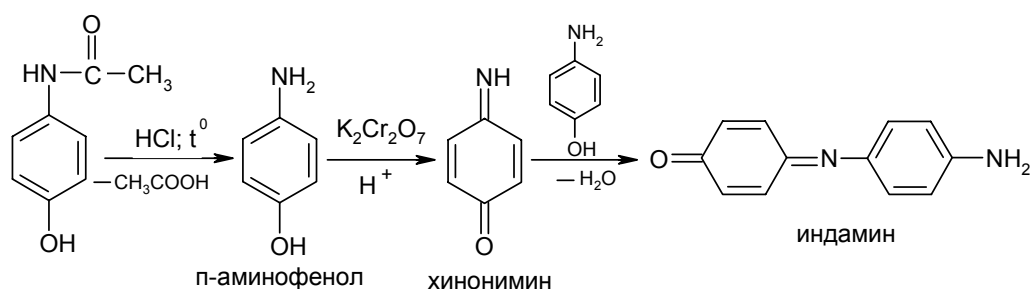
За счет фенольного гидроксила препарат образует со щелочами, с солями тяжелых металлов – феноляты. Соль парацетамола с железа (III) хлоридом окрашена в сине-фиолетовый цвет.

Таблица 2. Общие свойства парацетамола

Структурная формула	Описание
	<p>Paracetamolum. Парацетамол. п-Ацетаминофенол Белый или белый с кремоватым или розоватым оттенком кристаллический порошок без запаха. Трудно растворим в воде, легко растворим в 95 % спирте, растворим в ацетоне и растворах едких щелочей, практически нерастворим в эфире. Лекарственные формы: порошок, таблетки. Жаропонижающее, болеутоляющее средство.</p>

Реакция окисления

При кипячении с кислотой хлороводородной разведенной парацетамол подвергается гидролитическому расщеплению с образованием кислоты уксусной и п-аминофенола. Последний окисляется калия дихроматом в хинонимин, который вступает во взаимодействие с непрореагировавшим п-аминофенолом. В результате реакции образуется индаминовый краситель (по свойствам родственный индофенолу) фиолетового цвета:



Образование азокрасителя

Наличием в молекуле парацетамола фенольного гидроксила обусловлена реакция образования азокрасителя. Препарат растворяют в щелочи и добавляют 1-2 капли свежеприготовленной соли диазония. Появляется красное окрашивание.

Азокраситель можно получить также после гидролиза карбамидной группы и получения соли диазония по аминогруппе *p*-аминофенола. В качестве азосоставляющей можно использовать какой-либо фенол (например β -нафтол).

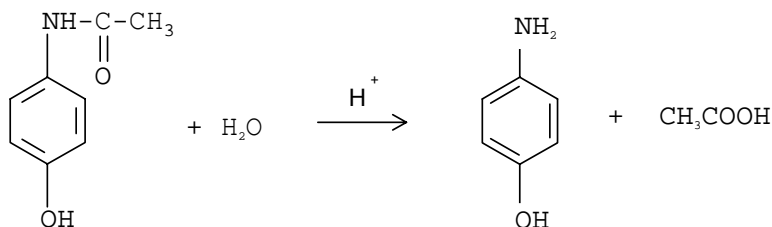
Анализ чистоты

В *парацетамоле* регламентируется примесь *p*-аминофенола (не более 0,01 % в препарате) и *p*-хлорацетанилид (не более 0,001 %). Для идентификации *p*-аминофенола препарат растворяют в спирте метиловом, добавляют раствор натрия нитропруссид и раствор натрия карбоната, через 30 минут сравнивают окраску с раствором сравнения (ФС).

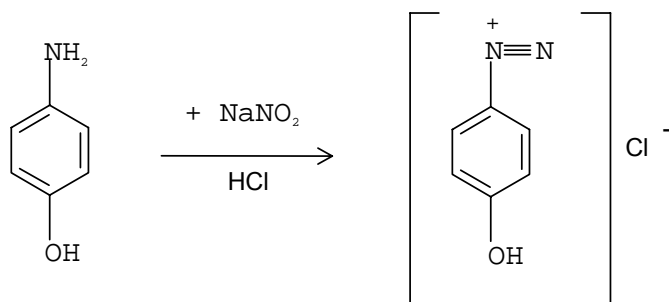
Примесь *p*-хлорацетанилида определяют тонкослойной хроматографией.

Количественное определение

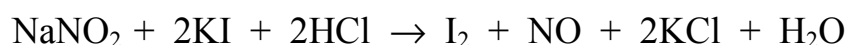
Количественное определение парацетамола проводят с помощью метода нитритометрии. Сначала лекарственное вещество подвергают кислотному гидролизу:



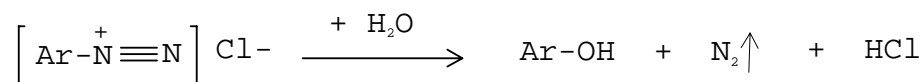
Затем титруют натрия нитритом, используя в качестве индикатора йодкрахмальную бумагу:



В точке эквивалентности натрия нитрит реагирует с калия йодидом, выделившийся йод окрашивает крахмал в синий цвет:



Реакция образования соли диазония идет во времени, поэтому особенностью нитритометрии является медленное титрование. Кроме того, соль диазония из-за неустойчивости необходимо стабилизировать:

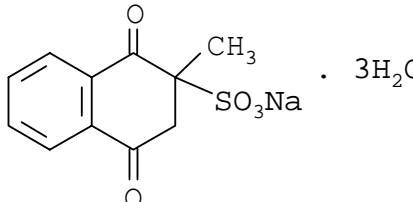


Для этого в реакционную среду добавляют калия бромид, а титрование проводят при температуре 18 – 20 °С.

3. ПРОИЗВОДНЫЕ ХИНОНА

В данной группе рассматривается лишь синтетический препарат *Vikasolum* – водорастворимый витамин К (см. табл. 3).

Таблица 3. Общие свойства викасола

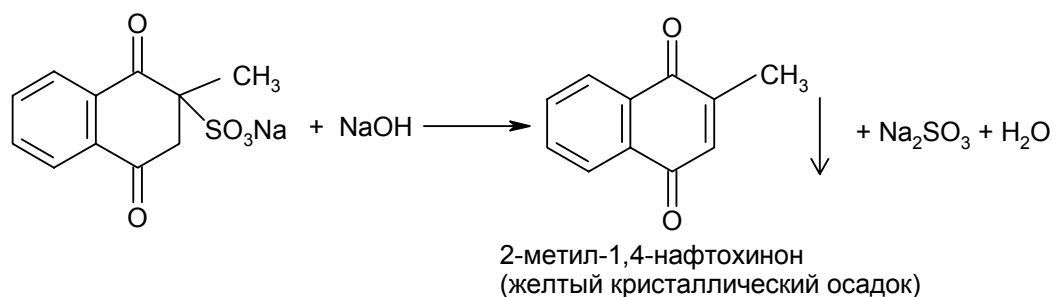
Структурная формула	Описание
	<p>Vikasolum. Викасол. 2,3-Дигидро-2-метил-1,4-нафтохинон-2-сульфонат натрия тригидрат. Белый или белый с желтоватым оттенком кристаллический порошок без запаха. Легко растворим в воде, трудно растворим в 95 % спирте, очень мало растворим в эфире. Лекарственные формы: раствор для инъекций, таблетки. Препарат группы витамина К.</p>

Анализ препарата основан на его лабильности в растворах щелочей и кислот.

Взаимодействие со щелочами

Сущность реакции заключается в том, что при действии щелочи натрия бисульфит, производным которого является викасол, переходит в натрия сульфит, с которым 2-метил-1,4-нафтохинон уже не образует растворимое соединение. В результате выпадает 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 °С):



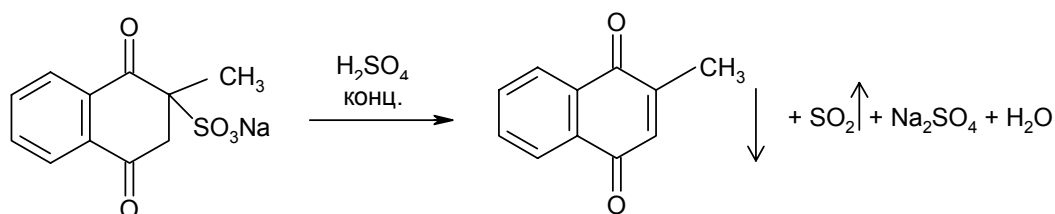
Сульфит натрия определяют после удаления избытка щелочи раствором йода по реакции обесцвечивания йода. Сам препарат с йодом не взаимодействует.



Неустойчивость викасола в щелочной среде определяет требование ГФ к прозрачности и цветности при испытании на чистоту. Реакция используется и для количественного анализа примеси натрия бисульфита йодометрическим методом.

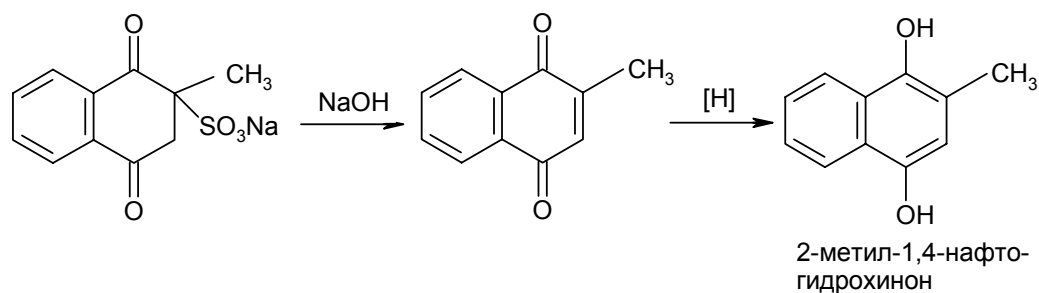
Определение остатка сульфоната натрия

К навеске викасола добавляют кислоту серную концентрированную — ощущается запах сернистого газа:

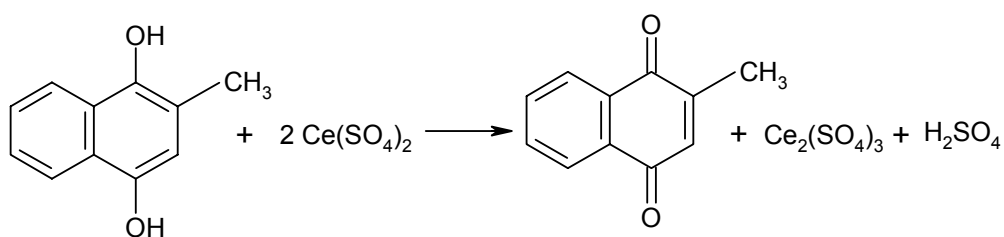


Количественное определение

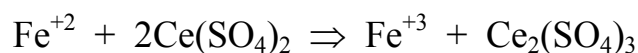
Цериметрический метод. Предварительно на препарат действуют щелочью, 2-метил-1,4-нафтохинон извлекают хлороформом и восстанавливают водородом (образуется при действии кислоты хлороводородной на цинковую пыль) в 2-метил-1,4-нафтогидрохинон:



Гидрохинон оттитровывают церия (IV) сульфатом по индикатору ферроину:



В индикатор входит Fe^{+2} , при действии на индикатор избыточной капли титранта происходит окисление до Fe^{+3} , окраска индикатора меняется:



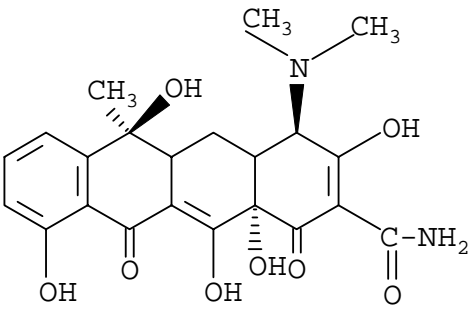
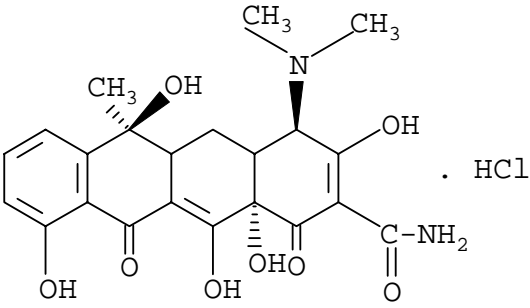
4. ТЕТРАЦИКЛИНЫ

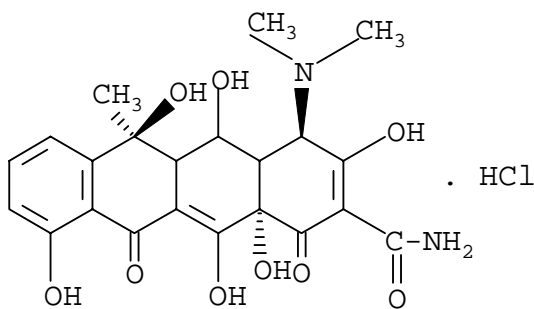
Группа тетрациклинов включает ряд природных антибиотиков, к которым относятся тетрациклин, окситетрациклин, а также полусинтетические тетрациклины – метациклин, доксициклин (см. табл. 4).

По химической структуре тетрациклины принадлежат к ряду частично гидрированных производных нафтацена, содержащих несколько функциональных групп (фенольный, енольные и спиртовые гидроксилы, карбамидная группа, алифатическая аминогруппа, оксогруппа).

Из рассматриваемой группы тетрациклины окрашены в желтый цвет. Окраска обусловлена наличием хромофоров в структуре препаратов. Это обстоятельство обуславливает способность тетрациклинов поглощать как в ультрафиолетовой, так и в видимой областях спектра (см. табл. 5).

Таблица 4. Общие свойства тетрациклинов

Структурная формула	Описание
	<p>Tetracyclinum. Тетрациклин. 4-диметиламино-1,4,4а,5,5а,6,11,12а-октагидро-3,6,10,12,12а-пентаокси-6-метил-1,11-дикетонафтацен-2-карбоксамид Желтый кристаллический порошок без запаха, горького вкуса. При хранении на свету темнеет. Очень мало растворим в воде, трудно растворим в 95 % спирте. Лекарственные формы: таблетки, покрытые оболочкой. Антибиотик.</p>
	<p>Tetracyclini hydrochloridum. Тетрациклина гидрохлорид. 4-диметиламино-1,4,4а,5,5а,6,11,12а-октагидро-3,6,10,12,12а-пентаокси-6-метил-1,11-дикетонафтацен-2-карбоксамид гидрохлорид. Желтый кристаллический порошок без запаха, горького вкуса. Водные растворы становятся мутными при стоянии, вследствие осаждения основания тетрациклина. Растворим в 10 ч. воды и 100 ч. 95 % спирта Лекарственные формы: во флаконах по 0,1 г (100 000 ЕД); таблетки; таблетки, покрытые оболочкой красного цвета; капсулы; мазь и глазная мазь. Антибиотик.</p>



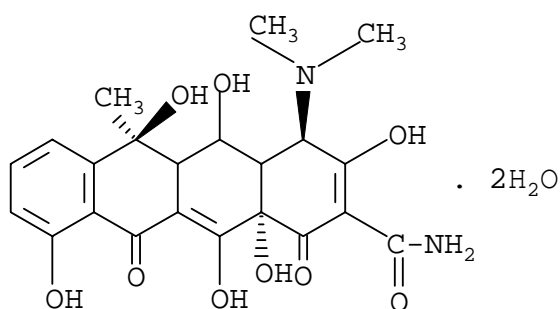
Oxytetracyclini hydrochloridum.

Окситетрациклина гидрохлорид.

4-диметиламино-1,4,4а,5,5а,6,11,12а-октагидро-3,5,6,10,12,12а-гексаокси-6-метил-1,11-дикетонафтацен-2-карбоксамид гидрохлорид.

Желтый кристаллический порошок без запаха, горького вкуса. Раствор при стоянии мутнеет. При хранении на свету темнеет. Растворим в 3 ч. воды и трудно растворим в 95 % спирте

Лекарственные формы: мазь; аэрозоль.



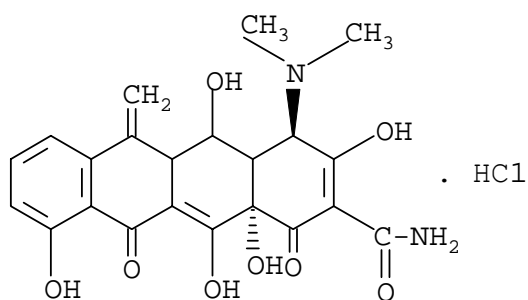
Oxytetracyclini dihydras. Окситетрациклина дигидрат.

4-диметиламино-1,4,4а,5,5а,6,11,12а-октагидро-3,5,6,10,12,12а-гексаокси-6-метил-1,11-дикетонафтацен-2-карбоксамид дигидрат.

Светло-желтый кристаллический порошок без запаха. При хранении на свету темнеет.

Мало растворим в воде, легко растворим в разбавленных кислотах и щелочах.

Лекарственные формы: таблетки; глазная мазь.



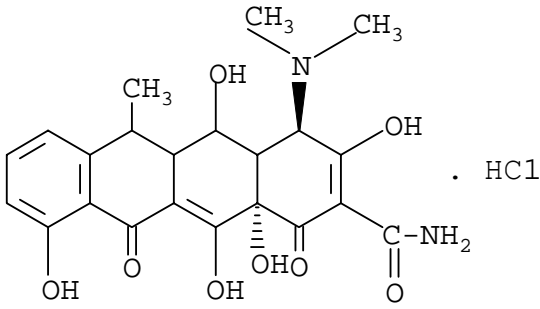
Methacyclini hydrochloridum. Метациклина гидрохлорид

6-Дезокси-6-дезметил-6-метилен-5-окситетрациклина гидрохлорид

Желтый кристаллический порошок без запаха, горького вкуса.

Медленно растворим в воде (1:80).

Лекарственные формы: капсулы

	<p>Doxycyclini hydrochloridum. Док- сициклина гидрохлорид. 6-Дезокси-5-окситетрациклина гид- рохлорид Желтый кристаллический порошок. Медленно растворим в 3 ч. воды. Лекарственные формы: желатиновые капсулы.</p>
---	--

Исследуемые соединения имеют характерные спектры в УФ-области света, что используется в анализе. Наличие в спектре определенных полос поглощения может указывать на определенные группы в структуре этого вещества. Характер спектра у производных фенола может изменяться в зависимости от значения pH раствора.

Таблица 5. Спектральные характеристики некоторых лекарственных средств (фенолов и тетрациклина)

Название лекарственного вещества	Растворитель	Концентрация, %	λ_{\max} , нм
Фенол	Водно-спиртовой раствор (1:2)	0,003 %	270 ± 2 нм
Резорцин	- « -	0,003 %	275 ± 2 нм
Синэстрол	0,1М раствор NaOH	0,0006 %	240 ± 2 нм
Тетрациклин	0,1М раствор HCl	0,01 %	220 ± 2 нм 265 ± 2 нм 335 ± 2 нм
Ацетилсалициловая кислота	0,1 М раствор H ₂ SO ₄	0,001 %	228 ± 2 нм 276 ± 2 нм

Кислотно-основные свойства тетрациклинов

Тетрациклины являются амфотерными соединениями. Диметиламиногруппа обладает основными свойствами, поэтому тетрациклины обра-

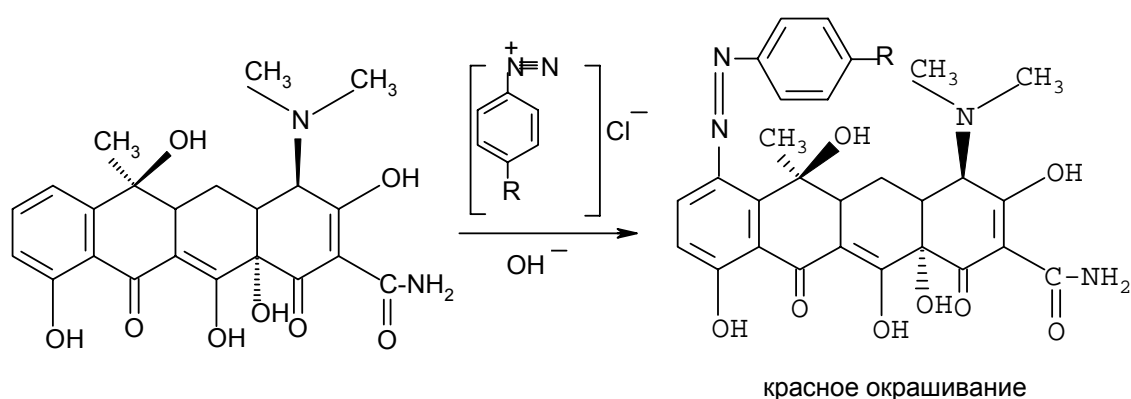
зуют соли с органическими и неорганическими кислотами. Реакция используется в количественном определении – кислотно-основное титрование в неводных средах.

За счет енольных и фенольных гидроксильных групп они проявляют кислотные свойства и могут образовывать растворимые соли с гидроксидами щелочных металлов. Тетрациклины также образуют нерастворимые окрашенные хелатные комплексы с поливалентными катионами. Для идентификации тетрациклинов применяются реакции образования окрашенных солей с железом (III) хлоридом.

Кроме того, можно провести ряд реакций на фенольный гидроксил, например, реакцию образования азокрасителя.

Образование азокрасителя

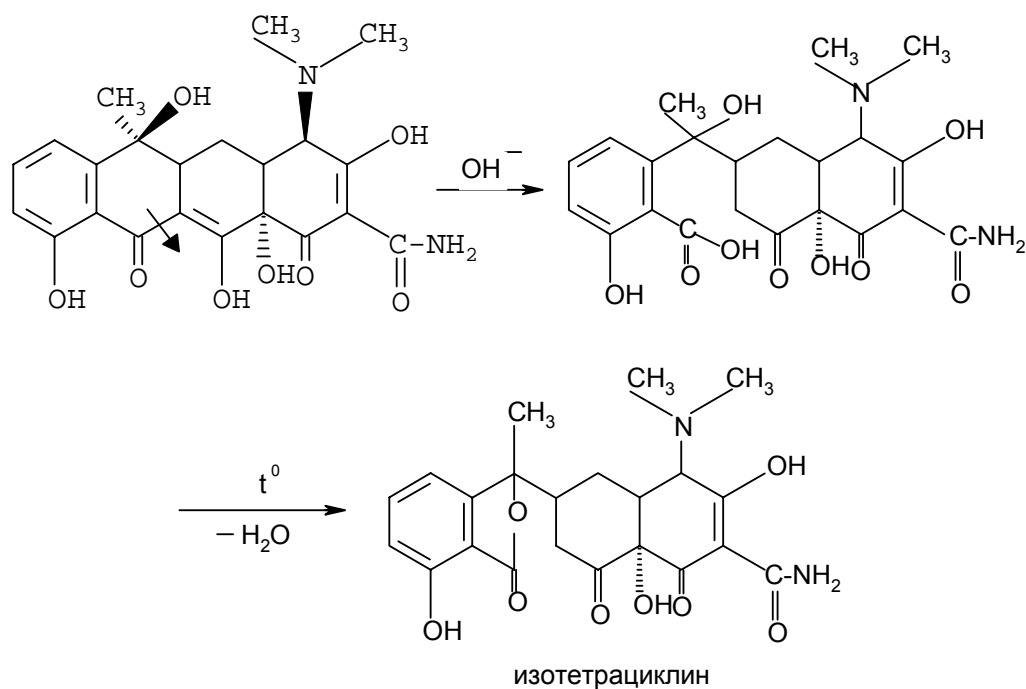
Тетрациклин растворяют в растворе гидроксида натрия и добавляют 1 – 2 капли соли диазония. Соль диазония из-за нестойкости готовят непосредственно перед проведением испытания, при этом используют соединения с первичной ароматической аминогруппой:



Данная реакция используется для качественного и количественного анализа (фотоэлектроколориметрический метод).

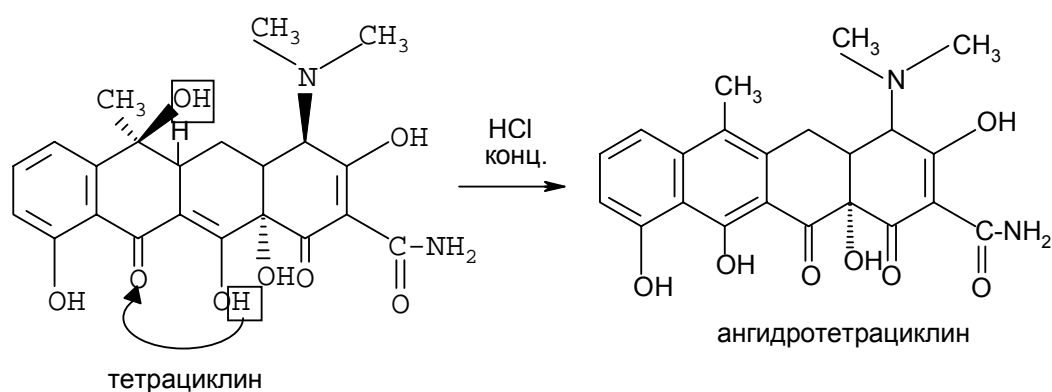
Реакция изомеризации под действием щелочи

В щелочной среде протекает изомеризация тетрациклинов с образованием окрашенных в желтый цвет флуоресцирующих продуктов. Эта реакция используется для идентификации и спектрофотометрического количественного определения тетрациклинов (λ_{\max} 380 нм):



Образование ангидротетрациклина

В сильноокислой среде, например, при действии кислоты хлороводородной концентрированной, тетрациклины превращаются в ангидротетрациклины, которые имеют темно-желтую окраску ($\lambda_{\max} = 437 \text{ нм}$) и желтую флуоресценцию в УФ-свете:

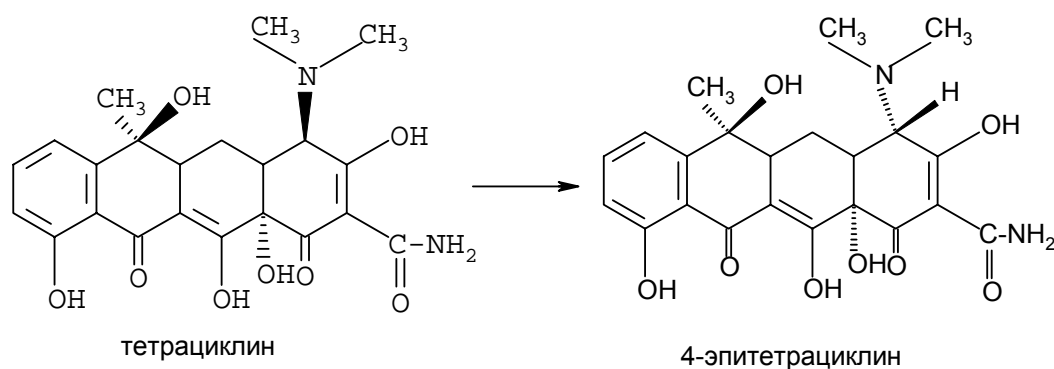


Реакция отличия тетрациклина от окситетрациклина

Для отличия тетрациклина от окситетрациклина используют кислоту серную концентрированную. На первой стадии образуется ангидротетрациклин, а затем проходит реакция окисления с образованием окрашенных в различный цвет продуктов: тетрациклины – фиолетовое окрашивание, окситетрациклины – вишнево-красное.

Анализ чистоты

Тетрациклины вследствие наличия ациклической структуры колец А, В, С их молекул, а также фенольного гидроксила неустойчивы и в процессе хранения могут образовывать неактивные или токсичные продукты: 4-эпитетрациклины, которые необходимо учитывать при оценке качества. Эти примеси можно обнаружить методом тонкослойной хроматографии с применением соответствующих стандартных образцов:



Количественное определение

Фармакопейным методом количественного определения тетрациклинов является метод диффузии в агар с тест-микробами.

5. АРОМАТИЧЕСКИЕ КИСЛОТЫ И АМИНОКИСЛОТЫ

К данной группе лекарственных средств относятся кислота бензойная и ее натриевая соль, кислота салициловая и ее натриевая соль, сложные эфиры кислоты салициловой – фенолсалицилат, кислота ацетилсалициловая; амиды кислоты салициловой – салициламид, оксафенамид; производные кислоты пара-аминосалициловой – натрия пара-аминосалицилат; производные орто- замещенного амина – кислота мефенамовая и натрия диклофенак.

Среди них лекарственные средства природного происхождения (кислоты бензойная, салициловая, ацетилсалициловая), а также синтетические соединения.

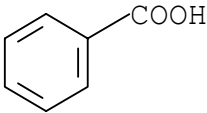
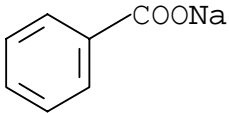
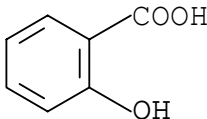
Фармакологическое действие у перечисленных лекарственных средств разнообразное: антисептическое (кислота бензойная, натрия салицилат, фенолсалицилат), противовоспалительное (кислота ацетилсалици-

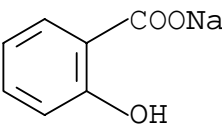
ловая, кислота мефенамовая, натрия диклофенак), желчегонное средство – оксафенамид, местноанестезирующее (анестезин, новокаин).

Свойства лекарственных веществ данной группы представлены в таблице 6.

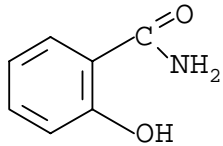
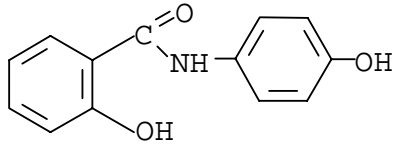
Таблица 6. Свойства лекарственных веществ группы ароматических кислот, ароматических аминокислот и их производных

Производные ароматических кислот

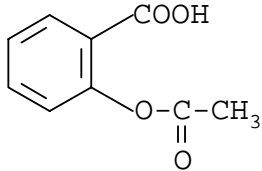
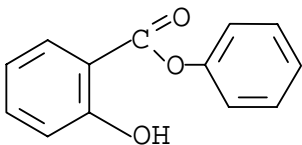
Структурная формула	Описание
	<p>Acidum benzoicum. Кислота бензойная. Бесцветные игольчатые кристаллы или белый мелкокристаллический порошок. При нагревании возгоняется. Мало растворим в воде, растворим в кипящей воде, легко растворим в спирте, хлороформе, растворим в жирных маслах. Лекарственные формы: порошок, мази. Антисептическое средство.</p>
	<p>Natrii benzoas. Натрия бензоат. Белый кристаллический порошок без запаха. Легко растворим в воде, трудно растворим в спирте. Лекарственные формы: порошок, раствор для в/в введения, микстуры. Отхаркивающее средство.</p>
	<p>Acidum salicylicum. Кислота салициловая. Белые мелкие игольчатые кристаллы или легкий кристаллический порошок без запаха. Летуч с водяным паром. При осторожном нагревании возгоняется. Мало растворим в воде, растворим в кипящей воде, легко растворим в спирте, эфире, трудно растворим в хлороформе. Лекарственные формы: присыпки, мази, пасты, спиртовые растворы. Антисептическое, кератолитическое средство.</p>

	<p>Natrii salicylas. Натрия салицилат. Белый кристаллический порошок или мелкие чешуйки. Легко растворим в воде, легко растворим в глицерине, растворим в спирте, практически нерастворим в эфире. Лекарственные формы: порошок, таблетки, раствор в ампулах. Противоревматическое, противовоспалительное, болеутоляющее, жаропонижающее средство.</p>
---	---

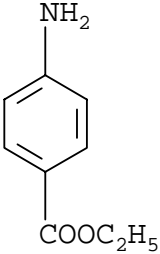
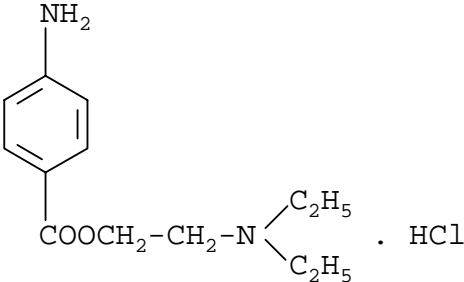
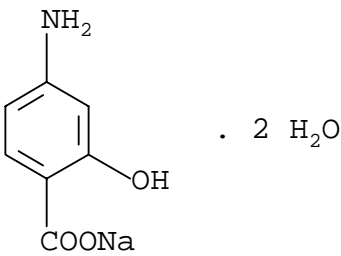
Амиды салициловой кислоты

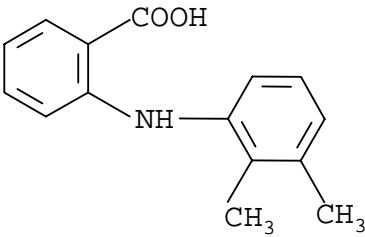
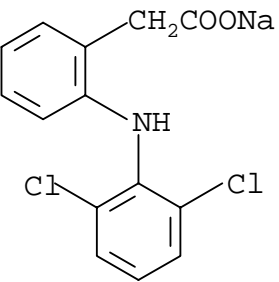
Структурная формула	Описание
	<p>Salicylamidum. Салициламид. Белый кристаллический порошок без запаха. При нагревании возгоняется. Очень мало растворим в воде, растворим в 95 % спирте, эфире, мало растворим в хлороформе. Лекарственные формы: порошок и таблетки по 0.25 и 0.5 г. Противоревматическое, противовоспалительное, болеутоляющее, жаропонижающее средство.</p>
	<p>Oxaphenamidum. Оксафенамид. п-Оксифенилсалициламид. Белый или белый с лиловато-серым оттенком порошок без запаха. Практически нерастворим в воде, легко растворим в 95 % спирте и растворах щелочей, трудно растворим в эфире. Лекарственные формы: порошок, таблетки Желчегонное средство.</p>

Сложные эфиры салициловой кислоты

Структурная формула	Описание
	<p>Acidum acetylsalicylicum. Кислота ацетилсалициловая. Салициловый эфир уксусной кислоты. Бесцветные кристаллы или белый кристаллический порошок без запаха или со слабым запахом, слабокислого вкуса. Во влажном воздухе постепенно гидролизуется с образованием уксусной и салициловой кислот. Мало растворим в воде, легко растворим в спирте, растворим в хлороформе, эфире, в растворах едких и углекислых щелочей. Лекарственные формы: порошок, таблетки. Действие аналогично натрия салицилату, но ввиду того, что фенольный гидроксил заблокирован, раздражающее действие меньше.</p>
	<p>Phenylii salicylas. Фенилсалицилат. Фениловый эфир салициловой кислоты. Белый кристаллический порошок или мелкие бесцветные кристаллы со слабым запахом. Практически нерастворим в воде, растворим в спирте и растворах едких щелочей, легко растворим в хлороформе, очень легко – в эфире. Лекарственные формы: порошок, таблетки по 0.25 и 0.5 г. Антисептическое средство, применяется внутрь при заболеваниях кишечника и мочевых путей.</p>

Производные ароматических аминокислот

Структурная формула	Описание
	<p>Anaesthesinum. Анестезин. Этиловый эфир п-аминобензойной кислоты. Белый кристаллический порошок без запаха, слабо горького вкуса. Вызывает на языке чувство онемения. Очень мало растворим в воде, легко растворим в спирте, эфире, хлороформе, трудно растворим в жирных маслах и разведенной соляной кислоте. Лекарственные формы: порошок, таблетки, мазь. Местноанестезирующее средство.</p>
	<p>Novocainum. Новокаин. β-Диэтиламиноэтилового эфира п-аминобензойной кислоты гидрохлорид. Бесцветные кристаллы или белый кристаллический порошок, без запаха, горького вкуса. Вызывает на языке чувство онемения. Очень легко растворим в воде, легко растворим в спирте, мало в хлороформе. Лекарственные формы: порошок, растворы для инъекций. Местноанестезирующее средство.</p>
	<p>Natrii para-aminosalicylas. Натрия пара-аминосалицилат. Натриевая соль п-аминосалициловой кислоты дигидрат. Белый или белый со слегка желтоватым или слегка розоватым оттенком мелкокристаллический порошок.</p>

	<p>Водные растворы при стоянии темнеют.</p> <p>Легко растворим в воде, трудно растворим в спирте.</p> <p>Лекарственные формы: порошок, таблетки, раствор во флаконах.</p> <p>Противотуберкулезное средство.</p>
	<p>Acidum mefenamicum. Кислота мекфенамовая.</p> <p>N-(2,3-Диметилфенил)-антраниловая кислота.</p> <p>Кристаллический порошок серовато-белого цвета. Практически нерастворим в воде, мало растворим в спирте.</p> <p>Лекарственные формы: порошки, таблетки.</p> <p>Анальгезирующее средство.</p>
	<p>Diclofenac-Natrium. натрия диклофенак.</p> <p>Натриевая соль o-[(2,6-дихлорфенил)амино] – фенилуксусной кислоты.</p> <p>Белый кристаллический порошок.</p> <p>Трудно растворим в воде.</p> <p>Лекарственные формы: порошок, таблетки.</p> <p>Противовоспалительное, анальгезирующее средство.</p>

Все лекарственные средства этой группы представляют собой кристаллические вещества белого цвета, натрия п-аминосалицилат может иметь желтоватый или розоватый оттенок, кислота мекфенамовая – порошок сероватого цвета.

Исследуемые лекарственные препараты имеют характерные спектры поглощения в УФ-области. Например 0,007% раствор кислоты ацетилсалициловой в хлороформе имеет максимум при длине волны 278 нм; 0,02%

раствор кислоты мефенамовой в смеси метанола и кислоты хлороводородной– при 279 и 350 нм.

Растворимость

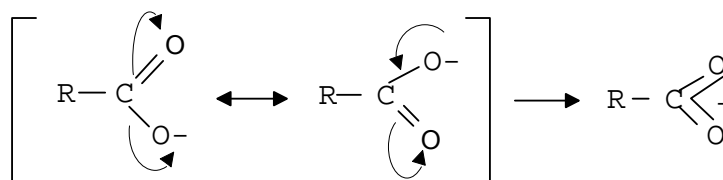
Не растворимы в воде кислоты (бензойная, салициловая), их эфиры (фенилсалицилат, кислота ацетилсалициловая, анестезин) и амиды.

Растворимы в воде: соли щелочных металлов (натрия бензоат, натрия салицилат, натрия п-аминсалицилат), соль органического основания и минеральной кислоты (новокаин). Исключение – натрия диклофенак, который, являясь солью, трудно растворим в воде.

Ароматические кислоты и их производные

Кислотные свойства

Кислотные свойства ароматических кислот более выражены, чем у кислот жирного ряда и угольной кислоты. Это объясняется влиянием ароматического ядра. Кислотные свойства обусловлены подвижностью протона водорода к карбоксильной группе, при этом образуется резонансный стабилизированный анион, у которого отрицательный заряд распределяется поровну между электроотрицательными атомами кислорода:

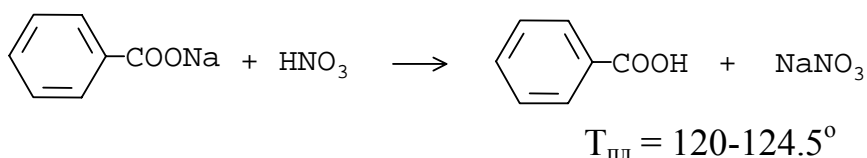


Значение pK_a кислот следующие:

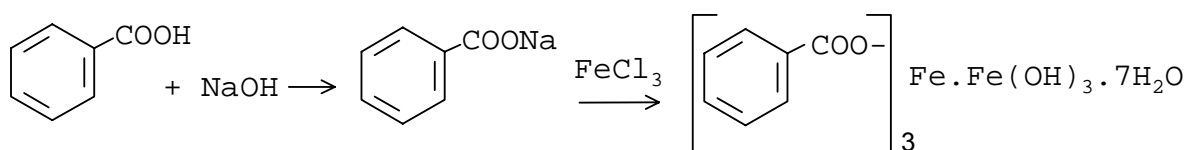
угольная кислота	6,12
уксусная кислота	4,76
бензойная кислота	4,18
салициловая кислота	3,00

Ароматические кислоты взаимодействуют со щелочами, а также, в отличие от фенолов, и с гидрокарбонатами щелочных металлов. В медицине применяются натриевые соли бензойной и салициловой кислот.

Если на соль подействовать кислотой азотной, то происходит вытеснение ароматической кислоты и выпадение ее в осадок. ГФ рекомендует проводить определение их температуры плавления.

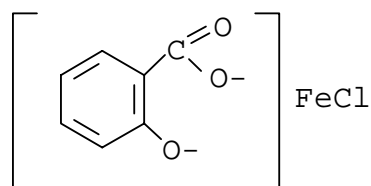


С солями тяжелых металлов изучаемые вещества образуют окрашенные осадки или окрашенные комплексы различного состава. Кислотные формы предварительно переводят в хорошо диссоциируемую соль путем добавления эквивалентного количества щелочи. Необходимо избегать избытка реактива, так как гидроксид тяжелого металла маскирует окраску комплекса:



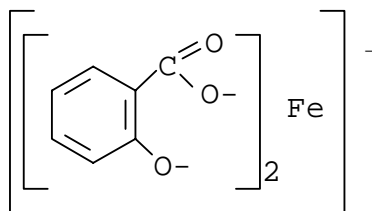
Часто окраска и состав комплекса зависят от соотношения реактива и препарата, а также от pH среды.

При pH 2,0 – 3,0 образуется окрашенный в фиолетовый цвет моносалицилат,

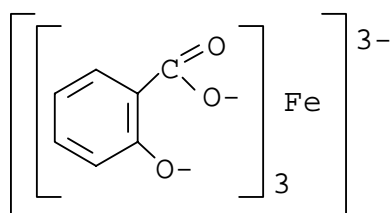


который разрушается при добавлении кислоты хлороводородной, а при добавлении кислоты уксусной окраска сохраняется.

При pH 3,0 – 8,0 образуется дисалицилат красного цвета:



При pH 8,0 – 10,0 образуется трисалицилат желтого цвета:



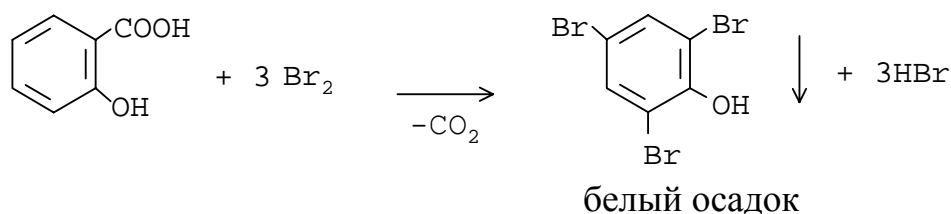
Реакции используются также и для открытия примеси кислоты салициловой, натрия салицилата и фенола в фенолсалицилате. Фенолсалицилат практически нерастворим в воде, поэтому указанные примеси открываются в водной вытяжке, полученной из препарата.

Примесь свободной кислоты салициловой в кислоте ацетилсалициловой определяется по образованию окрашенного комплекса с ионами железа (III).

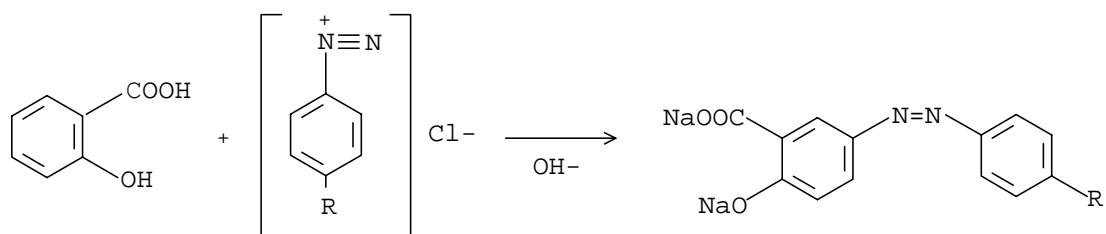
Реакции электрофильного замещения

Кислота салициловая, являясь полифункциональным соединением, вступает в реакции, которые характерны для фенолов:

- бромирование:



- образование азокрасителя с солями диазония:



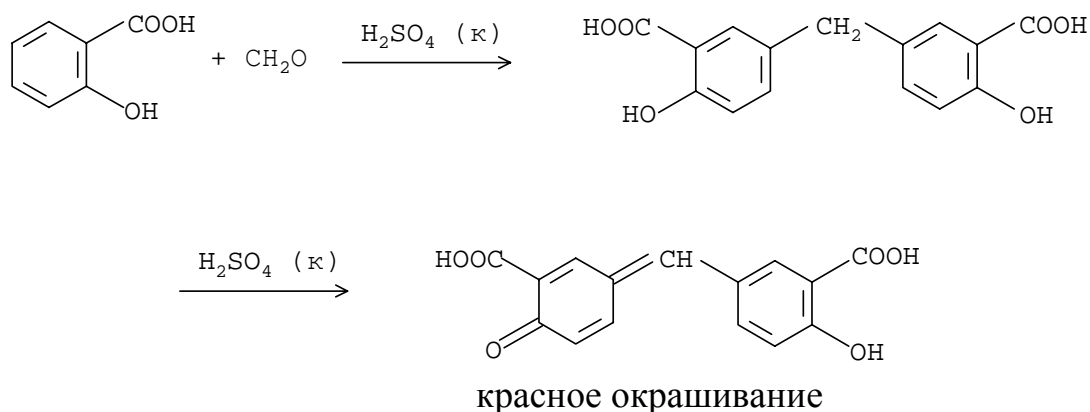
Образование азокрасителя наблюдается по появлению чаще всего красного окрашивания или красного осадка. У кислоты салициловой и ее соли наблюдается желтое, переходящее в розовое окрашивание.

Соль диазония из-за своей нестойкости готовят непосредственно перед проведением реакции, используя соединения, содержащие первичную ароматическую аминогруппу.

Реакции конденсации и окисления

Образование арилметанового красителя происходит в присутствии реактива Марки, при этом кислота серная концентрированная на первой

стадии является водоотнимающим агентом, а на второй стадии – окислителем:



Анализ чистоты

В кислоте бензойной определяется примесь *фталевой кислоты*. Препарат растворяют в бензоле. Не должно быть мути - нерастворимой в бензоле - фталевой кислоты.

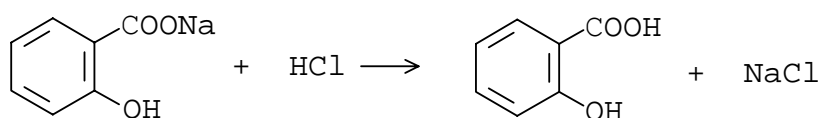
На наличие примеси *фенола и оксидифенила* проверяется *кислота салициловая*. Определение *фенола* проводят по цвету сухого остатка, полученного после испарения спирта из раствора препарата в данном растворителе.

Примеси *оксидифенила* не должно быть больше 0,1 %. Препарат переводят в натриевую соль, для этого его помещают в раствор натрия карбоната. Оксидифенил, являясь производным фенола, не взаимодействует с натрия карбонатом. Затем примесь извлекают эфиром, эфир выпаривают, сухой остаток оксидифенила взвешивают.

Количественное определение

Количественное определение ароматических кислот проводят методом алкалометрии с индикатором фенолфталеином. В результате реакции образуется соль сильного основания и слабой органической кислоты, такая соль легко гидролизуется и, следовательно, окраска индикатора может измениться до наступления точки эквивалентности. Для подавления гидролиза в анализе используют спирт.

Количественный анализ бензоата и салицилата натрия проводят ацидиметрически по метиловому оранжевому:



Титруют в присутствии эфира для удаления из реакционной среды кислот, которые имеют рН 2,5 – 3,0 и могут изменить окраску индикатора до наступления точки эквивалентности.

Амиды салициловой кислоты

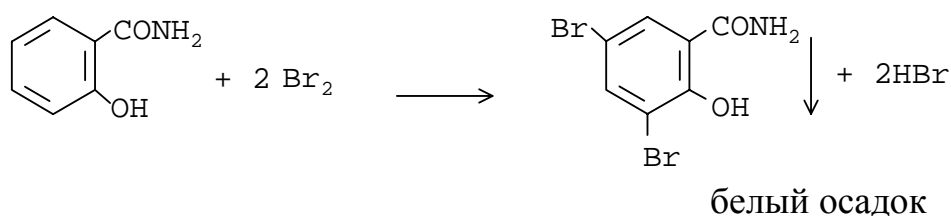
Кислотные свойства

Салициламид и оксафенамид образуют соли со щелочами и с солями тяжелых металлов. Препараты плохо растворимы в воде, поэтому их встряхивают в воде (салициламид) или растворяют в водно-спиртовом растворе (оксафенамид), затем добавляют раствор железа (III) хлорида.

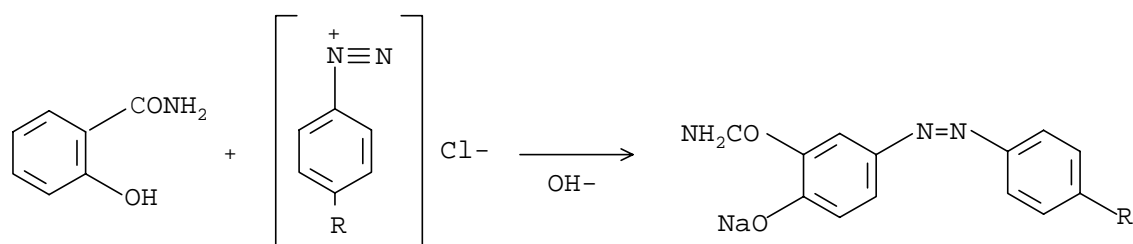
Реакции электрофильного замещения

Являясь производными фенола, данные соединения вступают в реакции электрофильного замещения:

- бромирование:



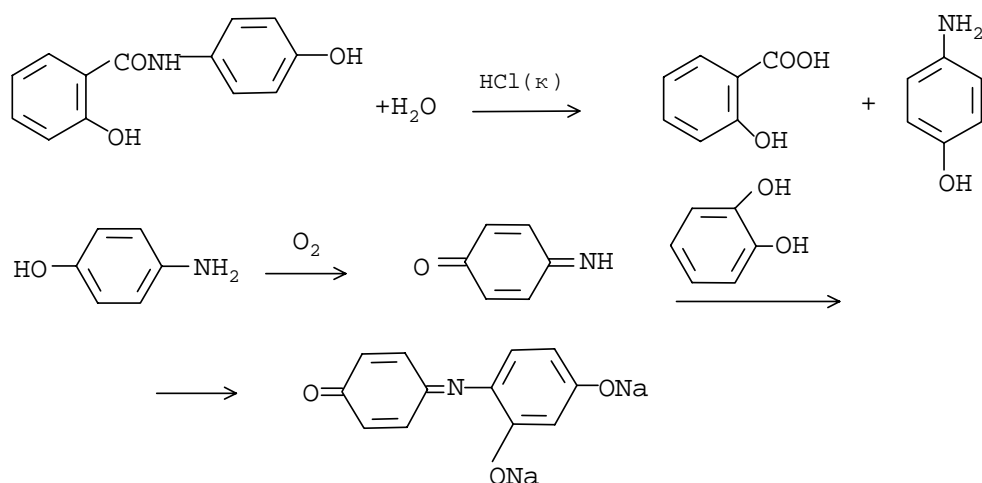
- образование азокрасителя:



Гидролитическое расщепление

Амиды неустойчивы в кислой и щелочной среде – гидролизуются. При нагревании салициламида с 30 % раствором натрия гидроксида выделяется аммиак, который обнаруживается по изменению цвета красной лакмусовой бумаги.

Гидролиз оксафенамида проводят в среде кислоты хлороводородной концентрированной, продукт гидролиза *p*-аминофенол легко окисляется кислородом воздуха в щелочной среде, до хинонимина. Продукт конденсации хинонимина с резорцином (индофенол) окрашен в красно-фиолетовый цвет:

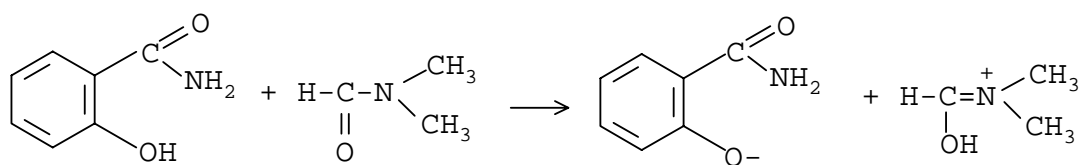


Анализ чистоты

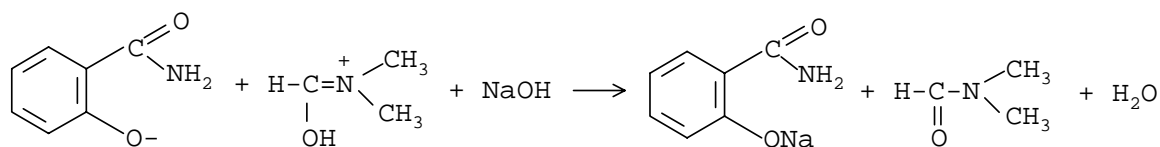
В оксафенамиде не должно быть примеси *p*-аминофенола, который обнаруживается по фиолетовой окраске индофенола. Предварительно примесь отделяют от препарата, который также образует индофенол. Примесь, в отличие от оксафенамида, растворяется в воде, в щелочной среде окисляется кислородом воздуха и при добавлении резорцина образует индофенол.

Количественное определение

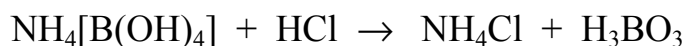
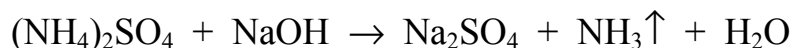
Салициламид: кислотно-основное титрование в неводной среде (диметилформамид) с индикатором ализариновым желтым. В среде диметилформамида происходит депротонирование препарата:



Затем ионная пара взаимодействует с титрантом:



Для количественного определения оксафенамида используют метод Кьельдаля. Препарат сжигают в течение трех часов с кислотой серной концентрированной, азот препарата переходит в сульфат аммония, затем его вытесняют щелочью и улавливают кислотой борной. Аммонийную соль борной кислоты оттитровывают кислотой хлороводородной:



Индикатор – метиловый оранжевый.

Оксафенамид в таблетках определяют спектрофотометрически по реакции с железа (III) хлоридом.

Эфиры кислоты салициловой

Кислотные свойства

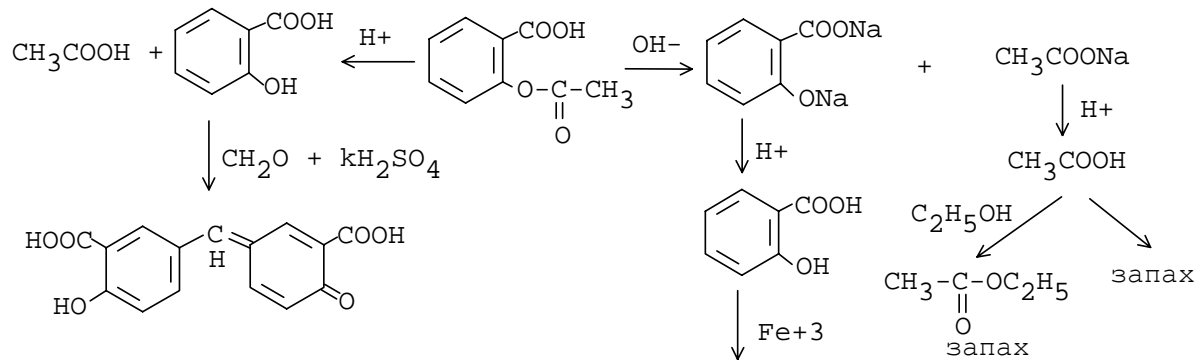
Фенилсалицилат и кислота ацетилсалициловая образуют соли со щелочами. Кроме того, кислота ацетилсалициловая, в отличие от фенилсалицилата, взаимодействует с натрия гидрокарбонатом за счет наличия в ее структуре свободной карбоксильной группы, но не образует комплекс с железа (III) хлоридом.

Фенилсалицилат плохо растворим в воде, поэтому его растворяют в водно-спиртовом растворе, а затем добавляют раствор железа (III) хлорида. Комплекс окрашен в фиолетовый цвет.

Гидролитическое разложение

Известно, что данные соединения легко подвергаются гидролизу под действием кислот, щелочей и воды. Образующиеся после гидролиза вещества открываются соответствующими реакциями.

Например, обнаружение кислоты салициловой осуществляют после гидролиза по образованию комплекса фиолетового цвета с железом (III) хлоридом и арилметанового красителя (красного цвета):



Наиболее лабильна сложноэфирная группа у кислоты ацетилсалициловой. Поэтому необходимо предпринимать особые предосторожности как при количественном определении, так и при хранении.

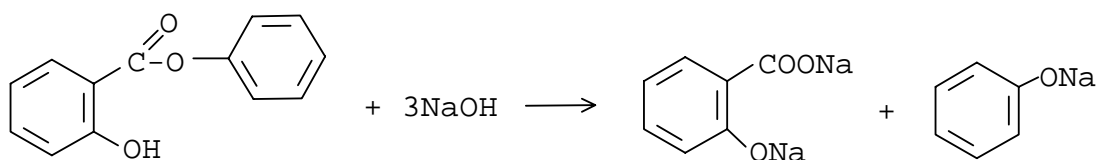
Анализ чистоты

В фенолсалицилате не должно быть примеси кислоты салициловой, натрия салицилата, фенола. Препарат встряхивают с водой, примеси растворяются в воде и при добавлении раствора железа (III) хлорида окрашивают раствор в фиолетовый цвет.

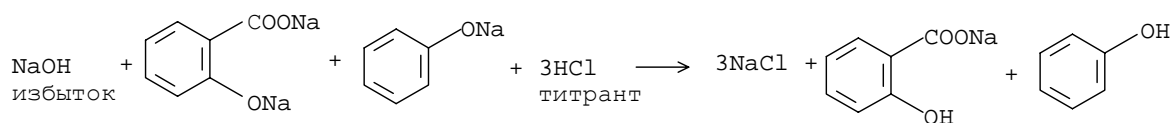
Регламентируется содержание кислоты салициловой в кислоте ацетилсалициловой. Препарат растворяют в спирте (для предотвращения гидролиза сложноэфирной группы), добавляют железо-аммонийные квасцы и измеряют оптическую плотность при длине волны $\lambda = 520$ нм. Содержание примеси не должно превышать более 0,05 %.

Количественное определение

Общий метод для анализа фенолсалицилата и кислоты ацетилсалициловой – метод нейтрализации (обратный способ). В течение 1,5 часов проводят щелочной гидролиз сложного эфира:

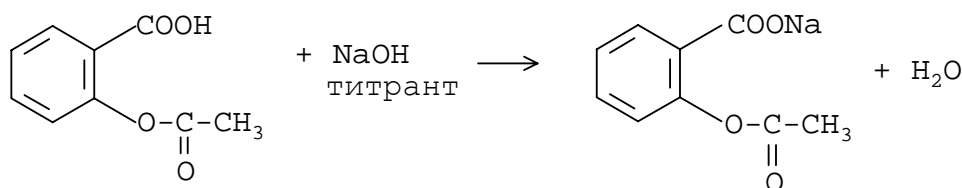


Избыток титрованного раствора щелочи, натрия фенолята, динатриевой соли салициловой кислоты, оттитровывают кислотой хлороводородной по индикатору бромрезоловому пурпурному. Изменение окраски индикатора происходит при переходе динатриевой соли салицилата в моонатриевую соль (рН – нейтральная):



Мэ = М.м.

Для кислоты ацетилсалициловой ГФ предлагает прямой способ метода нейтрализации. Предотвращая гидролиз, препарат растворяют в спирте, определение проводят при 8 – 10 °С:

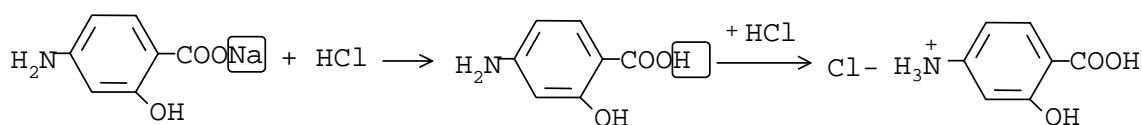


Мэ = М.м. Индикатор – фенолфталеин.

Ароматические аминокислоты

Кисотно-основные свойства

Натрия пара-аминосалицилат – амфотерное соединение, так как, кроме кислотных функций, препарат имеет первичную ароматическую аминогруппу, которая обладает основными свойствами:



Препарат образует комплекс красно-фиолетового цвета с железа (III) хлоридом.

этому он особенно легко окисляется как кислородом воздуха, так и окислителями.

Устойчивая окраска образуется при окислении анестезина хлораминном, продукты окисления в эфире окрашены в оранжевый цвет.

Обесцвечивание раствора калия перманганата происходит при действии его на раствор новокаина.

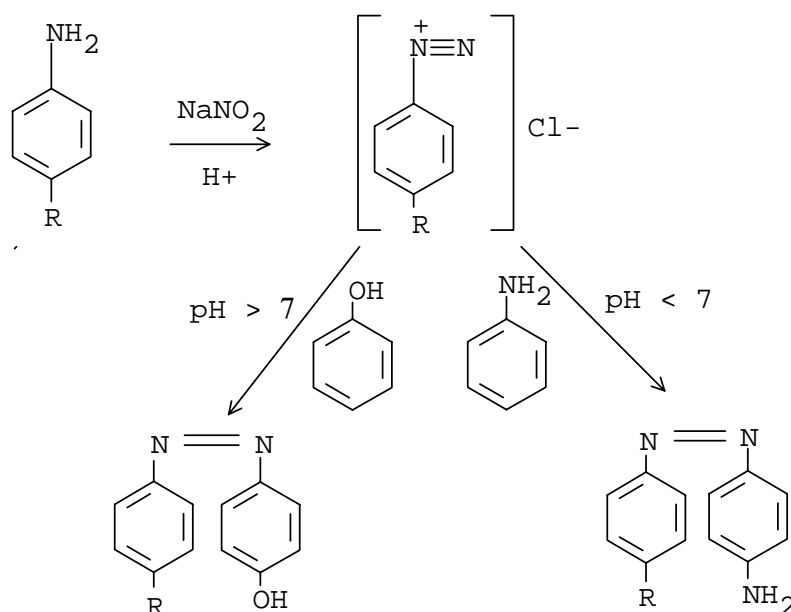
В структуре кислоты мефенамовой, натрия диклофенака имеется остаток дифениламина, за счет которого происходит окисление в жестких условиях (калия дихроматом в кислоте серной концентрированной; натрия нитритом в кислоте серной концентрированной).

Реакция образования азокрасителя

При действии на анестезин и новокаин натрия нитритом в кислой среде образуется соль диазония, которая вступает в реакцию с азосоставляющей с образованием азокрасителя.

В качестве азосоставляющей могут быть:

- 1) фенолы (в щелочной среде);
- 2) ароматические амины (в кислой среде):

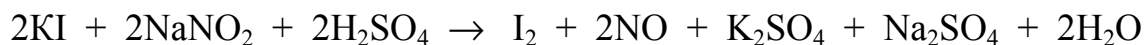


Образование азокрасителя наблюдается по появлению красного окрашивания или красного осадка. Реакция используется для определения подлинности препаратов, количественного определения.

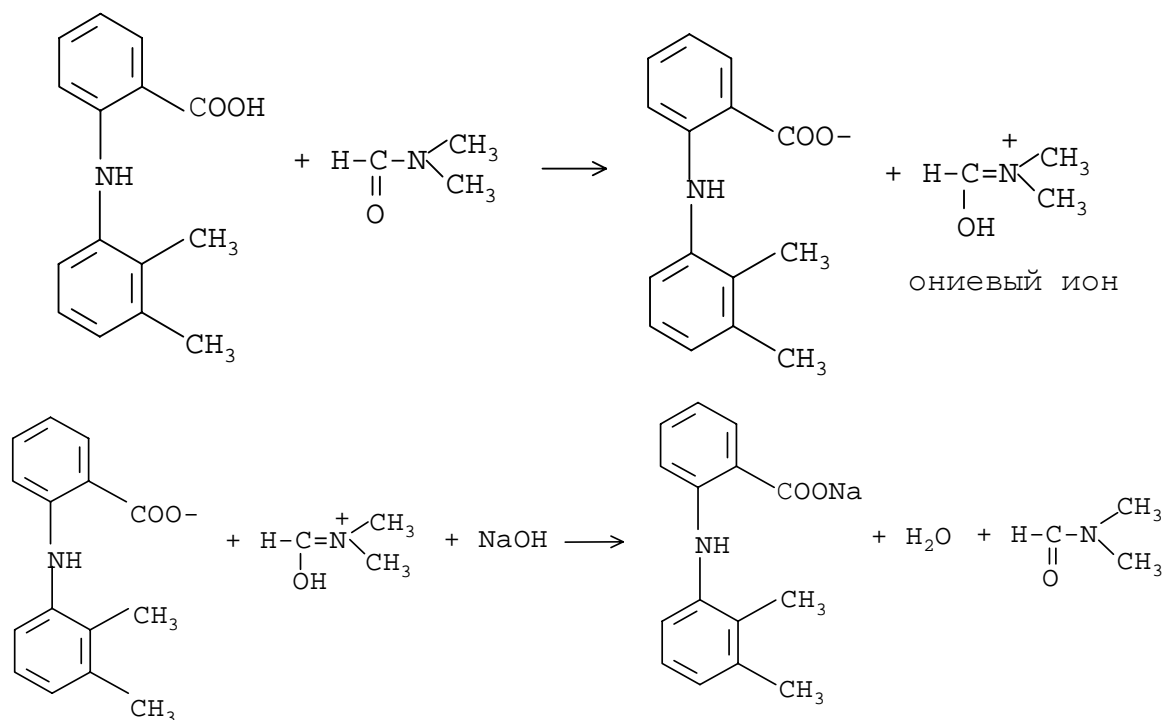
Токсичную примесь м-аминофенола в натрия п-аминсалицилате определяют также по этой реакции. Так как препарат образует азокраситель, следовательно, мешает определению примеси, их разделяют. Для этого

В качестве индикатора используют тропеолин ОО (внутренний) или иодкрахмальную бумагу (внешний).

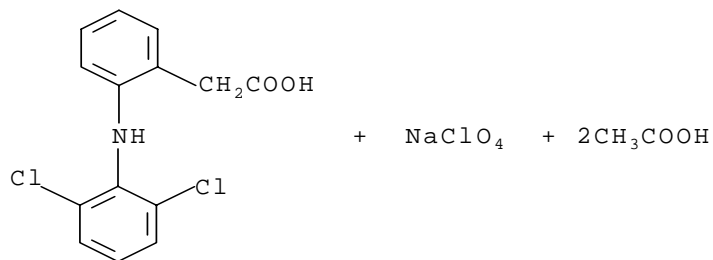
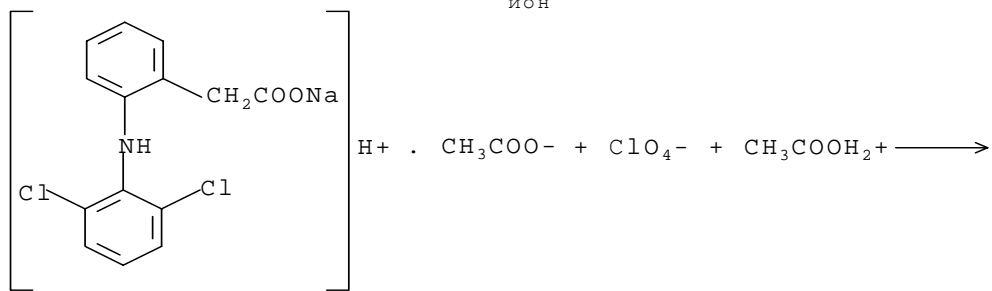
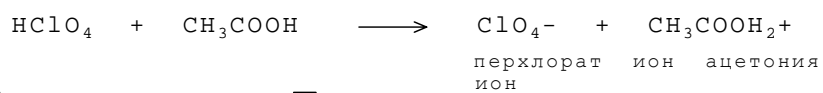
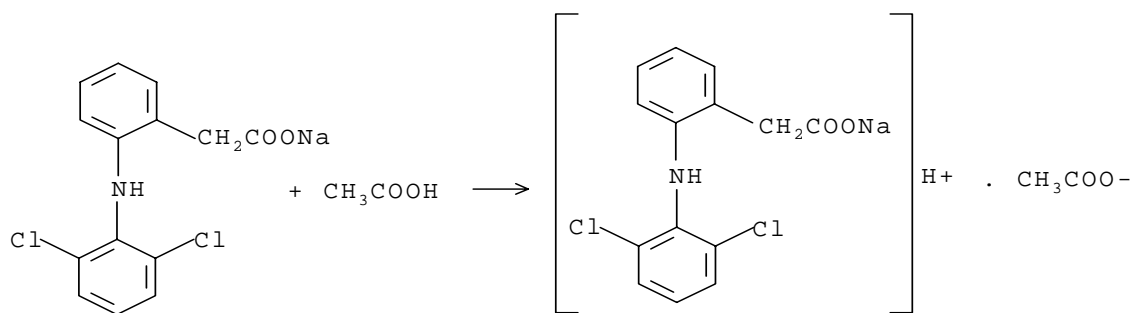
В точке эквивалентности на иодкрахмальной бумаге выделяется иод, который окрашивает крахмал в синий цвет:



Содержание кислоты мефенамовой определяется кислотно-основным титрованием в неводной среде (диметилформамида). Мефенамовая кислота обладает слабыми кислотными свойствами, которые усиливают путем ее растворения в протопфильном растворителе. Препарат в среде диметилформамида депротонируется. Титрантом служит раствор натрия гидроксида в смеси бензола и метанола. Индикатор – тимоловый синий:

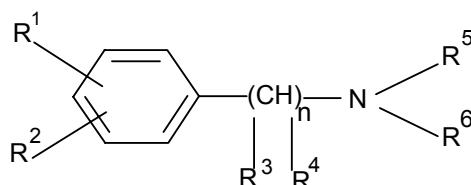


Натрия диклофенак определяется неводным титрованием с использованием протогенного растворителя – кислоты уксусной ледяной. Титруют раствором кислоты хлорной, индикатор – кристаллический фиолетовый:



Тема 10. АНАЛИЗ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ ГРУППЫ АРИЛАЛКИЛАМИНОВ

К производным арилалкиламинов относится большая группа лекарственных веществ природного и синтетического происхождения, обладающих разнообразным фармакологическим действием и отвечающих общей формуле:



КЛАССИФИКАЦИЯ

По **фармакологическому эффекту** препараты арилалкиламинов делятся на:

- **адреномиметические** (норадреналина гидротартрат, адреналина гидротартрат, эфедрина гидрохлорид, изадрин и др.);
- **β-адреноблокаторы** (анаприлин, атенолол, тимолол,);
- **антибиотики** (левомецетин и его производные);
- **дофаминергические** (дофамин);
- **противопаркинсонические** (леводопа, карбидопа);
- **антигипертензивные** (метилдофа);
- **гормоны** (трийодтиронин, адреналин);
- **психомоторные стимуляторы** (амфетамин и его производные).

Арилалкиламинами являются и некоторые другие лекарственные средства, например, рентгеноконтрастные йодсодержащие вещества.

По **химическому строению** лекарства данной группы можно разделить на следующие производные:

1. Производные **фенилалкиламинов и оксифенилалкиламинов** (амфетамин и его производные, дофамин, эфедрина гидрохлорид, дэфедрин, норадреналина гидротартрат, адреналина гидротартрат и гидрохлорид, изадрин, фенотерол, сальбутамол, верапамил).

2. Производные **арилоксипропаноламинов** (анаприлин, атенолол, тимолол, флуоксетин).

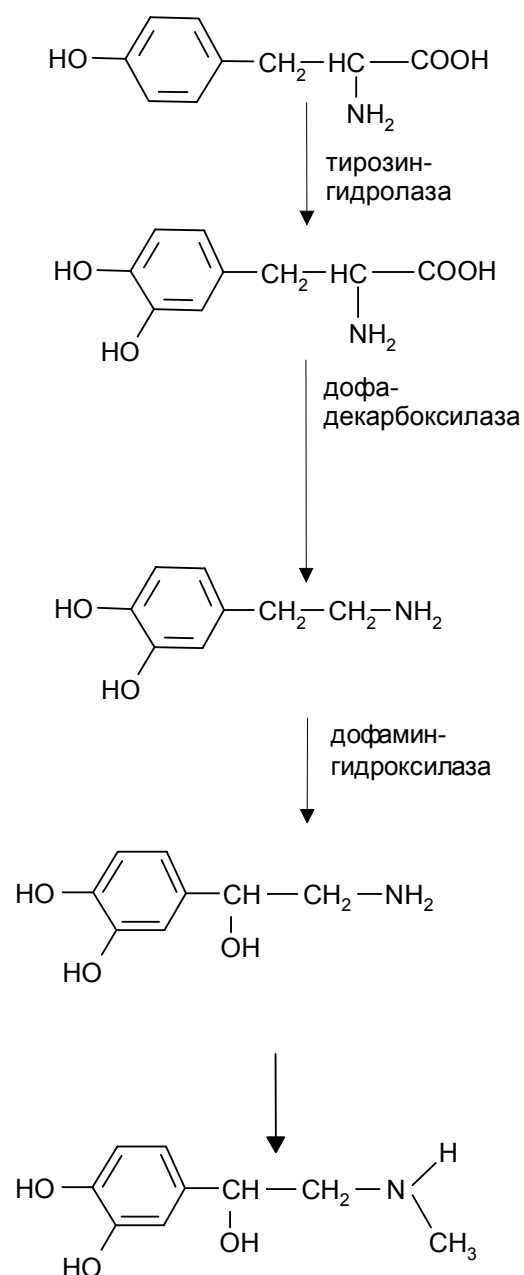
3. Производные **оксифенилалифатических аминокислот** (леводопа, метилдофа).

4. Йодсодержащие арилалкилатические аминокислоты (тиреоидин, трийодтиронин).

5. Производные нитрофенилалкиламинов (левомецетин, левомецетина стеарат и левомецетина сукцинат растворимый).

6. Аминодибромфенилалкиламины (бромгексина гидрохлорид, амброксол).

Многие лекарственные препараты группы арилалкиламинов были созданы на основе молекул природных соединений, играющих важную роль в биохимических процессах. Особенно это заметно на примере схемы биосинтеза адреналина:



Тирозин

Диоксифенилаланин (ДОФА) – предшественник нейромедиатора дофамина. Дофаминергическое лекарственное вещество “Леводопа”.

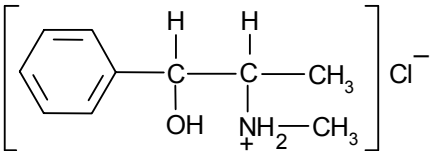
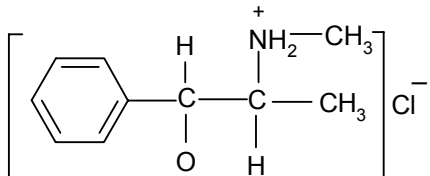
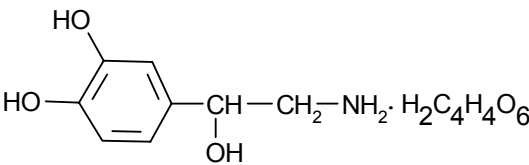
Дофамин – нейромедиатор, влияющий на деятельность ЦНС. Кардиостимулирующее лекарственное средство “Дофамин”.

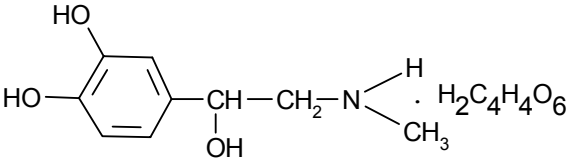
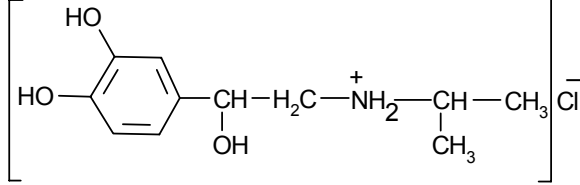
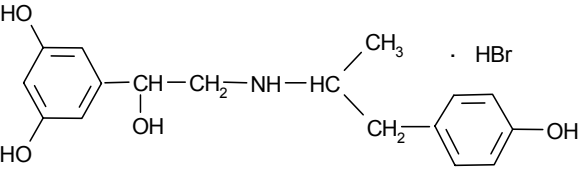
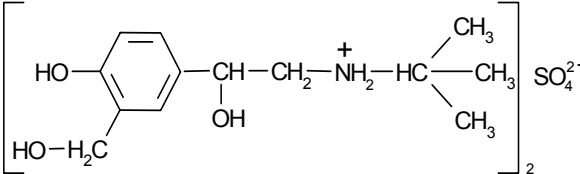
Норадреналин – нейромедиатор адренергической системы. Лекарственное вещество “Норадреналина гидротартрат” – гипертензивное и кардиотропное средство.

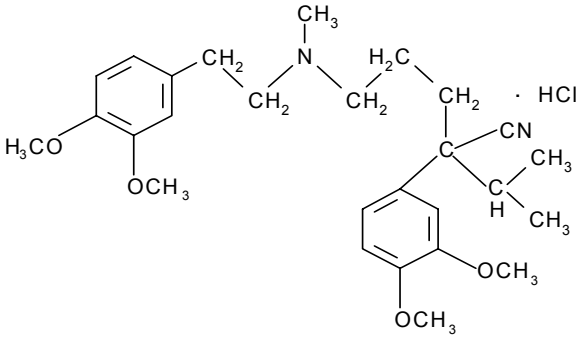
Адреналин – нейромедиатор адренергической системы; влияет на углеводный обмен. Лекарственное вещество “Адреналина гидротартрат” – симпатомиметическое средство.

Приведенная схема показывает, что арилалкиламины следует рассматривать не только как известные и прочно вошедшие в практику препараты, но и как перспективные соединения для создания новых лекарств.

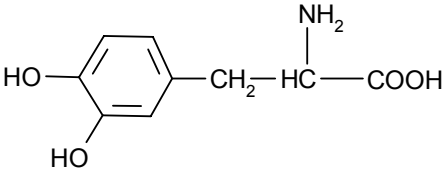
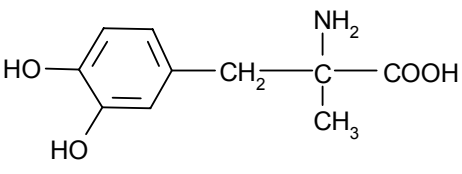
1. Производные фенилалкиламинов и оксифенилалкиламинов

Химическая структура	Описание
	<p>Ephedrini hydrochloridum. Эфедрина гидрохлорид. L-эритро-2-метиламино-1-фенилпропанола-1 гидрохлорид. Белый кристаллический порошок без запаха. Легко растворим в воде, растворим в спирте. Лекарственные формы: порошок, таблетки, раствор для инъекций, капли в нос. Адреномиметик.</p>
	<p>Dephedrinum. Дэфедрин. D-трео-2-метиламино-1-фенилпропанола-1 гидрохлорид. Бесцветные игольчатые кристаллы или белый кристаллический порошок со слабым специфическим запахом. Легко растворим в воде, растворим в спирте. Адреномиметик.</p>
	<p>Noradrenalini hydrotartras. Норадrenalина гидротартрат. L-1-(3,4-дигидроксифенил)-2-аминэтаноло гидротартрат. Белый или почти белый кристаллический порошок без запаха. Легко растворим в воде, мало – в спирте. Лекарственная форма: раствор 0,2% для инъекций. Адреномиметик.</p>

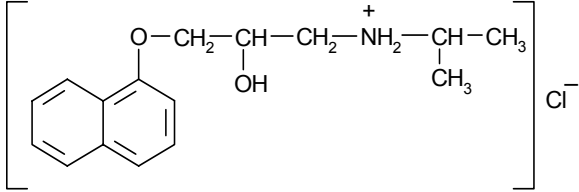
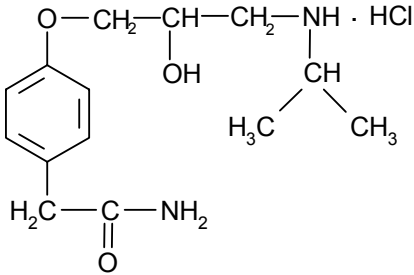
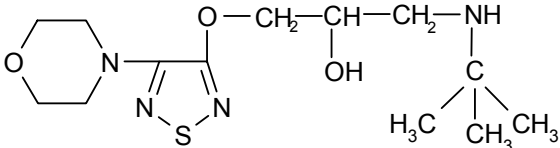
	<p>Adrenalini hydrotartras. Адреналина гидротартрат. L-1-(3,4-дигидроксифенил)-2-метиламиноэтанола гидротартрат. Белый или белый с сероватым оттенком кристаллический порошок без запаха. Легко растворим в воде, мало – в спирте. Лекарственные формы: растворы для наружного применения и для инъекций. Адреномиметик.</p>
	<p>Isadrinum. Изадрин. 1-(3,4-дигидроксифенил)-2-изопропил-аминоэтанола гидрохлорид. Белый кристаллический порошок без запаха. Легко растворим в воде. Лекарственные формы: порошок, таблетки, растворы для ингаляций. Адреномиметик.</p>
	<p>Fenoterolum. Фенотерол. 1-(3,5-Диоксифенил)-2-(<i>para</i>-окси-α-метилфенетиламино)-этанола гидробромид. Лекарственная форма: аэрозольный баллон. Адреномиметик.</p>
	<p>Salbutamolum. Сальбутамол. 2-трет-Бутиламино-1-(4-окси-3-оксиметилфенил)-этанола сульфат. Лекарственные формы: порошки для ингаляций в ротадисках, таблетки, сироп, баллоны аэрозольные, раствор для ингаляций. Адреномиметик.</p>

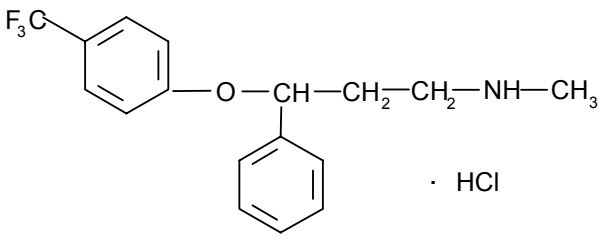
	<p>Verapamilum. Верапамил. α-{3-[2-(3',4'-Диметоксифенил)этил]метиламино]пропил}-3,4-диметокси-α-(1-метилэтил)бензол-ацетонитрила гидрохлорид. Белый кристаллический порошок, растворим в воде, хлороформе, метаноле. Лекарственные формы: таблетки, драже, раствор для инъекций. Антиангинальное средство.</p>
---	--

2. Производные оксифенилаллифатических аминокислот

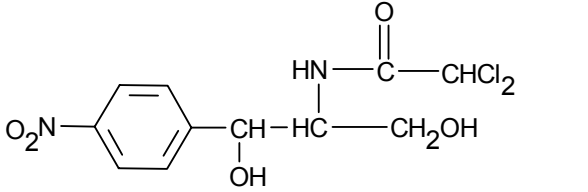
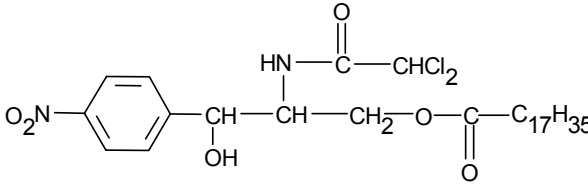
Химическая структура	Описание
	<p>Levodopum. Леводопа. L-3-(3',4'-диоксифенил)-2-аминопропионовая кислота. Белый или почти белый порошок без запаха. Мало растворим в воде, нерастворим в спирте. Лекарственные формы: таблетки, капсулы. Противопаркинсонное средство.</p>
	<p>Methyldopum. Метилдофа. L-3-(3,4-дигидроксифенил)-2-метил-2-аминопропионовая кислота. Белый или желтовато-белый мелкий порошок или кусочки, без запаха. Лекарственная форма: таблетки. Гипотензивное средство.</p>

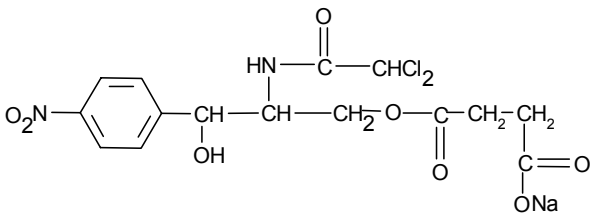
3. Производные арилпропаноламинов

Химическая структура	Описание
	<p>Anaprilinum. Анаприлин. (±)-1-изопропиламино-3-(1'-нафтокси)-2-пропанола гидрохлорид. Белый кристаллический порошок без запаха, растворим в воде и спирте. Лекарственные формы: таблетки, раствор для инъекций. β-Адреноблокатор.</p>
	<p>Atenolol. Атенолол. 4-{2-Гидрокси-3-[(1-метилэтил)амино]пропокси}бензолацетамида гидрохлорид. Белый кристаллический порошок. Гидрофилен. Растворим в воде, легко растворим в разбавленных кислотах, мало растворим в хлороформе. Лекарственные формы: таблетки покрытые оболочкой. Селективный β-адреноблокатор длительного действия.</p>
 <p>в виде полугидрата или малеата</p>	<p>Timolol. Тимолол. (S)-1-(трет-Бутиламино)-3-[(4-морфолино-1,2,5-тиадиазол-3-ил)окси]-2-пропанол. Белый кристаллический порошок без запаха. В форме полугидрата мало растворим в воде, легко растворим в спирте. В виде малеата растворим в воде, метаноле, этаноле. Лекарственная форма: глазные капли. Неселективный β-адреноблокатор.</p>

	<p>Fluoxetine. Флуоксетин. (±)-N-Метил-γ-[4-(трифторметил)фенокси]бензолпропанамина гидрохлорид. Белый или почти белый кристаллический порошок. Растворим в воде. Лекарственная форма: капсулы. Антидепрессант.</p>
---	--

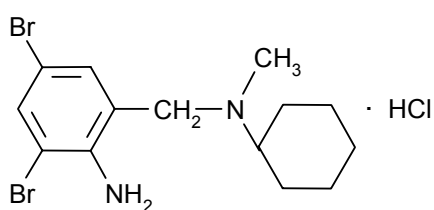
4. Производные нитрофенилалкиламинов

Химическая структура	Описание
	<p>Laevomycetinum. Левомецетин. D-(-)-трео-1-п-нитрофенил-2-дихлор-ацетиламинопропандиол -1,3 Белый или белый со слабым желтовато-зеленоватым оттенком кристаллический порошок без запаха. Мало растворим в воде, легко – в спирте. Лекарственные формы: таблетки, капсулы, глазные капли, мази. Антибиотик.</p>
	<p>Laevomycetini stearas. Левомецетина стеарат. D-(-)-трео-1-п-нитрофенил-2-дихлор-ацетиламинопропандиола-1,3; 3-стеарат Белый с желтоватым оттенком порошок без запаха. Практически не растворим в воде, трудно растворим в спирте. Лекарственные формы: порошок, таблетки. Антибиотик.</p>

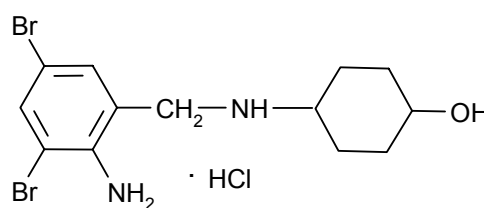
	<p>Laevomycetini succinas solubile. Левомецетина сукцинат растворимый. D-(-)-трео-1-п-нитрофенил-2-дихлор-ацетиламинопропандиола-1,3; 3 сукцинат натрия. Сухая пористая масса белого или белого с желтоватым оттенком цвета со слабым специфическим запахом. Гигроскопичен. Очень легко растворим в воде, мало – в спирте. Лекарственная форма: порошок во флаконах для приготовления раствора для инъекций. Антибиотик.</p>
---	--

5. Амниодибромфенилалкиламины

Лекарственные средства группы амниодибромфенилалкиламинов – **бромгексин** – N-(2-амино-3,5-дибромбензил)-N-метилцикло-гексиламина гидрохлорид и **амброксол** – транс-4-{[(2-Амино-3,5-дибромфенил)метил]амино}циклогксанола гидрохлорид – обладают муколитическим действием:



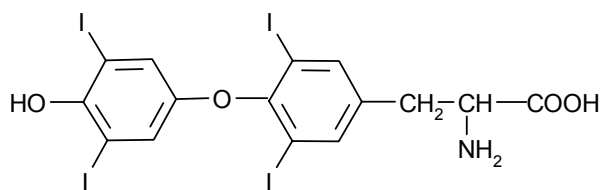
бромгексин



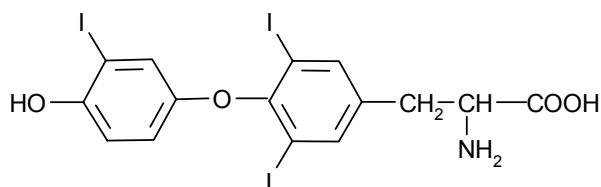
амброксол

6. Йодированные производные арилалифатических аминокислот

К данной группе лекарственных веществ относятся препараты гормонов щитовидной железы, содержащих тироксин и трийодтиронин: **тиреондин** (получаемый из высушенных обезжиренных щитовидных желез убойного скота), а также **трийодтиронин**, **L-тироксин** и некоторые другие.



L-тироксин



трийодтиронин

Тиреоидин (Thyreoidinum) – порошок желто-серого цвета со слабым запахом, характерным для высушенных животных тканей. Нерастворим в воде, спирте и других растворителях. Содержание связанного йода в препарате составляет 0,17 - 0,23%.

ОБЩИЕ ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА

Несмотря на принадлежность к одной химической группе, препараты арилалкиламинов обладают различно выраженными кислотно-основными и окислительно-восстановительными свойствами, а также способностью к гидролитическому расщеплению.

Кислотно-основные свойства

Наиболее выраженными основными свойствами обладают препараты группы фенилалкиламинов – амфетамин (pK_a 10,31) и эфедрина гидрохлорид (pK_a основания 9,63). Для сравнения – pK_a фенилэтиламина составляет 9,78. Значения pK_a препаратов группы оксифенил- и диоксифенилалкиламинов находятся в пределах 8,55 - 8,90.

Основные свойства арилалкиламинов используют для создания лекарственных веществ в виде солей с минеральными или органическими кислотами.

Как азотистые основания, лекарственные вещества этой группы взаимодействуют с общеалкалоидными осадительными реактивами. Количественное определение большинства из них проводят методом кислотно-основного титрования.

Являясь α -аминоспиртами, эфедрин и его производные (дэфедрин, норпсевдоэфедрин, метилэфедрин), левомицетин и его производные, образуют комплексные соединения с солями двухвалентной меди в щелочной среде. Производные α -аминокислот (леводопа, метилдофа, трийодтиронин и др.) также образуют окрашенные комплексные соединения с солями двухвалентной меди.

Препараты группы оксифенилалкиламинов содержат один или два фенольных гидроксила. При этом основность соединений снижается, Так значение pK_a норадреналина составляет 8,58, а адреналина (способного образовывать цвиттер-ион) – 8,55. Эти препараты (особенно производные аминокислот, как леводопа, метилдофа и др.) проявляют амфотерные свойства.

Как фенольные производные, указанные препараты образуют окрашенные феноляты железа.

Окислительно-восстановительные свойства

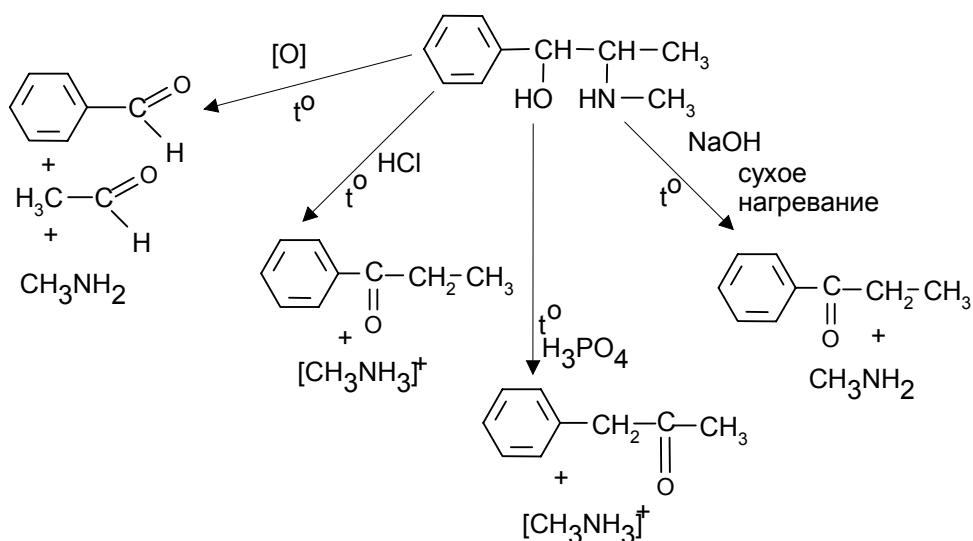
Восстановительные свойства препаратов группы гидроксифенилалкиламинов (норадреналина гидротартрат, адреналина гидротартрат, изадрин) резко возрастают из-за наличия фенольных гидроксильных групп. Однако, способность к окислению зависит от сопутствующих факторов: расположения фенольных гидроксильных групп, ионизации молекулы и др.

Препараты, являющиеся по структуре о-дифенолами, окисляются до окрашенных продуктов хиноидной структуры (например, адреналин окисляется раствором йода до адренохрома. Реакция окисления йодом включена в ГФ для подтверждения подлинности адреналина гидротартрата, норадреналина гидротартрата и изопреналина гидрохлорида.

Лекарственные вещества, содержащие вторичный спиртовый гидроксил (норадреналина гидротартрат, адреналина гидротартрат, эфедрин гидрохлорид и др.) окисляются до кетонов. Образующиеся кетоны можно обнаружить по реакциям конденсации с гидросиламином, гидразинами, семикарбазидами с целью получения оксимов, гидразонов, семикарбазонов с определенными аналитическими свойствами.

Гидраминное расщепление

Препараты группы арилалкиламинов подвергаются гидролизу в щелочной или кислой среде с отщеплением соответствующего амина. Производные α -аминоспиртов, например эфедрин, подвергаются различным видам гидраминного расщепления в зависимости от условий проведения реакции:



Другие типы реакций

Лекарственные средства, являющиеся аминокислотами, вступают в окислительно-восстановительную с нингидрином.

Для некоторых препаратов арилалкиламинов, имеющих характерные функциональные группы, применяют специальные методики анализа. Так, у левомецетина нитрогруппу восстанавливают до первичной ароматической и далее проводят диазотирование и азосочетание. В дийодтирозине и тиреоидине определяют ковалентно связанный йод.

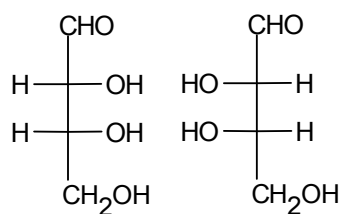
АНАЛИЗ КАЧЕСТВА ИНДИВИДУАЛЬНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ

1. Производные фенилалкиламинов и оксифенилалкиламинов

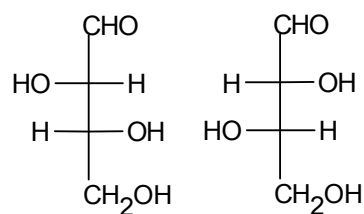
Эфедрин гидрохлорид и Дэфедрин

В молекуле эфедрина имеется два смежных ассимметрических атома углерода, поэтому он может существовать в виде двух диастереомеров — *эритро*- и *трео*-. Каждый из них является рацематом двух оптических изомеров.

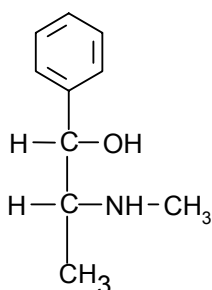
Стереоизомеры с относительным расположением заместителей, сходным с расположением таковых у эритрозы относятся к *эритро*-форме. К *трео*-форме принадлежат стереоизомеры с расположением заместителей аналогичным *треозе*:



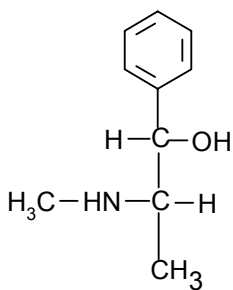
D эритрозы L



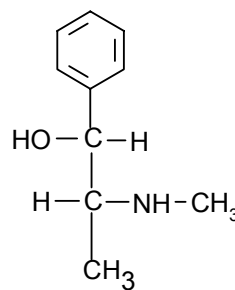
D треозы L



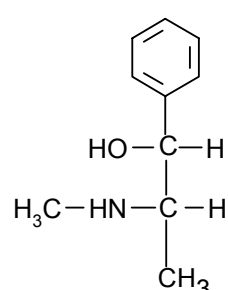
D-эфедрин
(эритро-форма)



L-эфедрин
(эритро-форма)



D-псевдоэфедрин
(трео-форма)

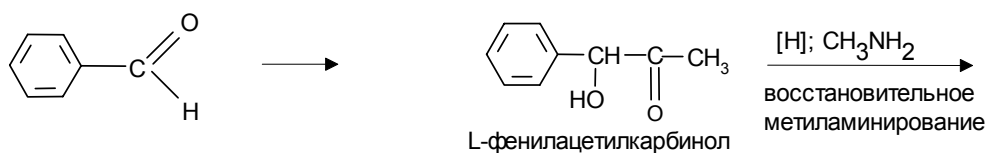


L-псевдоэфедрин
(трео-форма)

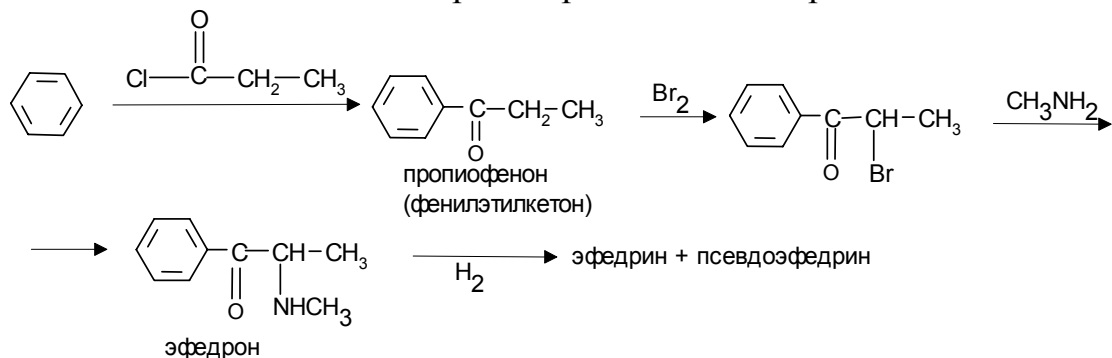
Эфедрина гидрохлорид является производным алкалоида *эритро*-L-эфедрина (содержащегося в эфедре забайкальской), а **дэфедрин** - алкалоида *трео*-D-псевдоэфедрина (содержащегося в эфедре хвоцевой).

В настоящее время эфедрин получают путем синтеза и биосинтеза.

1. Биосинтез основан на сбраживании патоки дрожжами в присутствии бензальдегида:



2. Синтез из бензола и хлорангида кислоты пропионовой:



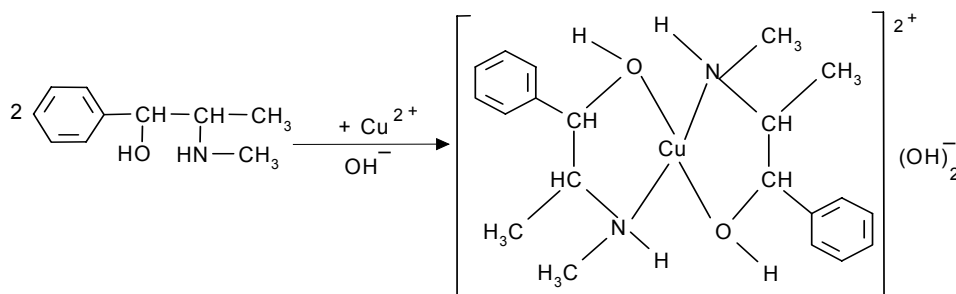
Далее псевдоэфедрин изомеризируют в эфедрин кипячением в кислоте хлороводородной разведенной. Образовавшийся рацемат эфедрина разделяют на оптические изомеры путем перекристаллизации оксалатов из спирта.

Химические свойства и реакции подлинности.

Кислотно-основные свойства

Препараты эфедрина и псевдоэфедрина являются солями (гидрохлоридами) природных оснований. Указанные алкалоиды, в отличие от других, растворяются в воде. При этом, эфедрин (как *эритро*-изомер) лучше растворим в воде из-за большей подвижности атома водорода спиртового гидроксила, связанной с соседством атома азота.

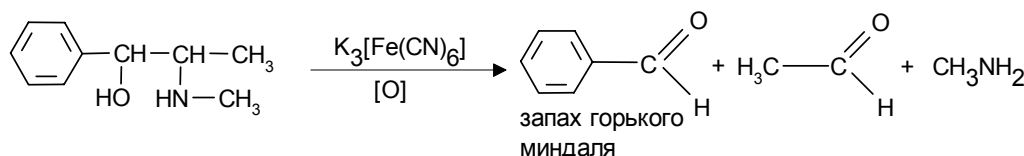
Как и другие соли азотистых оснований, эфедрин гидрохлорид и дэфедрин взаимодействуют с общеалкалоидными осадительными реактивами. Являясь α -аминоспиртами, указанные препараты обладают слабо выраженными кислотными свойствами. Соседнее положение спиртового гидроксила и аминогруппы позволяет провести реакцию комплексообразования с солями меди:



Окислительно-восстановительные свойства и гидраминное расщепление

Как вторичный α -аминоспирт, эфедрин довольно легко окисляется до кетона (эфедрона). Это обстоятельство следует учитывать при хранении.

Окисление эфедрина гидрохлорида калия гексацианоферратом (III) с одновременным гидраминным расщеплением ГФ регламентирует в качестве одного из испытаний подлинности:



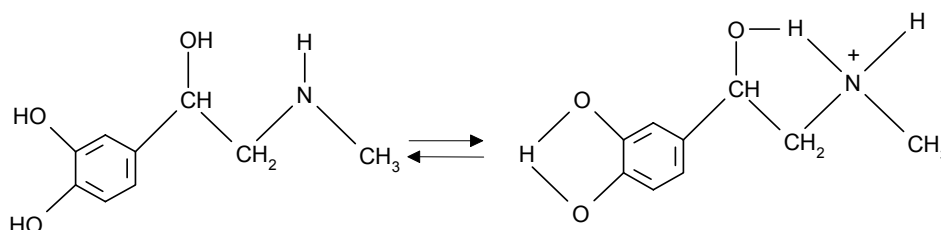
Количественное определение

ФС на эфедрина гидрохлорид и дэфедрин включают методики кислотно-основного титрования в среде муравьиной кислоты с добавлением уксусного ангидрида (титрант – 0,1 М раствор кислоты хлорной).

Известны также методики количественного определения эфедрина гидрохлорида (кислотно-основное титрование в водной среде, аргентометрия, УФ-спектрофотометрия, ФЭК).

Адреналина гидротартрат и Норадреналина гидротартрат

Адреналин – L-1-(3,4-дигидроксифенил)-2-метиламиноэтанол – является производным β-этанолamina и пирокатехина. Имеет хиральный центр при C₁. Природному адреналину присуще левое вращение плоскости поляризованного света. Удельное вращение основания – 48° — –54°. Несмотря на наличие нескольких гидрофильных групп в молекуле, адреналин в воде практически не растворим из-за образования бетаиновой системы (внутренней соли, цвиттер-иона):

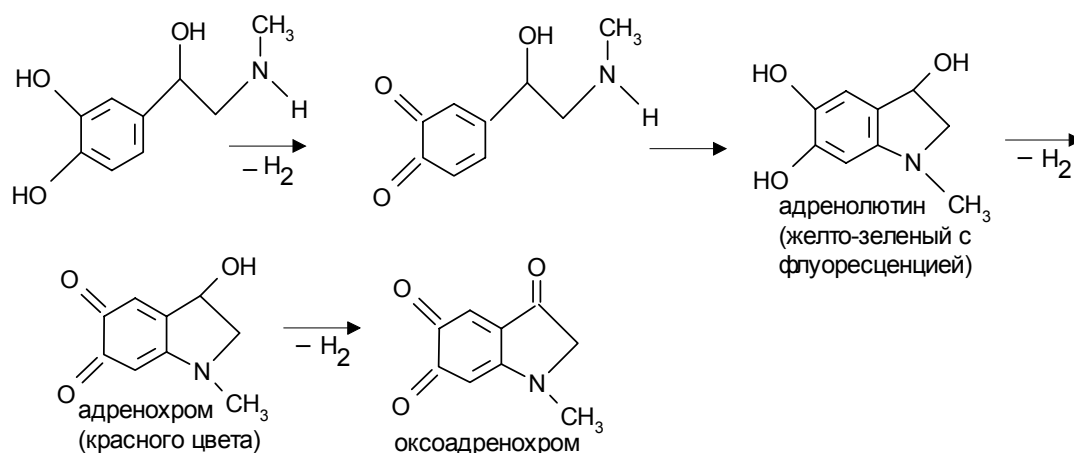


Лекарственными веществами адреналина являются его соли – гидротартрат или гидрохлорид, а норадреналина – гидротартрат.

Из водных растворов солей, например адреналина гидротартрата, можно осадить основание адреналина действием водного раствора аммиака, далее отфильтровать, высушить его и использовать для определения удельного вращения.

За счет наличия в структуре двух фенольных гидроксильных групп адреналин и норадреналин при взаимодействии с катионами Fe³⁺ образуют окрашенные в изумрудно-зеленый цвет феноляты. Если в пробирку добавить 1 каплю раствора аммиака, окрашивание переходит в вишнево-красное (сходное с окрашиванием продуктов окисления адреналина и норадреналина). Это испытание включено в ФС на адреналина и норадреналина гидротартраты, а также и на другие лекарственные средства, являющиеся по структуре орто-дифенолами (леводопа, метилдофа и др.).

Препараты адреналина и норадреналина легко изменяются под действием света и кислорода воздуха. Разложение адреналина (и норадреналина) приводит к образованию нескольких продуктов:



Адреналин окисляется легче норадреналина, так как метильная группа адреналина создает большую электронную плотность. Вследствие этого адреналин образует легко окисляемый цвиттер-ион (см. выше), а норадреналин – труднее окисляемый нейтральный хелат.



Различную способность к окислению ГФ использует не только для определения подлинности, но и для отличия адреналина от норадреналина. Так, адреналина гидротартрат окисляется 0,1 М раствором йода до адренохрома при значениях рН 3,56 и 6,5, так как ионизирует и в слабо кислой, и нейтральной среде. Норадреналина гидротартрат образует окрашенный норадренохром только при рН 6,5, где ионизирует лучше по фенольному гидроксиду.

По ФС на указанные препараты их подлинность подтверждается более достоверно – с помощью физико-химических методов (ИК- и УФ-спектроскопия).

Чистота

Специфической примесью в адреналине является кетон адреналон (в норадреналине – норадреналон). Определяют адреналон спектрофотометрически в УФ-области спектра при λ_{\max} 310 нм. Окисление

вторичного спиртового гидроксила до кето-группы приводит к образованию нового хромофора с максимумом поглощения при 310 нм.

Примесь норадреналина в адреналине по ВФС определяют с помощью хроматографии в тонком слое сорбента с использованием в качестве вещества-свидетеля норадреналина гидротартрата.

Количественное определение

Количественное определение индивидуальных веществ адреналина гидротартрата и норадреналина гидротартрата по ГФ проводят методом кислотно-основного титрования в неводной среде. Другие методики – спектрофотометрические и фотоэлектроколориметрические.

Количественное определение адреналина гидротартрата и норадреналина гидротартрата в растворах для инъекций проводят спектрофотометрическим методом или фотоэлектроколориметрическим методом на основе реакции образования окрашенных комплексных солей с катионами железа (II). Для повышения устойчивости комплексов используют железоцитратный реактив и буферную смесь на основе кислоты аминокусусной.

Стабилизация лекарственных форм

Адреналин и норадреналин неустойчивы при хранении. Инъекционные водные растворы их солей – гидротартратов – стабилизируют добавлением в качестве антиоксиданта метабисульфита натрия.

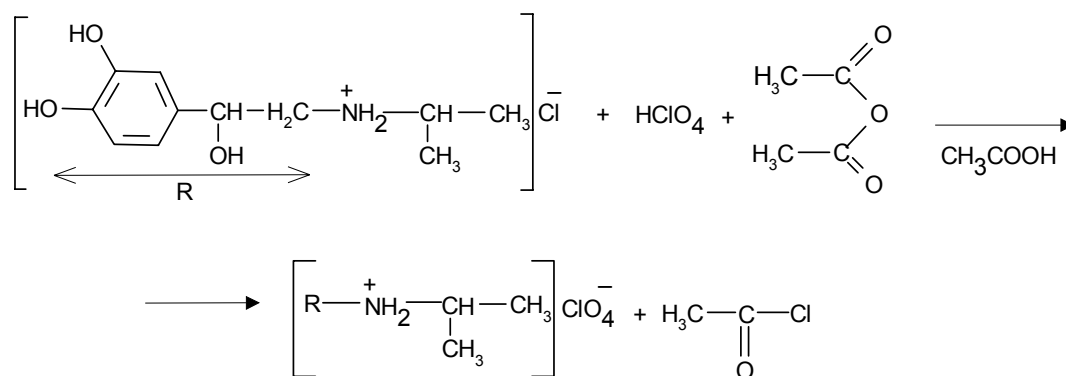
Водный раствор адреналина гидрохлорида для инъекций нельзя стерилизовать, поэтому готовят раствор в асептических условиях и добавляют консервант – хлорбутанола гидрат.

Изадрин является синтетическим адреномиметиком, созданными на основе молекул природных нейромедиаторов – норадреналина и адреналина. Изадрин окисляется легче других препаратов группы оксифенилалкиламинов, что связано с электронодонорным эффектом изопропильной группы. При окислении препарата раствором йода образуется окрашенный в розовый цвет изопрониладренохром даже в среде кислоты хлороводородной, где диссоциация фенольных гидроксидов подавлена (при рН 3,5 появляется красное окрашивание, а при рН 6,5 – красно-фиолетовое).

Адреналин, норадреналин, изадрин взаимодействуют также с аммиачным раствором нитрата серебра, реактивом Фелинга и другими окислителями.

Количественное определение изадрина проводят методом кислотно-основного титрования в неводной среде – ледяной уксусной кислоте с добавлением уксусного ангидрида. Присутствие уксусного ангидрида необ-

ходимо при количественном определении лекарственных веществ, являющихся солями галогеноводородных кислот. Это обусловлено тем, что галогенид-ионы в среде ледяной уксусной кислоты являются слабыми сопряженными основаниями и, поэтому, их невозможно точно оттитровать. Чтобы избежать ошибки, галогенид-ионы переводят с помощью уксусного ангидрида (или ртути (II) ацетата по методике ГФ) в неионогенное состояние:



2. Производные оксифенилаллифатических аминокислот

Леводопа и Метилдофа

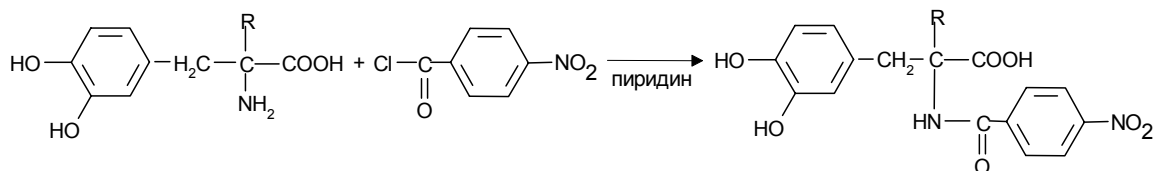
По внешнему виду оба препарата являются белыми кристаллическими веществами мало растворимыми в воде и спирте. Плохая растворимость указанных лекарственных веществ, относящихся к классу α -аминокислот, обусловлена способностью образовывать прочные внутренние соли.

Наличием в молекулах препаратов асимметрических атомов углерода объясняется их оптическая активность. Леводопа и метилдофа являются левовращающими изомерами.

Как и другие α -аминокислоты, данные препараты являются амфолитами. Вступают в биуретовую и нингидриновую реакции.

Являясь производными двухатомного фенола пирокатехина, леводопа и метилдофа вступают во все реакции, характерные для фенолов (с железом (III) хлоридом, индофенольная проба, и др.).

Подлинность препаратов по ФС проводят с применением ИК- и УФ-спектроскопии, а также по реакции замещения с 4-нитробензоилхлоридом:



Данная реакция является групповой для производных арилалкиламинов. При взаимодействии леводопы с 4-нитробеноилхлоридом появляется фиолетовое окрашивание, а метилдофы – оранжевое. Цвета и оттенки могут меняться от условий проведения реакции (нагревания, добавления карбоната натрия и др.).

Количественное определение леводопы и метилдофы проводят методом кислотно-основного титрования в среде безводных протогенных растворителей.

Нефармакопейными методиками являются определение азота по Кьельдалю и формольное титрование.

3. Производные арилоксипропаноламинов

Представителем данного класса является **анаприлин**, являющийся (\pm)-1-изопропиламино-3-(1-нафтокси)-2-пропанола гидрохлоридом.

Определение подлинности препарата осуществляют с помощью ИК- и УФ-спектрофотометрии. Также определяют температуру плавления основания, полученного при подщелачивании водного раствора препарата и дальнейшего извлечения основания эфиром (ФС).

Для препарата возможны также реакции гидраминного расщепления, образование осадков с общеалкалоидными реактивами, окисление вторичного спиртового гидроксила, S_E - реакции.

Количественное определение анаприлина по ВФС проводят методом кислотно-основного титрования в среде ледяной уксусной кислоты с добавлением уксусного ангидрида, так как препарат является солью галогеноводородной кислоты.

4. Производные нитрофенилалкиламинов

Наиболее известными препаратами этой группы являются **левомицетин**, **левомицетина стеарат** и **левомицетина сукцинат растворимый**.

Левомецетин (хлорамфеникол) – антибиотик, выделенный из актиномицетов в 1947 г. Это первое из нитросоединений, найденных в природе. И, в то же время, это первый из антибиотиков, полученных синтетически.

Лекарственным веществом с наибольшей антибактериальной активностью является левовращающий *D-трео* - изомер. Другие изомеры (*D*- и *L-эритро*) – токсичны, а *L-(+)-трео* – неактивен. **Синтомицин** – смесь *D-(-)-трео*- и *L-(+)-трео*-изомеров – применяется как лекарство для наружного применения.

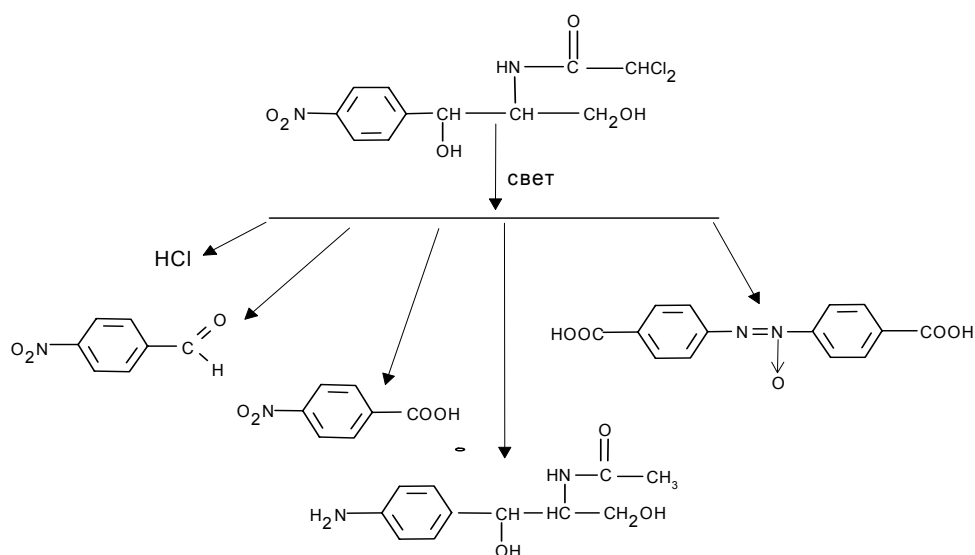
Химические свойства и анализ качества

Кисотно-основные свойства

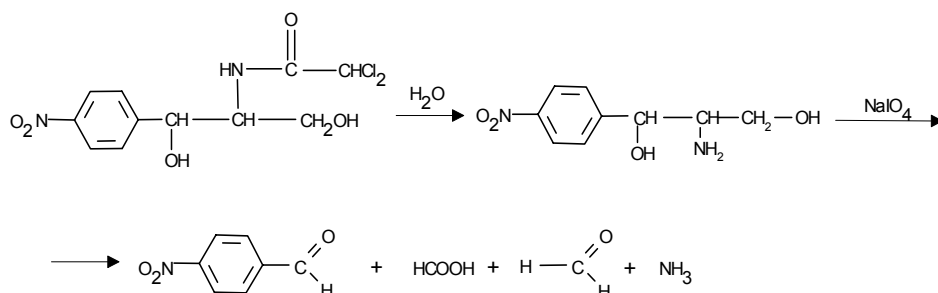
Амидная группа в сочетании с двумя спиртовыми гидроксилами придает левомицетину слабые кислотные свойства. Подобно эфедрину и другим α -аминоспиртам, левомицетин образует экстрагируемый в бутанол окрашенный в фиолетовый цвет комплекс с солями меди (II)

Окислительно-восстановительные свойства

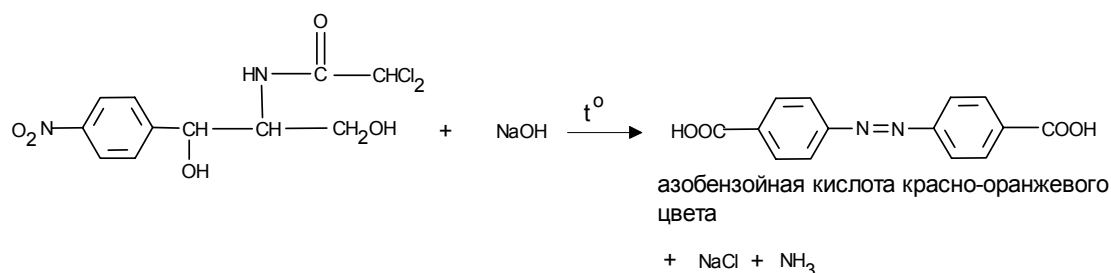
Препараты левомицетина легко окисляются с образованием окрашенных продуктов. Свет, температура, влага, примеси тяжелых металлов ускоряют окисление. Одновременно с окислением происходит деструкция препарата. На приведенной схеме указаны продукты превращения левомицетина (водный раствор препарата) под воздействием солнечного света:



Как и другие фенилалкиламины, левомицетин подвергается гидрамину расщеплению в различных условиях. Так гидролиз с последующим окислением перйодатом натрия приводит к образованию 4-нитробензальдегида, муравьиной кислоты, формальдегида и аммиака:



По ГФ левомицетин нагревают с раствором натрия гидроксида. Появляется желтое окрашивание, переходящее в оранжевое. При дальнейшем нагревании выпадает кирпично-красный осадок:



Образование азосоединений можно объяснить диспропорционированием левомицетина. При этом спиртовые группы окисляются, а нитрогруппа – восстанавливается.

После фильтрования осадка в фильтрате можно открыть хлорид-ион.

Другим испытанием подлинности левомицетина по ГФ является регистрация спектра раствора препарата в УФ- области спектра.

Левомицетина стеарат и сукцинат гидролизуются по сложной эфирной группе. Образующаяся при кислотном гидролизе левомицетина стеарата стеариновая кислота всплывает в виде масляных капель, застывающих при охлаждении. Остаток янтарной кислоты сукцината определяют при нагревании препарата с резорцином в присутствии концентрированной серной кислоты. Образуется желтого цвета раствор, флуоресцирующий в УФ-свете. Все препараты левомицетина вступают в реакцию гидроксамовой пробы.

Количественное определение

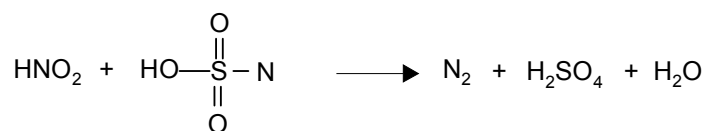
По ГФ левомицетин количественно определяют нитритометрически (с применением внешнего индикатора) после восстановления нитрогруппы до первичной ароматической аминогруппы.

Неофициальными методиками являются аргентометрия (после минерализации органически связанных атомов хлора), куприметрия, физико-химические (УФ-, ФЭК).

5. Йодированные производные арилалифатических аминокислот

Применение тиреоидина (действующими веществами которого являются тироксин и трийодтиронин) и других препаратов этой группы обуславливает определение в них органически связанного йода. По ФС йод в тиреоидине качественно и количественно определяют методом сжигания в

колбе с кислородом. В качестве поглощающей жидкости используют раствор крахмала с добавлением сульфаминовой кислоты. Сульфаминовая кислота связывает нитриты, образующиеся при горении белковой части молекулы:

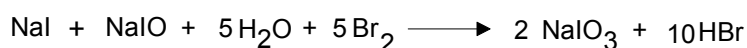


Выделяющийся при горении препарата йод окрашивает крахмал в характерный синий цвет.

При количественном определении тиреоидина, образующийся после сжигания препарата в кислороде, йод поглощают раствором гидроксида натрия.



Далее в реакционную среду добавляют кислоту уксусную ледяную, содержащую определенное количество брома, для окисления йодида и гипойодита до йодата:



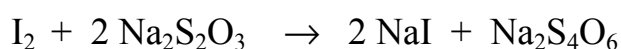
Затем избыток брома удаляют муравьиной кислотой



После связывания нитритов кислотой сульфаминовой, в колбу добавляют разбавленный раствор кислоты серной и избыток калия йодида:



Выделившийся йод титруют раствором натрия тиосульфата:



Наряду с методом сжигания в колбе с кислородом, существуют и другие способы минерализации органически связанного йода. По одному из них (восстановительному) навеску препарата кипятят в растворе щелочи с

добавлением цинка. Образующийся при этом йодид далее количественно определяют аргентометрически.

При окислительной минерализации навеску препарата кипятят с калия перманганатом в присутствии кислоты серной. Йод при этом окисляется до йодата:



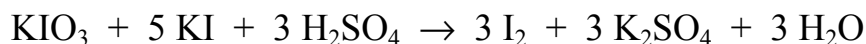
Избыток калия перманганата удаляют добавлением по каплям раствора натрия нитрита:



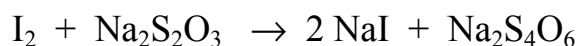
Образующийся при этом небольшой избыток натрия нитрита удаляют мочевиной или кислотой сульфаминовой:



После этого в реакционную среду добавляют калия йодид, в результате чего образуется йод:



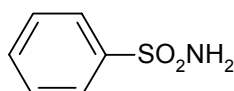
Выделившийся йод оттитровывают стандартным раствором натрия тиосульфата:



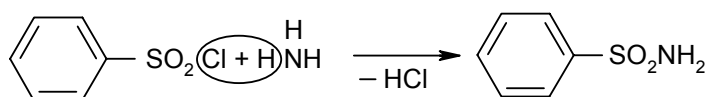
Тема 11. АНАЛИЗ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ ГРУППЫ БЕНЗОЛСУЛЬФОНИАМИДОВ

К производным бензолсульфонамидов относится большая группа лекарственных веществ, обладающих различной фармакологической активностью: антисептической, антибактериальной, гипогликемической, диуретической.

В основе их химической структуры лежит бензолсульфонамид:



Образование его можно представить как результат взаимодействия хлорангирида бензолсульфоновой кислоты и аммиака:



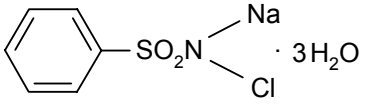
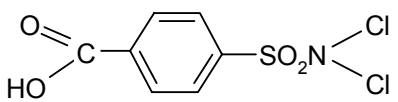
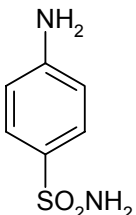
Классификация

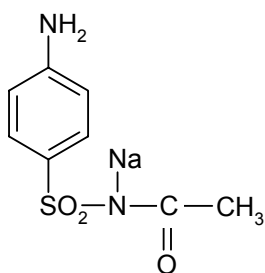
Лекарственные средства производные бензолсульфонамида по химическому строению разделяются на следующие группы:

- **Производные бензолсульфохлорамида** – антисептические средства (хлорамин Б, пантоцид)
- **Производные сульфаниламида** – антибактериальные средства (стрептоцид, сульфацил-натрий, сульфадиметоксин, сульфален, фталазол, салазопиридазин)
- **Производные бензолсульфонилмочевин** – оральные антидиабетические средства (букарбан, глибенкламид)
- **Производные амида хлорбензолсульфоновой кислоты** – диуретические средства (дихлотиазид, фуросемид).

Химические структуры и свойства лекарственных веществ группы бензолсульфонамидов приведены в таблице 1.

**Таблица 1. Общие свойства лекарственных веществ группы
бензолсульфониламидов**

Химическая структура	Описание
Производные бензолсульфохлаорамида	
	<p>Chloraminum B. Хлорамин Б. Бензолсульфохлаорамид-натрий. Белый или слегка желтоватый кристаллический порошок со слабым запахом хлора. Растворим в воде, легче – в горячей. Растворим в спирте. Лекарственная форма: порошок. Антисептик.</p>
	<p>Pantocidum. Пантоцид. N-дихлор-p-карбоксибензолсульфамид. Белый порошок со слабым запахом хлора. Очень мало растворим в воде и разведенных кислотах, легко растворим в растворах щелочей и карбонатов. Лекарственная форма: таблетки, содержащие 0.0082 г пантоцида, 0.0036 г безводного натрия карбоната и 0.1082 г натрия хлорида. Антисептик.</p>
Производные сульфаниламида	
	<p>Streptocidum. Стептоцид. Сульфаниламид. p-Амино-бензолсульфамид. Белый кристаллический порошок без запаха. Мало растворим в воде, легко в кипящей воде, растворим в разведенной соляной кислоте, растворах щелочей и ацетоне. Лекарственные формы: порошок, таблетки, мази 5 % линимент. Антибактериальное средство.</p>



Sulfacylum-natrium.

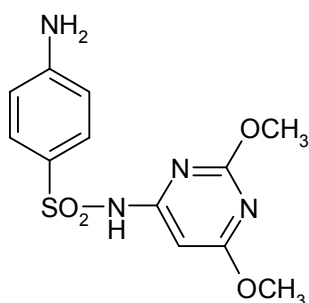
Сульфацил-натрий.

n-Аминобензолсульфонилацетамид-натрий.

Белый кристаллический порошок, легко растворим в воде, практически нерастворим в спирте.

Лекарственные формы: порошок, глазные капли и глазные мази.

Антибактериальное средство.



Sulfadimetoxinum.

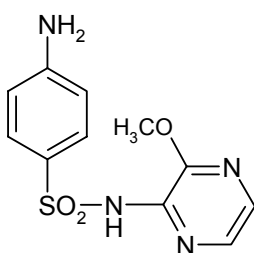
Сульфадиметоксин.

4-(n-Аминобензол-сульфамидо-)-2,6-диметоксипиримидин.

Белый или белый с кремоватым оттенком кристаллический порошок. Практически нерастворим в воде, мало растворим в спирте, легко – в разбавленных растворах кислот и щелочей.

Лекарственные формы: порошок, таблетки.

Антибактериальное средство длительного действия.



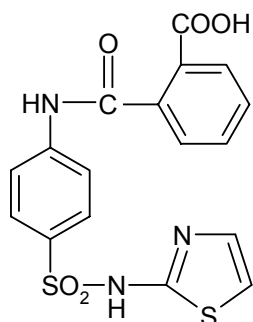
Sulfalenum. Сульфален.

2-(n-Аминобензол-сульфамидо-)-3-метоксипиразин.

Белый или белый с желтоватым оттенком кристаллический порошок. Практически нерастворим в воде, легко растворим в растворах кислот и щелочей.

Лекарственные формы: порошок, таблетки.

Антибактериальное средство длительного действия.



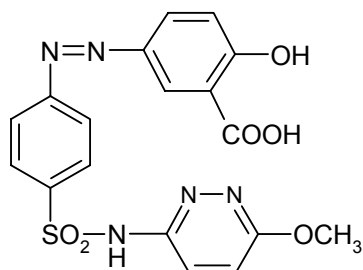
Phthalazolum. Фталазол.

2-(п-фталиламинобензолсульфамидо)-тиазол.

Белый или белый со слегка желтоватым оттенком порошок. Практически нерастворим в воде, очень мало растворим в спирте. Растворим в растворах щелочей, легко растворим в водном растворе едкого натрия.

Лекарственные формы: порошок, таблетки.

Антибактериальное средство.



Salazopyridazinum.

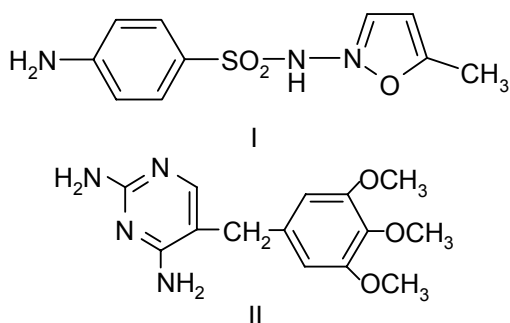
Салазопиридазин.

5-(п-[N-(3-метоксипиридазинил-6) -сульфамидо] фенилазо)салициловая кислота.

Мелкокристаллический порошок оранжевого цвета. Практически нерастворим в воде, мало растворим в спирте, растворим в растворе едкого натра.

Лекарственные формы: порошок, таблетки.

Антибактериальное средство.



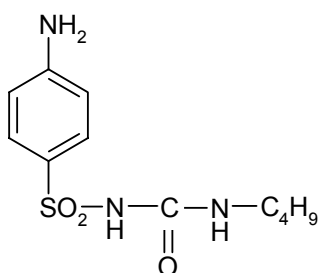
Vactrim. Бактрим.

Комбинированный препарат, содержащий сульфаметоксазол (I) и триметоприм (II).

Лекарственные формы: таблетки для взрослых: 400 мг I + 80 мг II; таблетки для детей: 100 мг I + 20 мг II.

Антибактериальное средство.

Производные бензолсульфонилмочевины



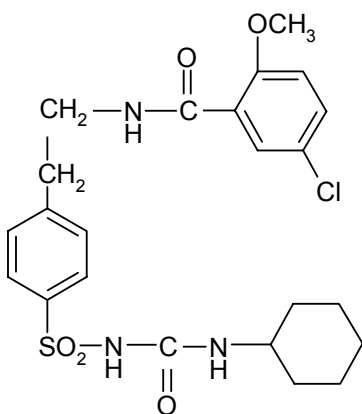
Bucarbanum. Букарбан.

N-(n-Аминобензолсульфонил)-N'-n-бутилмочевина.

Белый кристаллический порошок. Практически нерастворим в воде. Растворим в спирте, легко растворим в ацетоне и хлороформе.

Лекарственная форма: таблетки.

Антидиабетическое средство.



Glibenclamidum.

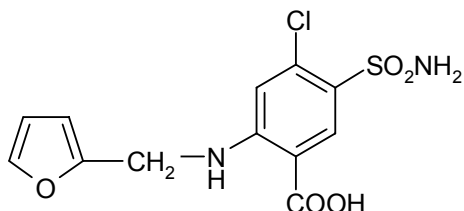
Глибенкламид.

N-{4-[2-(5-хлор-2-метоксибензамидо)-этил]-фенилсульфонил}-N'-циклогексил-мочевина.

Белый или белый с кремоватым оттенком мелкокристаллический порошок. Практически нерастворим в воде, мало растворим в спирте.

Лекарственная форма: таблетки

Производные амида кислоты хлорбензолсульфоновой



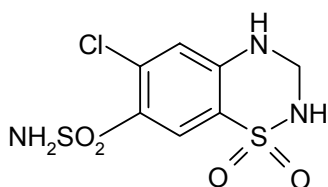
Furosemidum. Фуросемид.

4-хлор-N-(2-фурил-метил)-5-сульфамоил-антраниловая кислота.

Белый кристаллический порошок. Практически нерастворим в воде, растворим в спирте, мало растворим в эфире.

Лекарственные формы: таблетки; раствор для инъекций.

Диуретическое средство.



Dichlothiazidum. Дихлотиазид.

6-хлор-7-сульфамоил-3,4-дигидро-2H-1,2,4-бензотиадиазин-1,1-диоксид.

Белый или белый с желтоватым оттенком кристаллический порошок. Очень мало растворим в воде, мало – в спирте, легко – в растворах щелочей.

Лекарственная форма: таблетки

Диуретическое средство.

Сходство в химическом строении обуславливает общность в свойствах и возможность применения общих методов анализа для этой группы лекарственных веществ.

ОБЩИЕ ФИЗИЧЕСКИЕ, ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ И ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ ПРОИЗВОДНЫХ БЕНЗОЛСУЛЬФОНИЛАМИДОВ

Лекарственные вещества данной группы – белые или желтоватые порошки. Салазопиридазин – азокраситель по строению – вещество красно-оранжевого цвета. Большинство из них мало растворимы в воде, растворимы в полярных растворителях, например, ацетоне, мало или плохо растворимы в липофильных растворителях: хлороформе и эфире.

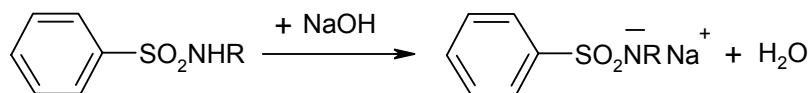
Натриевые соли: сульфацил-натрий, хлорамин Б растворимы в воде.

Наличие хромофорных систем, главным образом, ароматического кольца, обуславливает наличие основной полосы поглощения в области 270-280 нм. Это позволяет использовать метод УФ-спектрофотометрии для стандартизации лекарственных средств.

Все бензолсульфонамиды имеют характерные спектры поглощения в ИК-области. ИК-спектроскопия с использованием стандартных образцов или спектров сравнения применяется для идентификации лекарственных веществ.

Кислотно-основные свойства

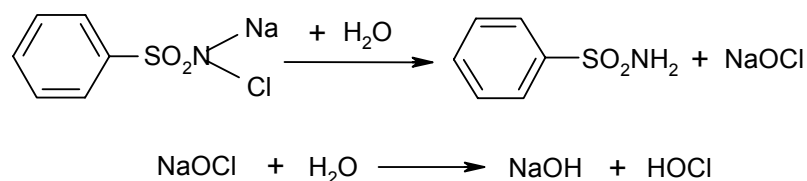
Из-за отрицательного индуктивного эффекта SO_2 -группы бензолсульфонамиды обладают NH -кислотностью и растворяются в щелочах с образованием солей:



Ацилирование сульфамидной группы приводит к образованию имидов, характеризующихся более выраженной NH -кислотностью по сравнению с амидами. Такие бензолсульфонамиды растворяются не только в щелочах, но и карбонатах. В карбонатах растворим фталазол.

Солевые формы бензолсульфонамидов 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 хлорамина в водном растворе с образованием натрия гидроксида и гипохлорита объясняет характерное изменение красной лакмусовой бумаги: сначала – посинение, затем – обесцвечивание:



В натриевых солях сульфаниламидов регламентируется предел щелочности, как примесь, связанная со способом их получения, а также образующаяся при хранении растворов вследствие гидролиза.

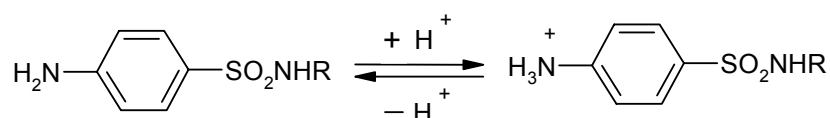
Такие лекарственные средства могут быть определены количественно методом ацидиметрии.

Производные сульфаниламида, наряду с NH-кислотным центром, имеют центр основности – первичную ароматическую аминогруппу. Это, как и другие производные анилина, слабые основания.

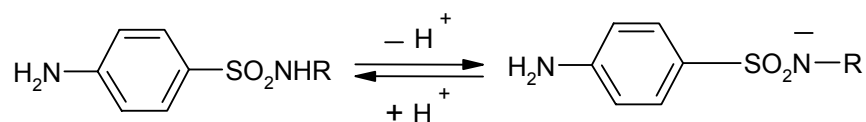
Вследствие индуктивного эффекта сульфогруппы, основность ароматической аминогруппы еще более ослаблена. Величина pK_s по аминогруппе колеблется в интервале 2.0 – 2.75. Они растворяются в кислотах, однако, устойчивых солей не образуют.

Таким образом, сульфаниламиды – это амфолиты с преобладанием кислотных свойств.

Протонирование этих веществ приводит к образованию катиона:



Депротонирование – к образованию аниона:



Растворимость лекарственных веществ данной группы, а также pH их растворов, кислотность и щелочность являются важными характеристиками их качества.

Кислотно-основные свойства производных бензолсульфониламидов необходимо учитывать при решении вопросов химической несовместимости в лекарственных формах сложного состава. Натриевые соли сульфаниламидов несовместимы в растворах с веществами кислой реакции среды:

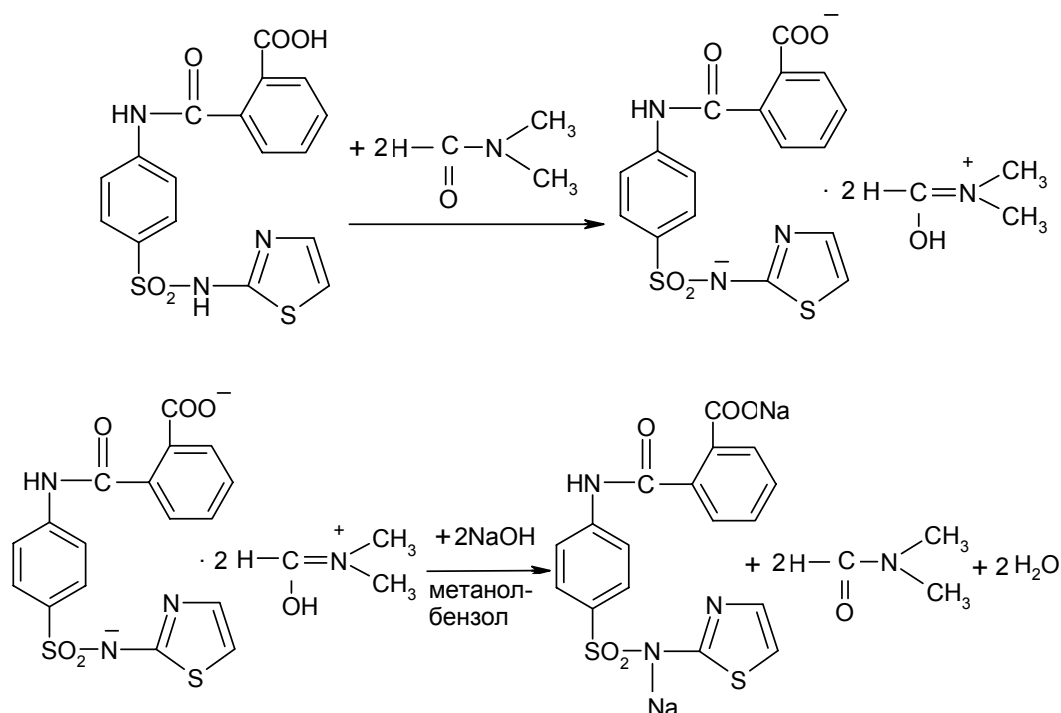
кислоты аскорбиновая и никотиновая, многими солями азотсодержащих оснований, т.к. при взаимодействии ингредиентов возможно образование не растворимой в воде кислотной формы сульфаниламида. Это явление может иметь место в лекарственной форме состава:

Раствора сульфацил-натрия 30 %	–	10.0
Кислоты аскорбиновой	–	0.15

Как кислоты бензолсульфониламиды могут быть количественно определены методом нейтрализации в растворителях основного характера и ацетона.

Лучшим растворителем для титрования производных бензолсульфониламидов, величина рКа которых не превышает 10.5 – 11, является диметилформамид, так как он имеет высокую диэлектрическую проницаемость, доступен, дешев, мало летуч. Этот растворитель содержит примеси кислотного характера, поэтому его непосредственно перед титрованием нейтрализуют. Титрант – раствор натрия гидроксида в смеси метанола и бензола. Такая слабая кислота, как стрептоцид, не может быть оттитрована в диметилформамиде, но титруется в среде н-бутиламина растворами метилата натрия или гидроксида тетрабутиламмония (индикатор – азафиолетовый).

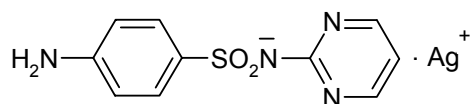
ГФ метод кислотно-основного титрования в диметилформамиде рекомендует для оценки качества фталазола, который титруется как двухосновная кислота:



Образование комплексных солей

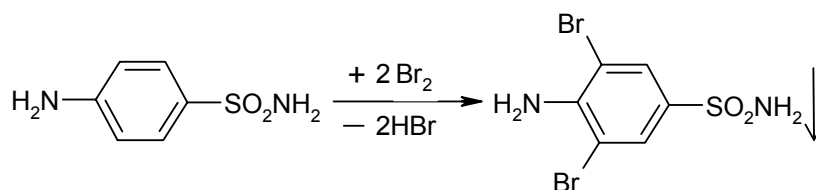
За счет кислотных свойств бензолсульфониламиды и их производные взаимодействуют с солями тяжелых металлов: меди, серебра, железа, кобальта. В результате реакции образуются комплексные соединения, как правило, не растворимые в воде, имеющие характерную окраску. Взаимодействие с меди (II) сульфатом имеет дифференцирующее значение и применяется для подтверждения подлинности лекарственных веществ данной группы. Реакция проводится в умеренно-щелочной среде, при этом бензолсульфониламиды нейтрализуют 0.1 н раствором щелочи по тимоловому синему.

С солями серебра лекарственные вещества данной группы образуют соединения в виде белого осадка. Реакция протекает количественно. Известны серебряные соли бензолсульфониамидов, которые применяются как лекарственные средства. Например, сульфадиазин серебра входит в состав мази «Дермазин»:



Реакции ароматического цикла

Наиболее характерным свойством ароматических соединений является их способность к электрофильному замещению. Заместители оказывают значительное влияние на реакционную способность бензольного ядра. Электронодонорные заместители увеличивают скорость электрофильного замещения. Большинство сульфаниламидов из подкисленных растворов при действии бромной воды выделяют белый или желтоватый осадок дибромпроизводного:

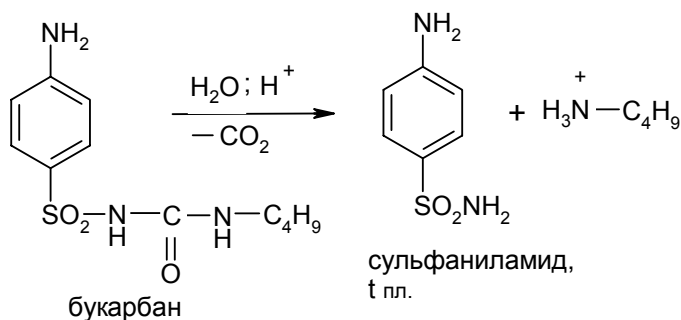


Реакция протекает количественно и используется для броматометрического определения лекарственных веществ данной группы во внутриаптечном контроле.

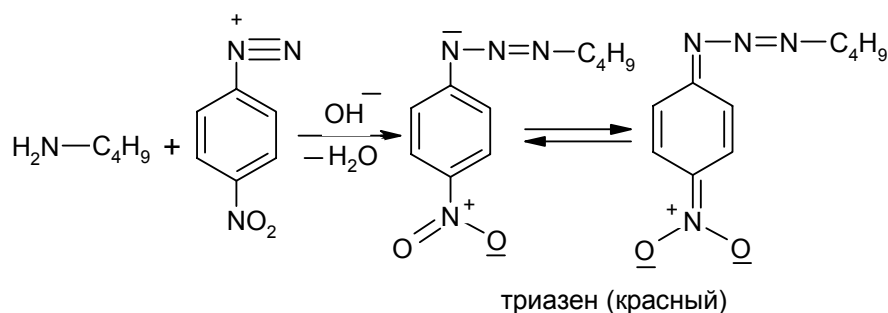
Сульфирование ароматического ядра является основой получения бензолсульфониамидов.

Гидролитическое расщепление

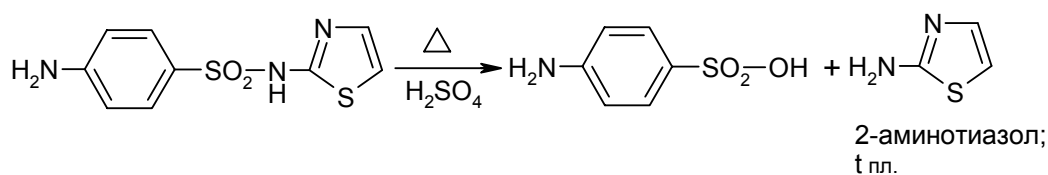
Гидролитическое расщепление – одна из характерных реакций, подтверждающих структуру бензолсульфониламидов. В результате гидролиза образуются продукты, которые могут быть легко охарактеризованы по особенностям химического строения. Это имеет важное значение для характеристики качества лекарственных средств. Следует подчеркнуть, что гидролитическое разложение легче происходит в кислой среде. Щелочной гидролиз затруднен вследствие образования аниона, препятствующего атаке гидроксид-иона. Например:



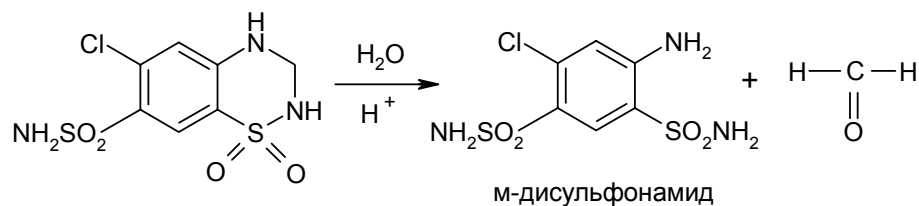
Бутиламин при добавлении щелочи всплывает на поверхность реакционной смеси в виде маслянистых капель с характерным запахом. Его можно перегнать с водяным паром и провести реакцию с диазотированным п-нитроанилином:



При кислотном гидролизе норсульфазола образуется 2-аминотиазол, имеющий определенную температуру плавления:



Гидролиз дихлотиазида в кислой среде приводит к образованию метадисульфонамида и формальдегида:



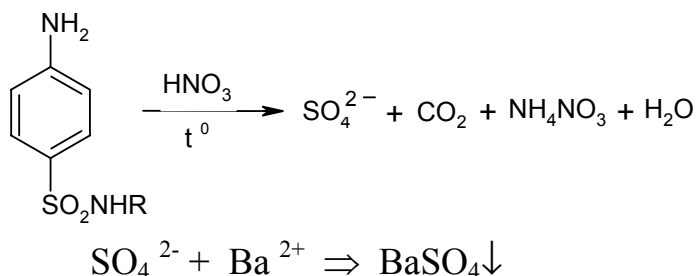
М-дисульфонамид идентифицируется по температуре плавления (260-263°), а также по реакции диазотирования и азосочетания с β-нафтолом.

Для доказательства формальдегида используют реакцию конденсации с динатриевой солью кислоты хромотроповой (образуется краситель пурпурного цвета).

Реакцию можно использовать для количественного определения дихлотиазида с помощью метода фотоэлектроколориметрии.

Определение сульфамидной серы

Для обнаружения сульфамидной серы вещество подвергают минерализации кипячением с концентрированной азотной кислотой:



Сульфат бария может служить весовой формой для гравиметрического определения лекарственных веществ.

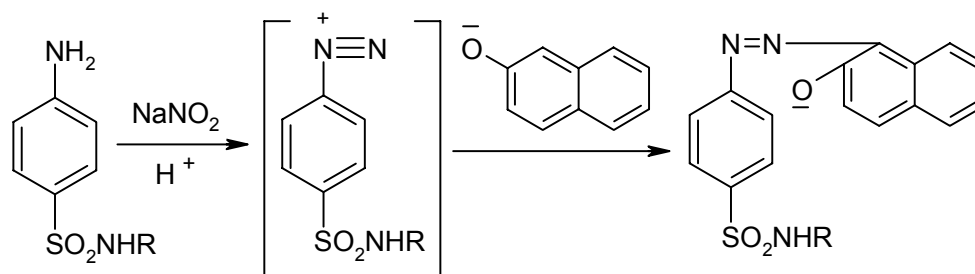
ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА, ОБУСЛОВЛЕННЫЕ ЧАСТНЫМИ ОСОБЕННОСТЯМИ БЕНЗОЛСУЛЬФОНИАМИДОВ

Производные амида сульфаниловой кислоты

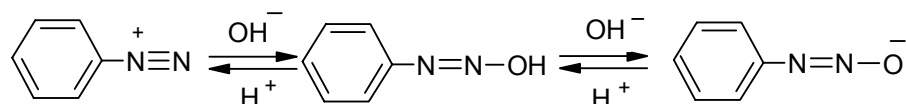
Для производных сульфаниламида характерен ряд химических превращений, связанных с наличием в их структуре первичной ароматической аминогруппы. Из-за неподеленной пары электронов на азоте амины ведут себя как нуклеофилы.

Диазотирование и азосочетание

Образование соли диазония происходит в кислой среде. Азосочетание требует оптимального значения pH раствора. Сочетание с β -нафтолом проводят в слабо-щелочной среде:



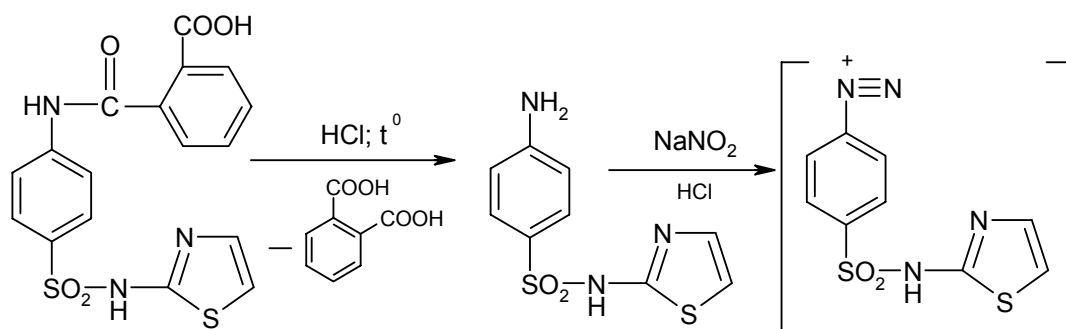
Сочетание с первичными аминами наиболее легко протекает в слабо-кислой среде. В сильно кислой среде ($\text{pH} \sim 1-3$) образуется соль амина, которая препятствует азосочетанию. В щелочной среде при $\text{pH} \sim 10$ преобладает свободный амин, соль диазония инактивируется вследствие образования диазотат-иона:



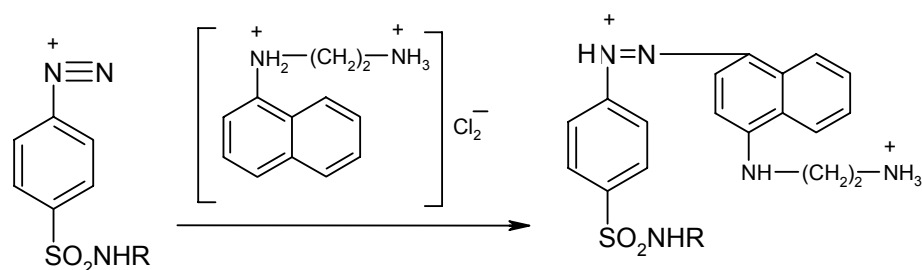
В связи с этим оптимальными условиями азосочетания с фенолами является $\text{pH} = 9-10$. Следует подчеркнуть, что β -нафтол с солью диазония сочетается в положении 1, а не в другом о-положении.

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.

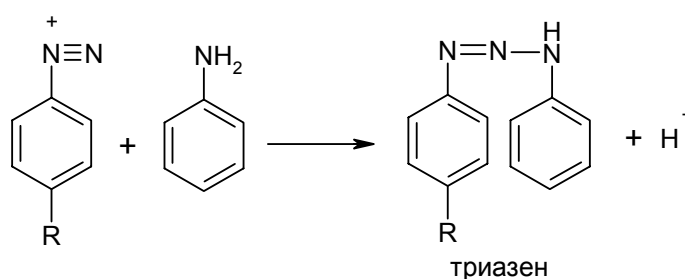
Лекарственные вещества с ацилированной аминогруппой, например, фталазол, вступают в реакцию диазотирования после кислотного гидролиза:



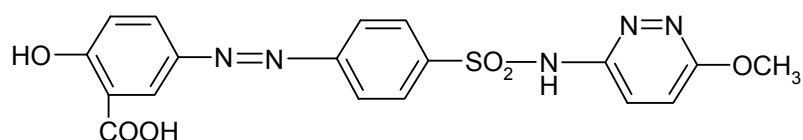
В качестве азосоставляющей может выступать амин, который в оптимальной области $\text{pH} = 5-7$ образует с солью диазония азокраситель основного характера. Наиболее широкое применение в качестве реагента нашел дихлорид N -(1-нафтил)-этилендиамина – реагент Браттона-Маршала:



Азосочетание с первичными и вторичными аминами в нейтральной или слабо щелочной среде ($\text{pH} = 7-8$) приводит к образованию диазоаминопроизводных (триазенов) за счет атаки электрофила – соли диазония – по азоту, а не по углероду кольца:



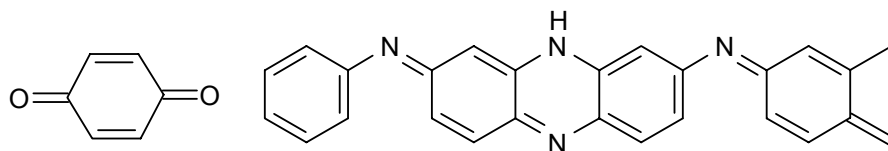
К группе азокрасителей относится лекарственное вещество «салазо-пиридазин», полученное на основе салициловой кислоты и сульфациридазина:



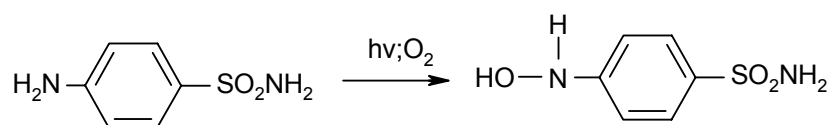
Окисление

Сульфаниламиды легко окисляются даже под действием кислорода воздуха, что приводит к изменению их внешнего вида при хранении. Наиболее легко окисление этих веществ происходит в водных растворах (пожелтение глазных капель сульфацил-натрия). Это определяет необходимость стабилизации растворов данных веществ антиоксидантами: сульфитом (метабисульфитом) натрия. Контроль их качества предусматривает определение цветности растворов.

При окислении веществ с первичной ароматической аминогруппой образуются различные структуры, содержащие системы сопряженных связей. Характер продуктов окисления зависит от природы окислителя. Установлено, что это могут быть:



Доказано, что одним из основных продуктов окисления сульфаниламида и норсульфазола кислородом воздуха и при участии света является гидроксиаминопроизводное:



Так как реакцию окисления катализируют соли тяжелых металлов, ГФ при испытании на чистоту лекарственных веществ этой группы требует определение примеси тяжелых металлов.

Взаимодействие сульфаниламидов с окислителями – калия бромат, хлорамин, калия дихромат и др. – является их общим свойством. Образование окрашенных продуктов, характерных часто только для одного из них, позволяет осуществлять выбор реактива для надежного определения соответствующего лекарственного вещества. Так, все сульфаниламиды реагируют с водородом пероксида в присутствии железа (III) хлорида. Однако, только стрептоцид образует при этом пурпурное окрашивание, поэтому данная реакция широко применяется для определения стрептоцида в различных лекарственных формах. Для уросульфана характерна реакция

окисления нитритом натрия при нагревании с образованием продуктов красного цвета.

При окислении сульфаниламидов хлорамином в щелочной среде и сочетании с фенолами образуются индофеноловые красители. Эта реакция применяется для количественного фотоколориметрического определения лекарственных веществ этой группы.

Способность веществ данной группы к окислению проявляется при пиролизе, в результате которого образуются окрашенные плавы и газообразные продукты, по которым можно идентифицировать лекарственное вещество. Так, стрептоцид при пиролизе образует плавы сине-фиолетового цвета, при этом выделяется анилин и аммиак. Если в структуре соединения имеется гетероатом серы, то при пиролизе образуется сероводород.

Знание общих свойств бензолсульфаниламидов и их проявление в конкретном лекарственном веществе в соответствии с особенностями его строения позволяет осуществлять выбор методов анализа при решении любой профессиональной задачи.

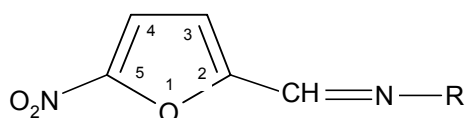
Тема 12. АНАЛИЗ ПРОИЗВОДНЫХ ФУРАНА, БЕНЗОПИРАНА, ПИРРОЛА, ПИРАЗОЛА, ИМИДАЗОЛА И ИНДОЛА

На основе гетероциклических систем создано множество современных лекарственных средств. Получение многих из них является следствием изучения биологической активности гетероциклических природных соединений. В свою очередь, изучение их синтетических аналогов служит основой для дальнейшего развития синтеза новых лекарств. В последнее время достаточно широко применяется программа компьютерного моделирования лекарств.

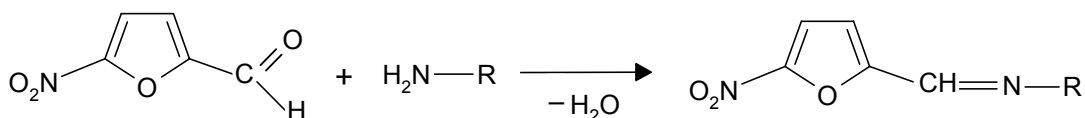
Лекарственные средства, относящиеся к данной теме, представляют собой разнообразные химические соединения, в которых проявляются закономерности, присущие другим классам и группам химических соединений. Это дает возможность развитию широких обобщений для применения химических и физико-химических закономерностей в решении профессиональных задач провизора.

1. ПРОИЗВОДНЫЕ 5-НИТРОФУРАНА

Фуран – пятичленный гетероцикл с гетероатомом кислорода; подобно бензолу обладает ароматическим характером. Лекарственные вещества данной группы используют как антибактериальные средства. Строение большинства из них можно представить общей формулой:

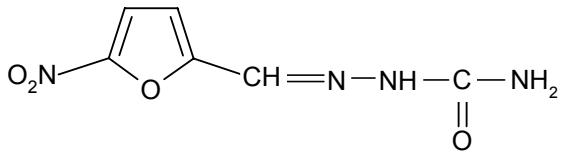
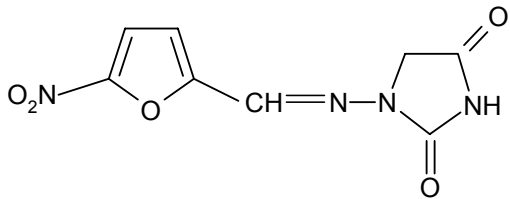
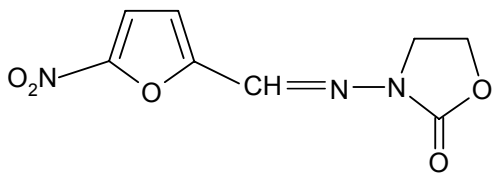


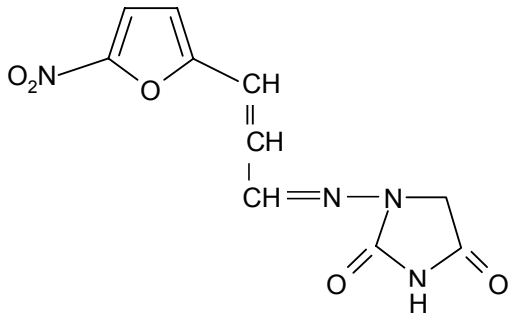
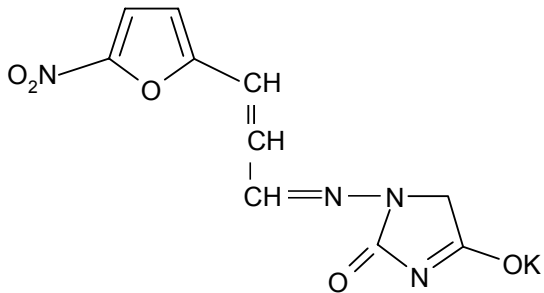
По строению эти вещества можно рассматривать как продукт конденсации альдегида 5-нитрофурфурола с соответствующим аминопроизводным:



Таким образом, лекарственные вещества данной группы построены по типу оснований Шиффа и содержат азометиновую связь — CH = N — (см. табл. 1).

Таблица 1. Производные 5-нитрофурана

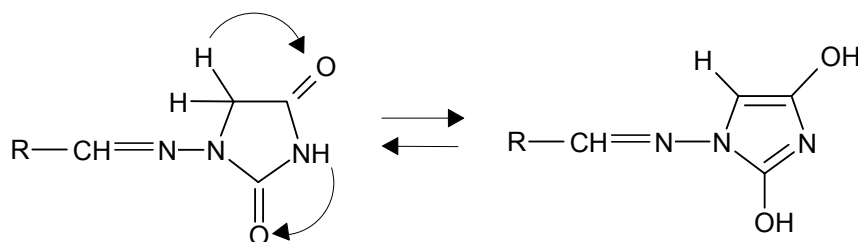
Химическая структура	Описание
	<p>Furacilinum. Фурацилин. 5-Нитрофурфурола семикарбазон. Желтый или зеленовато-желтый мелкокристаллический порошок. Очень мало растворим в воде, мало растворим в 95% спирте, практически нерастворим в эфире, растворим в щелочах. Антибактериальное средство. Лекарственные формы: таблетки, мазь.</p>
	<p>Furadonin. Фурадонин. N-(5-нитро-2-фурфурилиден)-1-аминогидантоин. Желтый или оранжево-желтый мелкокристаллический порошок. Очень мало растворим в воде и 95% спирте, мало растворим в ацетоне. Антибактериальное средство. Лекарственная форма: таблетки</p>
	<p>Furazolidonum. Фуразолидон. N-(5-нитро-2-фурфурилиден)-3-аминооксазолидон-2. Желтый или зеленовато-желтый порошок, практически нерастворим в воде и эфире, очень мало растворим в 95% спирте. Антибактериальное и антипротозойное средство. Лекарственная форма: таблетки.</p>

	<p>Furaginum. Фурагин. N-(5-нитро-2-фурил)-аллилиден-аминогидантоин. Желтый или оранжево-желтый мелкокристаллический порошок. Практически нерастворим в воде и 95% спирте. Антибактериальное средство. Лекарственная форма: таблетки.</p>
	<p>Furaginum solubile. Фурагин растворимый (Солафур) Калиевая соль фурагина. Лекарственные формы: таблетки, капсулы, смесь для приготовления раствора местного применения (содержит 10% фурагина растворимого и 90% натрия хлорида).</p>

Кислотно-основные свойства

Производные 5-нитрофурана являются веществами кислотного характера. У фурацилина кислотные свойства обусловлены подвижным атомом водорода амидной группы в остатке семикарбазида.

Фурадонин проявляет кислотные свойства за счет кето-енольной и лактим-лактамно́й таутомерии в гидантоиновом фрагменте:



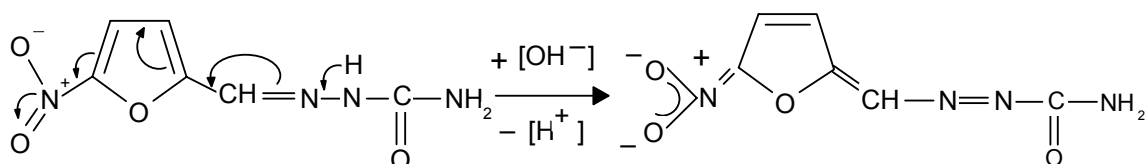
Лактим-лактамно́я таутомерия обуславливает также возможность существования фурагина в двух формах кислотной (лактамно́й) и солевой (лактимно́й).

У фуразолидона кислотные свойства выражены слабее, чем у других лекарственных веществ группы 5-нитрофурана.

Кислотные свойства лекарственных веществ группы 5-нитрофурана проявляются в следующих видах взаимодействия:

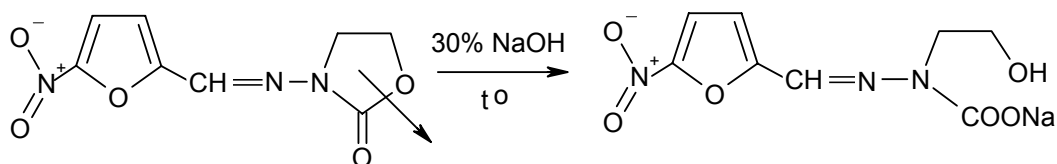
- с водными растворами щелочей;
- с протофильными растворителями (пиридин, диметилформамид);
- с ионами тяжелых металлов.

Все лекарственные вещества данной группы реагируют с раствором натрия гидроксида, что приводит к углублению их окраски. Поэтому реакция со щелочью является общегрупповой для данных веществ. Фурацилин при растворении в 10% растворе натрия гидроксида дает оранжево-красное окрашивание. При этом происходит депротонирование NH-кислотного центра, что вызывает перераспределение электронной плотности, а это в свою очередь приводит к ионизации вещества и образованию новой сопряженной системы двойных связей. Эти два фактора и являются причиной углубления окраски:



Образование темно-красного окрашивания при действии раствора натрия гидроксида на фурадонин обусловлено таутомерными превращениями в ядре гидантоина (см. выше), что также приводит к образованию дополнительных двойных связей и ионизации.

Фуразолидон дает бурое окрашивание с 30% раствором щелочи при нагревании, что связано с расщеплением лактонного цикла (ядро оксазолидона) и получения ионизированной соли:



Реакция с групповым реагентом – раствором натрия гидроксида лежит также в основе количественного фотометрического определения лекарственных веществ группы 5-нитрофурана и их препаратов.

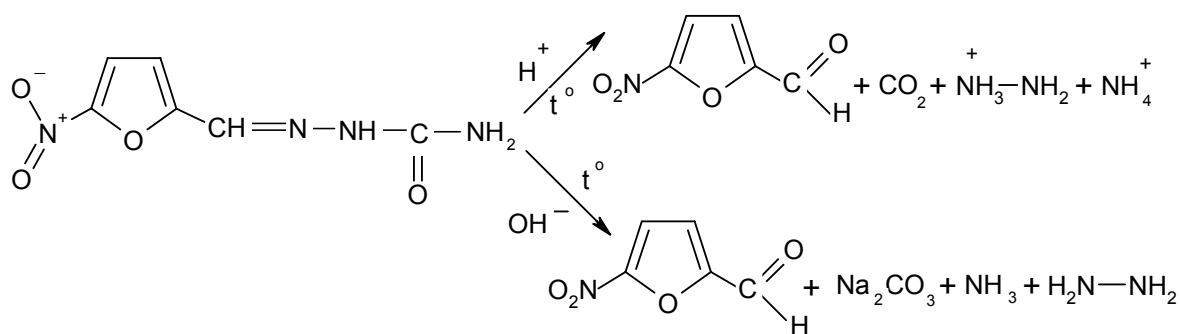
За счет кислотных свойств производные 5-нитрофурана растворяются в протофильных растворителях (пиридин, диметилформамид) с образованием окрашенных анионов, которые с катионами щелочных металлов об-

разуют соли различного цвета. Это свойство позволяет дифференцировать данные вещества.

Кислотный характер производных 5-нитрофурана дает возможность проводить реакции комплексообразования с ионами тяжелых металлов (Cu^{2+} , Co^{2+} , Ag^+). Эти реакции не специфичны.

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. Являясь семикарбазоном, фурацилин подвергается гидролизу как в кислой, так и в щелочной средах при нагревании с образованием соответствующих продуктов:



Методы количественного анализа

1) Кислотно-основное титрование в неводной среде.

Как вещества кислотного характера, производные 5-нитрофурана можно титровать в среде протопфильных растворителей (диметилформамид, пиридин, бутиламин) стандартными растворами метоксидов натрия или лития. Так, Международная фармакопея (3 изд., т. III) рекомендует этот метод для фурадонина (среда – диметилформамид, титрант – 0,1 н. раствор лития метоксида), который титруется как одноосновная кислота.

2) Метод фотометрии.

Метод основан на измерении поглощения света в видимой области спектра растворов производных 5-нитрофурана в протопфильных растворителях (как окрашенных соединений, имеющих собственные хромофорные группы). Иногда для лучшей ионизации добавляют спиртовые или водные растворы щелочей.

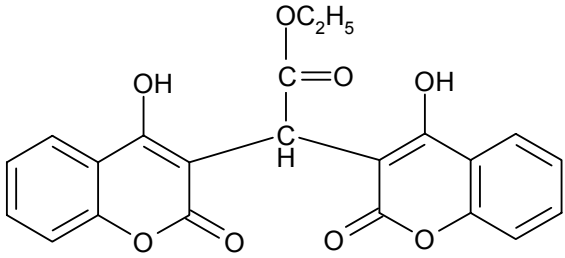
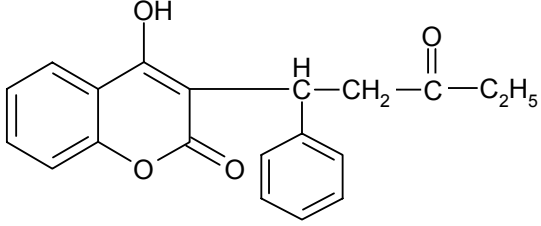
2. ПРОИЗВОДНЫЕ БЕНЗОПИРАНА

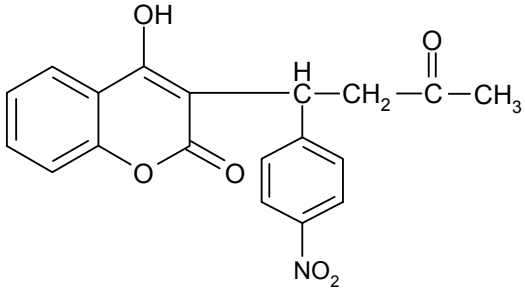
Данная группа включает лекарственные средства различного фармакологического действия:

- **производные кумарина** – этилбискумацетат (неодикумарин), фе-промарон, аценокумарол (синкумар) – антикоагулянты;
- **хромановые соединения** – токоферола ацетат (витамин группы E);
- **фенилхромановые соединения** – рутозид (рутин), кверцитин, ди-гидроверцитин (витамины группы P).

Производные кумарина

Таблица 2. Общие свойства производных кумарина

Химическая структура	Описание
	<p>Ethylbiscoumacetate. Этилбискумацетат (Неодикумарин). Этиловый эфир 4-гидрокси-α-(4-гидрокси-2-оксо-2H-1-бензопиран-3-ил)-2-оксо-2H-1-бензопиран-3-уксусной кислоты. Белый или со слегка кремоватым оттенком мелкокристаллический порошок. Очень мало растворим в воде, трудно в ацетоне, мало растворим в 95% спирте и эфире. Антикоагулянт. Лекарственная форма: таблетки</p>
	<p>Fepromaron. Фепромарон 3-α-фенил-β-пропионил-3-этил-4-оксикумарин. Белый или белый с кремоватым оттенком кристаллический порошок, практически нерастворим в воде, мало растворим в 95% спирте. Антикоагулянт. Лекарственная форма: таблетки</p>

	<p>Аценосумарол. Аценокумарол (Синкумар). 3-[α-(4-нитрофенил)-β-ацетил-этил]-4-оксикумарин.</p> <p>Белый или белый с кремоватым оттенком кристаллический порошок без запаха. Нерастворим в воде, мало растворим в спирте.</p> <p>Антикоагулянт.</p> <p>Лекарственная форма: таблетки</p>
---	--

В основе молекулы этилбискумацетата лежит ядро кумарина – лактона *o*-оксикоричной кислоты. С другой стороны – лекарственное вещество является сложным эфиром (этиловым) замещенной кислоты уксусной и содержит два енольных гидроксила. Эти структурные фрагменты обуславливают химические свойства и методы анализа этилбискумацетата и близких к нему по строению фепромарона и аценокумарола.

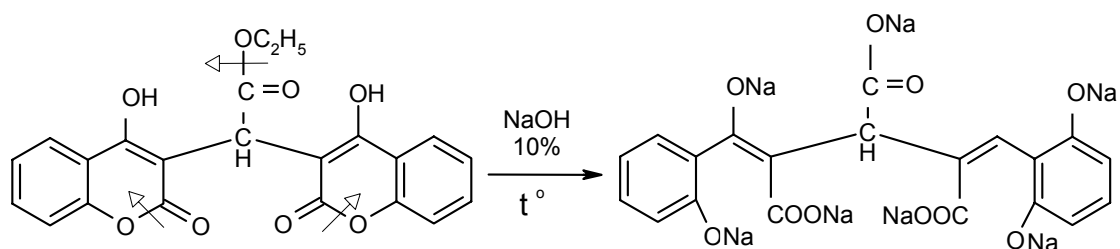
Кислотные свойства

Как енол этилбискумацетат относится к ОН-кислотам. Поэтому он реагирует с раствором натрия гидроксида (эту реакцию применяют в количественном определении), а также дает окрашенную комплексную соль с железа (III) хлоридом (реакция подлинности).

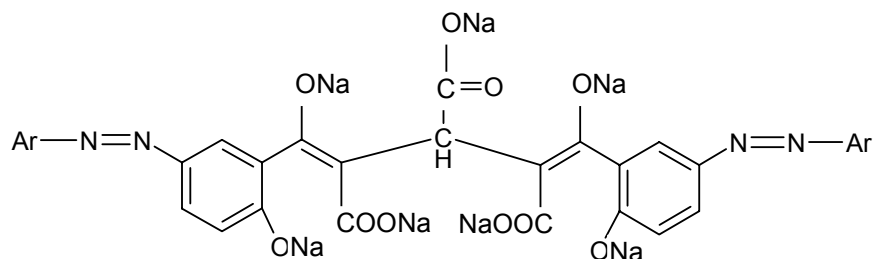
Гидролитическое разложение

Как лактон и сложный эфир, неодикумарин подвергается гидролитическому разложению. Характер продуктов реакции зависит от условий проведения реакции.

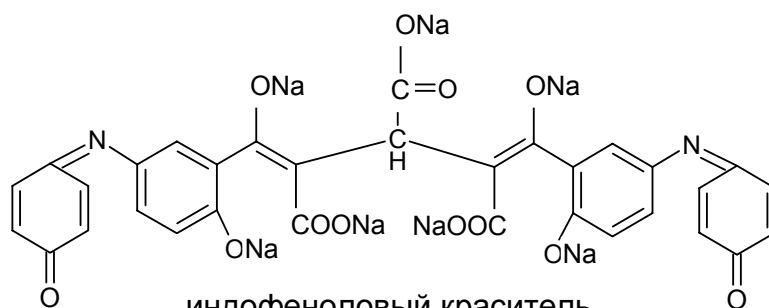
Так при нагревании с 10% раствором натрия гидроксида идет раскрытие лактонного цикла с образованием фенолокислоты:



Продукт реакции (уже как фенол) можно идентифицировать с помощью реакций электрофильного замещения, а именно образования азокрасителя (путем сочетания с солями диазония) и индофенолового красителя (с хинониминном):

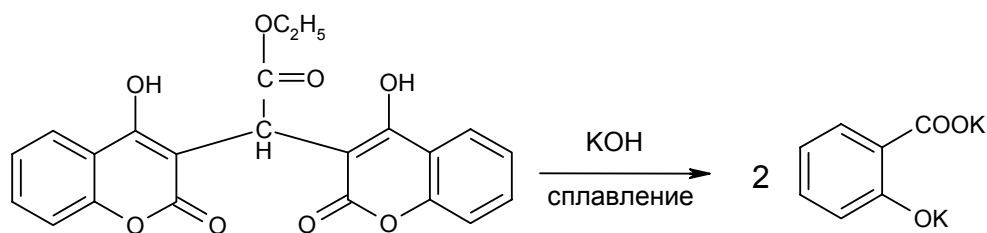


азокраситель (вишнево-красного цвета)



индофеноловый краситель
(синего цвета)

При гидролизе в жестких условиях (сплавлении с кристаллическим натрием гидроксидом) идет деструкция молекулы с образованием натриевой соли кислоты салициловой, которую идентифицируют с железа (III) хлоридом:



Гидроксомувая реакция

За счет лактонного цикла и сложно-эфирной группы неодикумарин вступает в гидроксомувую реакцию, что можно использовать для его качественной и количественной оценки. Реакция не является специфичной, так как ее дают и другие сложные эфиры, лактоны, амиды, лактамы.

Для проведения реакции лекарственное вещество нагревают со щелочным раствором гидроксиламина. При этом образование гидроксамовой кислоты идет по трем фрагментам молекулы: сложно-эфирной группы и двум лактонным циклам. Затем получают окрашенную соль – гидроксамат железа (III) или гидроксамат меди (II).

Реакция ацетилирования

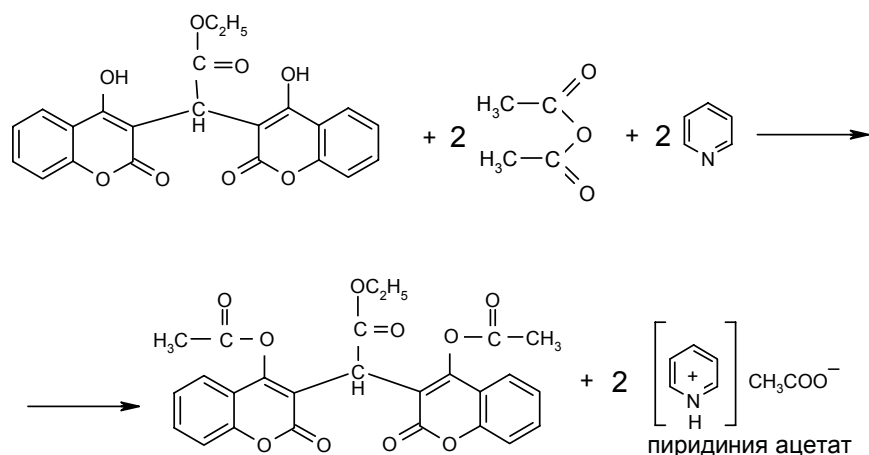
Енольные гидроксилы обуславливают способность неодикумарина давать сложные эфиры – а именно, при действии ангидрида уксусного идет реакция ацетилирования с образованием диацетата, который идентифицируют по температуре плавления. Данная реакция используется также для количественного определения (см. ниже).

Методы количественного определения

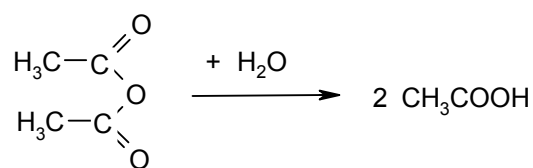
1) Алкалиметрия. За счет кислотных свойств неодикумарин после растворения в ацетоне титруют водным раствором натрия гидроксида. В этих условиях этилбискумацетат ведет себя как одноосновная кислота, образуя однозамещенную соль (енолят). Молярная масса эквивалента в данном случае равна молярной массе лекарственного вещества.

2) Кислотно-основное титрование в неводной среде. Навеску этилбискумацетата растворяют в протопфильном растворителе (бутиламине) и титруют стандартным раствором лития гидроксида. Здесь лекарственное вещество ведет себя как двухосновная кислота и молярная масса эквивалента равна $\frac{1}{2}$ молярной массы этилбискумацетата.

3) Ацетилирование. Метод основан на реакции этерификации. На первой стадии неодикумарин нагревают с ангидридом уксусным в присутствии пиридина. При этом образуется диацетат и выделяется кислота уксусная, связываемая пиридином:



На второй стадии избыток ангидрида уксусного подвергают гидролизу, в результате чего образуется кислота уксусная:



На третьей стадии выделившуюся кислоту уксусную оттитровывают стандартным 0,1 М раствором натрия гидроксида.

Параллельно проводят контрольный опыт.

Содержание этилбискумацетата (%) определяют по формуле:

$$C_{(\%)} = \frac{(V_{\text{к.о}} - V_{\text{о.о}}) \cdot k \cdot T \cdot 100}{a}$$

где $V_{\text{к.о.}} - V_{\text{о.о.}}$ – разница объемов (0,1 М раствора натрия гидроксида, пошедшего на титрование в контрольном и основном опытах (мл);

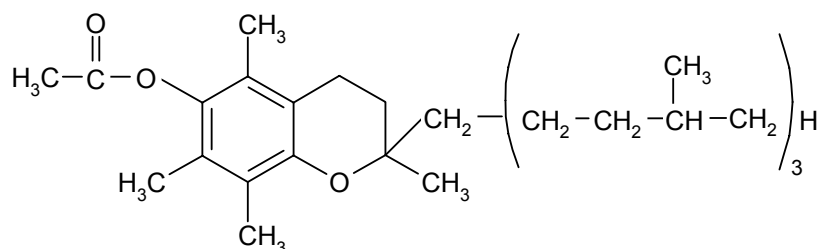
k – коэффициент поправки к титрованному раствору;

T – титриметрический фактор пересчета;

a – навеска (г).

Хромановые соединения (Tocopheroli acetas, токоферола ацетат, витамин E)

Токоферола ацетат – 6-Ацетокси-2,5,7,8-тетраметил-2-(4',8',12'-триметилтридецил)-хроман:



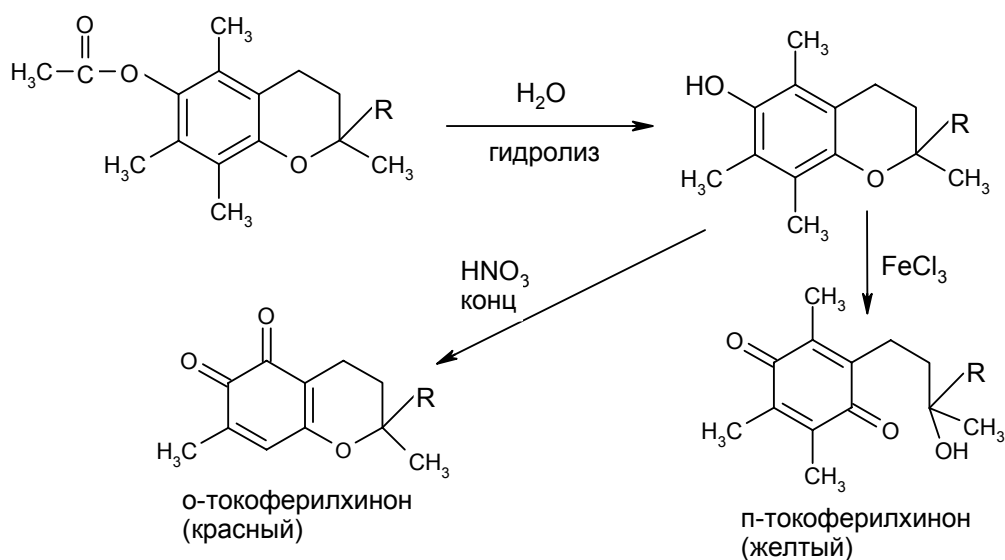
Светло-желтая прозрачная вязкая маслянистая жидкость со слабым запахом. На свету окисляется и темнеет. Практически нерастворим в воде, растворим в 95% спирте, очень легко в эфире, хлороформе и растительных маслах.

В основе молекулы токоферола лежит ядро хромана (бензодигидропирана). Применяется в виде сложного эфира (ацетата), который более устойчив.

Токоферол имеет характерное поглощение в УФ-области спектра с максимумом при 285 нм в абсолютном спирте.

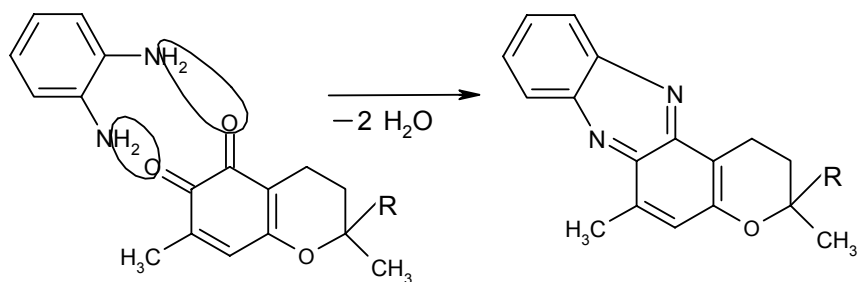
Восстановительные свойства

Характерным свойством токоферола ацетата является способность к окислению из-за наличия в молекуле лекарственного вещества фенольного гидроксила. Химическая структура продуктов окисления и их окраска зависят от характера окислителя. При действии – хлорида железа (III), церия сульфата (IV) – образуется *p*-токоферилхинон желтого цвета. Взаимодействие токоферола с сильными окислителями, например, с азотной кислотой концентрированной, приводит к образованию красного цвета *o*-токоферилхинона:



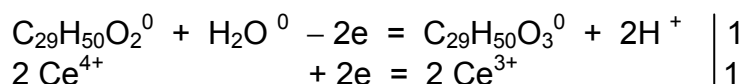
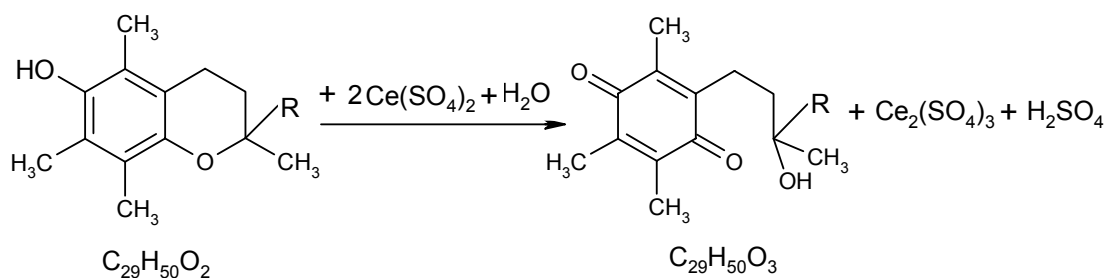
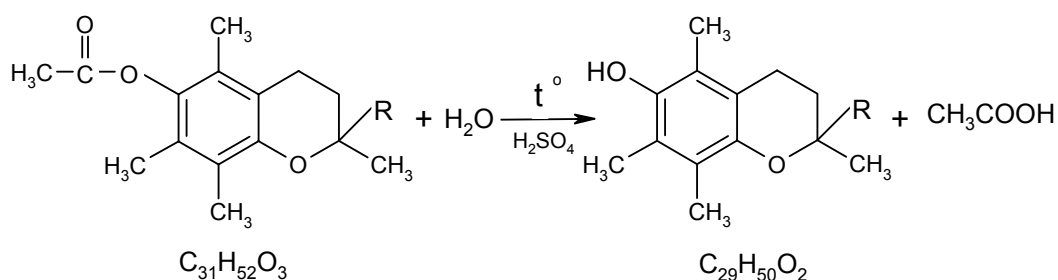
Слабые окислители действуют на токоферола ацетат только после гидролиза. При взаимодействии лекарственного вещества с железом (III) хлоридом ион Fe^{3+} восстанавливается до иона Fe^{2+} , который с *o*-фенантролином или α,α -дипиридилем образуют хелатные комплексы оранжево-красного цвета.

При конденсации продукта окисления токоферола кислотой азотной – *o*-токоферилхинона – с *o*-фенилендиамином образуется феназиновый краситель красно-оранжевого цвета с желто-зеленой флуоресценцией:



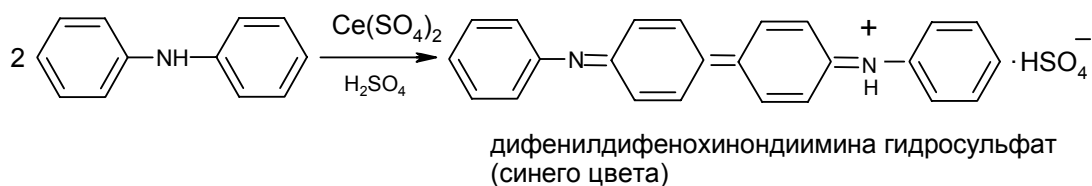
Количественное определение

Токоферола ацетат количественно определяют цериметрически, используя выраженные восстановительные свойства лекарственного вещества. После предварительного гидролиза токоферола ацетата (нагревание с раствором кислоты серной) образовавшийся токоферол титруют стандартным раствором церия (IV) сульфата. При этом токоферол окисляется до *n*-токоферилхинона:



Как видно из уравнения реакции, молярная масса эквивалента равна $\frac{1}{2}$ молярной массы токоферола ацетата.

В качестве индикатора применяют дифениламин (бесцветный), который в точке эквивалентности окисляется избыточной каплей титранта до окрашенного в синий цвет дифенилдифенохинондиимина сульфата:

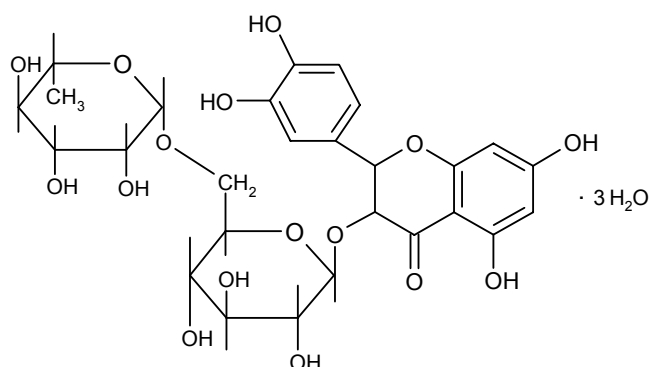


Легкая окисляемость токоферола ацетата, особенно на свету, является причиной его нестабильности при хранении.

Фенилхромановые соединения

К данной группе лекарственных веществ относятся флавоноиды (витамины группы Р) – рутозид (рутин), кверцетин и дигидрокверцетин.

Рутозид (Rutosidum) – 3-Рутинозид кверцетина или 3-рамногликозил-3,5,7,3',4'-пентаоксифлавонон:



Зеленовато-желтый мелкокристаллический порошок. Практически нерастворим в воде, мало растворим в 95% спирте, практически нерастворим в растворах кислот, эфире, хлороформе, ацетоне и бензоле, растворим в разбавленных растворах едких щелочей.

По химическому строению рутозид является гликозидом. Сахарная часть (дисахарид рутиноза) включает D-глюкозу и L-рамнозу. Агликон – кверцетин относится к флаваноидам, содержащим ядро хромана (дигидробензпирана).

Для рутозида характерно поглощение в УФ-области спектра при двух максимумах – 259 и 362,5 нм. Это свойство используется для определения подлинности, доброкачественности (при идентификации примеси кверцетина) и количественного анализа.

Кислотные свойства

Наличие фенольных гидроксильных групп придает соединению кислотные свойства и, как следствие, способность растворяться в разбавленных щелочах с углублением окрашивания до желто-оранжевого.

Образование азокрасителей

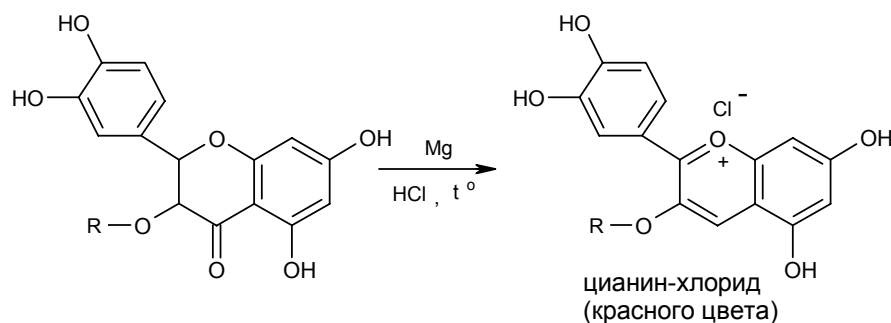
Как фенол, рутозид способен вступать в реакцию азосочетания с образованием азокрасителя. Для этого необходимо сначала получить соль диазония и добавить ее к щелочному раствору рутина. Появляется темно-красное окрашивание.

Реакции на сахарный компонент

Являясь гликозидом, рутозид дает положительную реакцию на сахарный компонент с реактивом Фелинга, что позволяет отличить его от кверцетина (агликона). Для этого рутозид предварительно подвергают кислотному гидролизу при нагревании, в результате чего разрушается гликозидная связь и освобождаются сахара, обладающие восстановительными свойствами. Далее при кипячении с реактивом Фелинга образуется красный осадок меди (I) оксида.

Образование пирилиевых солей (цианидиновая проба)

Специфической реакцией подлинности на рутозид и кверцетин является цианидиновая проба. Она основана на образовании окрашенных пирилиевых солей при восстановлении водородом флавоноидного фрагмента. Для этого на спиртовой раствор рутозида действуют кислотой хлороводородной концентрированной и порошком магния. Появляется красное окрашивание, присущее цианин-хлориду – соли бензопирилия или бензопироксония:



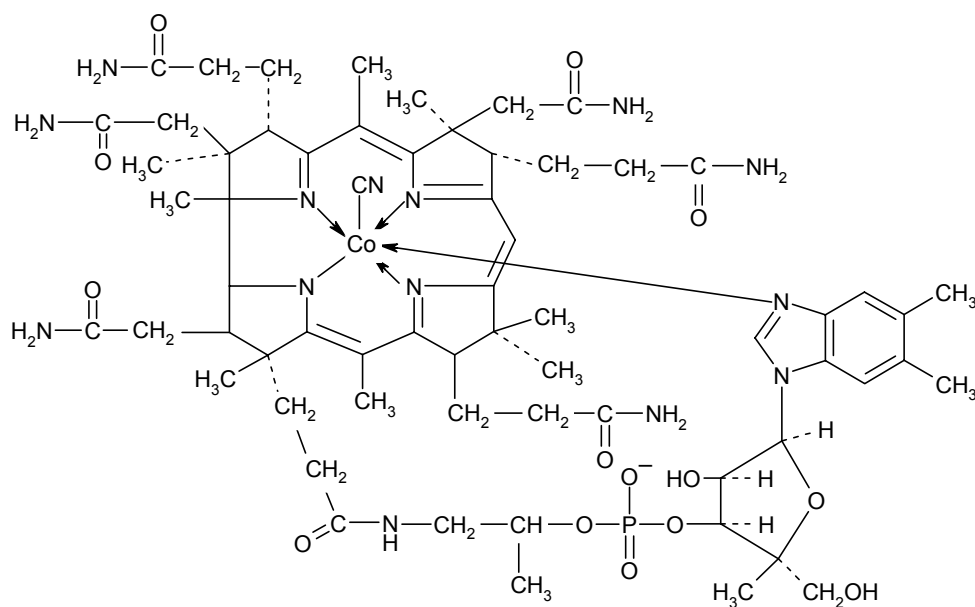
Количественное определение

За счет ароматичности системы и наличия сопряженных двойных связей в сочетании с карбонильной группой рутозид поглощает в УФ-области спектра. Измеряют оптическую плотность спиртового раствора лекарственного вещества при определенной длине волны.

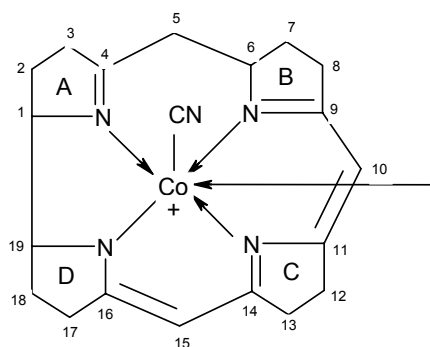
3. ПРОИЗВОДНЫЕ ПИРРОЛА

Витамины группы В₁₂

К лекарственным средствам данной группы относятся цианокобаламин, гидроксокобаламин, кобамамид. По своей структуре витамин В₁₂ – это кобальтовый комплекс нуклеотида бензимидазола и макроциклической корриновой системы:



Нуклеотидная часть молекулы включает нуклеиновое основание (5,6-диметилбензимидазол), углеводный фрагмент (рибоза) и остаток фосфорной кислоты. Корриновая система состоит из трех пирролиновых циклов (А, В, С) и одного пирроллидинового (цикл D):



В центре этой системы находится атом кобальта, который связан координационными связями с гетероатомами азота трех пирролиновых циклов и четвертой ковалентной связью с атомом азота пирролидинового кольца D.

Кроме того, кобальт связан ковалентной связью с цианогруппой и координационной связью с гетероатомом азота 5,6-диметилбензимидазола нуклеотидной части молекулы. Связь кобальта с остатком кислоты фосфорной является электровалентной, т.е. положительный заряд кобальта частично нейтрализован отрицательным зарядом кислоты фосфорной. Таким образом, цианокобаламин представляет собой одновременно и хелат, и внутреннюю соль, где катионом является корриновый фрагмент, а анионом – нуклеотидная часть.

В корриновой части имеются три ацетамидных группы (в положениях 2, 7, 18) и четыре пропионамидных (по положениям 3, 8, 13, 17), а также 8 метильных групп. Причем в положении 17 амидная группа замещена остатком аминок спирта.

Таким образом, нуклеотидная и корриновая части молекулы соединены между собой:

1) пептидной и сложной эфирной связью (через 1-аминопропанол-2, этерифицированный кислотой фосфорной). Поскольку последняя этерифицирована также рибозой, витамин B₁₂ можно рассматривать и как диэфир;

2) координационной связью атома кобальта с гетероатомом азота бензимидазола;

3) электровалентной связью между остатком фосфорной кислоты и атомом кобальта.

В молекуле цианокобаламина имеется несколько ассиметрических атомов углерода, поэтому лекарственные вещества этой группы оптически активны (левовращающие).

Оксикобаламин отличается от цианокобаламина тем, что атом кобальта связан не с CN- группой, а с оксигруппой. И, кроме того, является солью (гидрохлоридом).

В кобамамиде атом кобальта соединен ковалентной связью не с CN- группой, а с β -5'-дезоксиаденозильным остатком.

Физические и физико-химические свойства

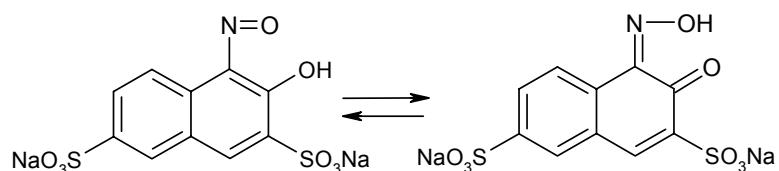
По внешнему виду цианокобаламин, оксикобаламин и кобамамид – кристаллические порошки темно-красного цвета. Цианокобаламин умеренно и медленно растворим в воде, растворим в 95% спирте, практически нерастворим в эфире, хлороформе, ацетоне. Кобамамид трудно растворим в воде; оксикобаламин растворим в воде.

Все указанные лекарственные вещества поглощают свет в УФ- и видимой областях спектра. Поэтому спектрофотометрия широко используется в их анализе: для идентификации, количественной оценки, определения поглощающих примесей. Спектр поглощения цианокобаламина характеризуется тремя полосами поглощения с максимумами при 278, 361 и 550 нм. Поглощение при 278 нм обусловлено наличием фрагмента 5,6-диметилбензимидазола, при 361 нм – корриновой системой с шестью сопряженными двойными связями, при 550 нм – наличием атома кобальта.

Методы анализа

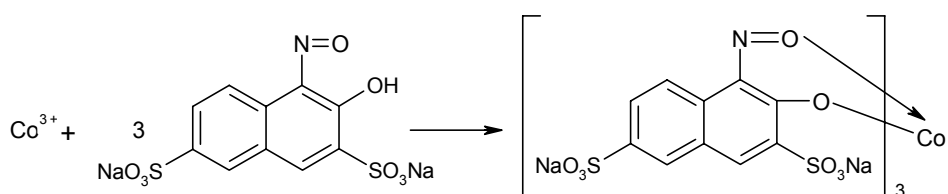
Кроме определения спектральных характеристик при испытании на подлинность проводят реакции на кобальт и цианогруппу.

Определение кобальта. Предварительно кобальт переводят в ионогенное состояние, для чего лекарственное вещество сплавляют с калия гидросульфатом. Затем плав нейтрализуют щелочью; добавляют кислоту уксусную и натрия ацетат (буферная смесь), а затем раствор нитрозо-R-соли (1-нитрозо-2-нафтол-3,6-дисульфонат натрия):



нитрозо-R-соль (в двух таутомерных формах)

Появляется красное окрашивание, сохраняющееся после прибавления кислоты хлороводородной и кипячения. Последнее указывает на прочность комплекса, образованного трехвалентным кобальтом с реактивом:



Определение цианогруппы. Навеску цианокобаламина нагревают в пробирке с кислотой щавелевой, под действием которой выделяется кислота циановодородная. Последнюю обнаруживают с помощью фильтровальной бумаги, смоченной раствором бензидина и меди (II) ацетата, в результате чего образуется окрашенное в синий цвет комплексное соединение.

Цианокобаламин (а также оксикобаламин и кобамамид) **количественно** определяют спектрофотометрически с применением стандартного образца лекарственного вещества.

Стабильность и хранение

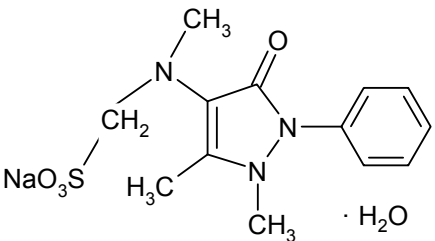
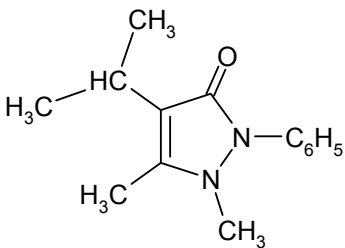
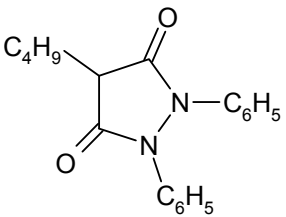
Цианокобаламин неустойчив в кислой и щелочной средах, так как при этом идет инактивация его как витамина. Наибольшая устойчивость цианокобаламина наблюдается при рН 4,0 – 6,0. Оксикобаламин и кобамамид устойчивы в слабо кислых буферных средах.

Микрофлора поглощает витамины В₁₂, поэтому необходимо хранение в асептических условиях. Окислители, восстановители, соли тяжелых металлов также инактивируют эти вещества.

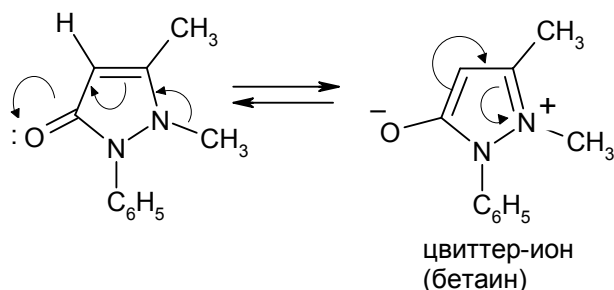
Цианокобаламин хранят в сухом, защищенном от света месте при комнатной температуре; кобамамид – при температуре не выше +5 °С, а оксикобаламин – при температуре не выше +10 °С, так как два последних лекарственных вещества являются термолабильными.

4. ПРОИЗВОДНЫЕ ПИРАЗОЛА

Пиразол – пятичленный гетероцикл ароматического характера с двумя гетероатомами азота в положениях 1 и 2. В медицине применяются производные пиразолина (частично гидрированной системы), окисленная форма которого называется пиразолон-5:

	<p>Metamizolum natrium (Analginum). Метамизол-натрий (Анальгин). 1-фенил-2,3-диметил-4-метиламино-пиразолон-5-N-метансульфонат натрия.</p> <p>Белый или белый с едва заметным желтоватым оттенком кристаллический порошок. В присутствии влаги быстро разлагается. Растворим в 1,5 ч. воды, 160 ч. 95% спирта, практически нерастворим в эфире, хлороформе, ацетоне.</p> <p>Лекарственные формы: таблетки, раствор для инъекций.</p>
	<p>Propyphenazonum. Пропифеназон. 1-фенил-2,3-диметил-4-изопропил-пиразолон-5.</p> <p>Белый или слегка желтоватый кристаллический порошок. Мало растворим в воде, легко растворим в спирте, метилхлориде, хлороформе и эфире.</p>
	<p>Phenylbutazonum (Butadionum). Фенилбутазон (Бутадион) 1,2-дифенил-4-бутилпиразолидиндион-3,5</p> <p>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.</p>

Антипирин и анальгин растворимы в воде, что связано с особенностями их химического строения. Анальгин является натриевой солью замещенной серной кислоты. Растворимость антипирина в воде обусловлена его способностью образовывать при растворении в воде внутреннюю соль (цвиттер-ион) или бетаиновую структуру, которая хорошо сольватруется водой:



Для производных пиразолона характерно поглощение в ИК- и УФ-областях спектра. УФ-спектры имеют два максимума в интервалах 243 – 245 нм и 265 – 275 нм. Данное свойство используется как для идентификации, так и для количественной оценки препаратов в лекарственных формах.

Химические свойства и методы анализа

Кислотно-основные свойства

Производные пиразолона имеют слабо выраженный основной центр – гетероатом азота в положении 2. Атом азота положения 1 практически не проявляет основных свойств из-за влияния атома кислорода карбонильной группы и фенильного радикала.

Таким образом, антипирин является слабым однокислотным основанием. Водный раствор его нейтрален (рН 6,0 – 7,5).

Анальгин является натриевой солью довольно сильной замещенной сульфокислоты и поэтому его водные растворы имеют нейтральную реакцию среды (рН 6,0 – 7,5).

Как азотсодержащие органические основания, лекарственные вещества группы пиразолона образуют с общеалкалоидными реактивами осадки комплексных солей. Следует отметить особенность проведения реакции с реактивом Люголя (раствор йода в калия йодиде). Антипирин с раствором йода сначала образует бесцветный йодопирин, поэтому при добавлении первых капель реактива наблюдается обесцвечивание йода, а затем (при избытке реактива) выпадает бурый осадок комплексной соли – периодида.

В случае анальгина при действии первых капель реактива идет окисление лекарственного вещества с образованием окрашенных продуктов, а

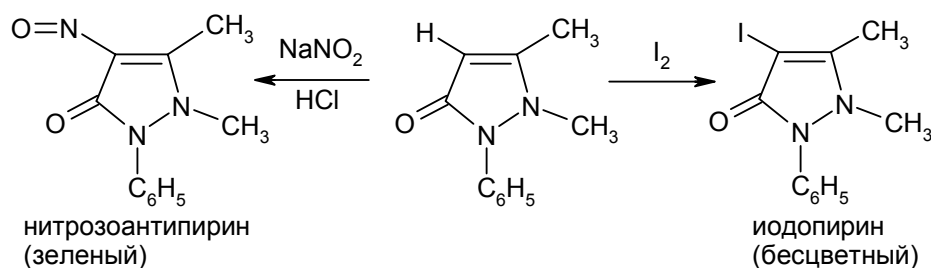
при добавлении избытка реактива – осадок периодида (или полийодида) анальгина.

Частные реакции

Антипирин

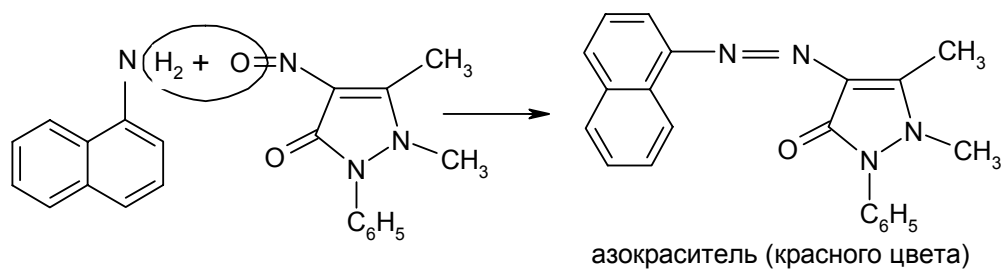
1) Реакция комплексообразования. За счет способности давать в водном растворе цвиттер-ион антипирин образует с железа (III) хлоридом комплексную соль красного цвета, обесцвечивающуюся при добавлении минеральных кислот.

2) Реакции электрофильного замещения. Вследствие образования бетаиновой структуры и ее ароматического характера, антипирин вступает в S_E реакции по четвертому положению. Электрофилами являются нитрозо- и нитропроизводные, а также галогены. Поэтому в отличие от анальгина антипирин не окисляется растворами йода и натрия нитрита в кислой среде, а образует продукты замещения:

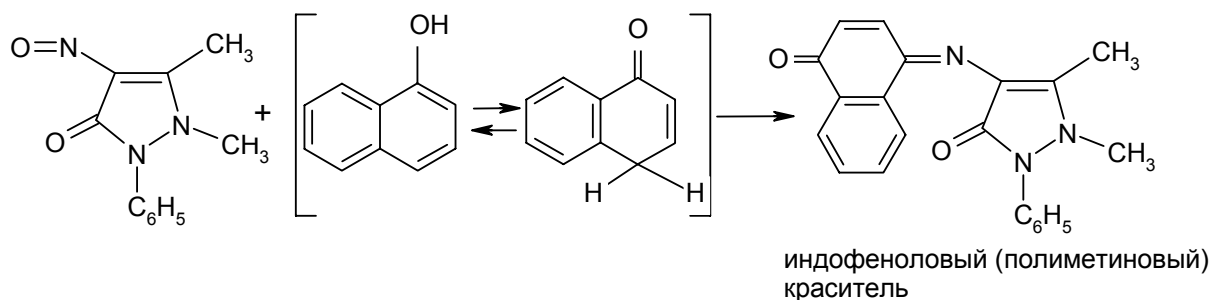


Реакция образования нитрозоантипирина применяется для идентификации антипирина и его количественного определения методом фотоэлектроколориметрии. Эта реакция может быть использована также для открытия нитрит-иона.

На основе нитрозоантипирина можно получить азокраситель при взаимодействии с 1-нафтиламином:



Индофеноловый краситель образуется при сочетании нитрозоантипирина с 1-нафтолом (в кето-форме):



Реакция взаимодействия с йодом лежит в основе количественного определения антипирин йодометрическим методом. При действии на антипирин избытка титрованного раствора йода образуется йодопирин (см. выше) и выделяется кислота йодоводородная, которую связывают натрия ацетатом, чтобы предотвратить обратную реакцию. Поскольку йодопирин может адсорбировать йод, для его извлечения добавляют хлороформ. Избыток йода титруют натрия тиосульфатом, т.е. до обесцвечивания хлороформного слоя. Параллельно проводят контрольный опыт.

Анальгин

1) Реакции окисления. Анальгин проявляет выраженные восстановительные свойства, которые обусловлены наличием неустойчивой частично гидрированной системы пиразолина и гидразиновой группировки. Кроме того, его реакционная способность усилена радикалом при С₄. Способность к окислению определяет реакции идентификации, метод количественного анализа и особенности хранения.

В качестве окислителей для идентификации анальгина используют: железа (III) хлорид, серебра нитрат, натрия нитрит, калия йодат и др.

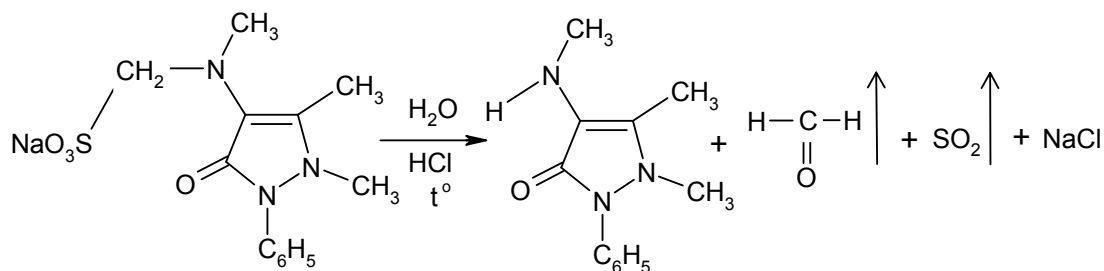
Анальгин с раствором серебра нитрата сначала дает белый осадок соли серебра, затем окрашенный продукт окисления и выделение осадка металлического серебра.

При взаимодействии анальгина с калия йодатом в кислой среде сначала наблюдается малиновое окрашивание (продукты окисления анальгина), затем, вследствие восстановления йодата калия до йода, образование бурого осадка перйодида.

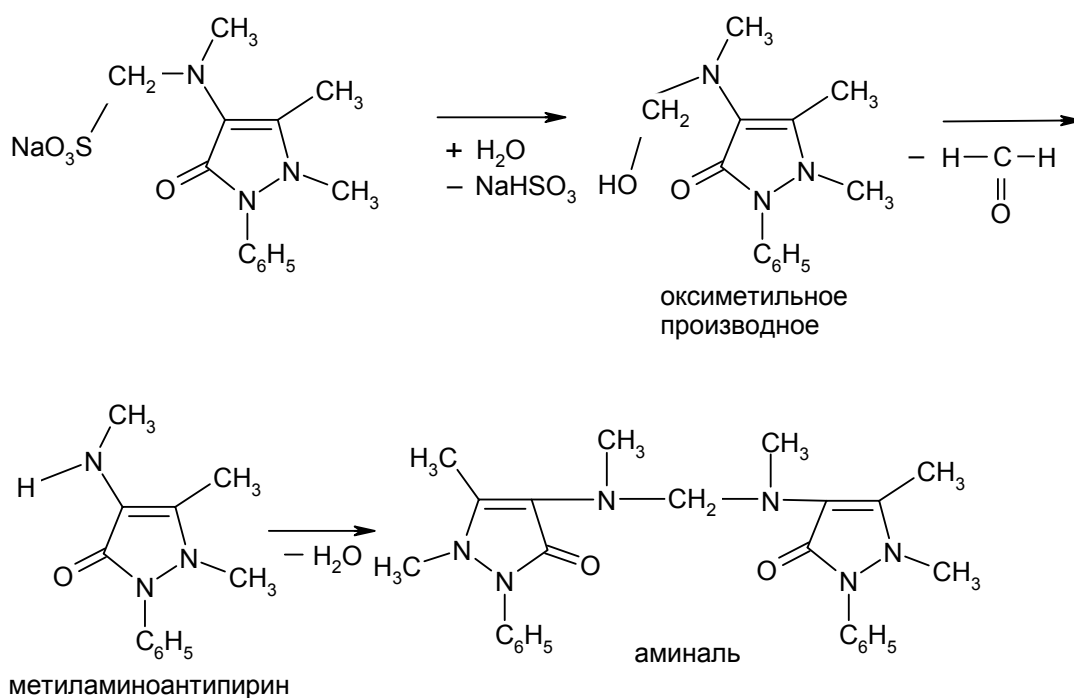
Анальгин дает также реакцию образования берлинской лазури.

2) Реакции гидролитического расщепления. Анальгин подвергается гидролитическому расщеплению в кислой, нейтральной и щелочной среде, особенно при нагревании. Реакция кислотного гидролиза используется для идентификации анальгина: серы (IV) оксид и формальдегид обнаруживают по запаху. Кроме того, формальдегид можно подтвердить реакцией обра-

зования ауринового красителя с кислотой хромотроповой или кислотой салициловой в присутствии кислоты серной концентрированной:



3) Стабильность анальгина. Она связана с способностью данного лекарственного вещества к гидролитическому разложению и окислению. В водном растворе анальгин образует равновесную систему, включающую непосредственно лекарственное вещество и продукты его разложения (оксиметильное производное, натрия гидросульфит, формальдегид, метиламиноантипирин и аминаль, образующийся при взаимодействии двух последних веществ:



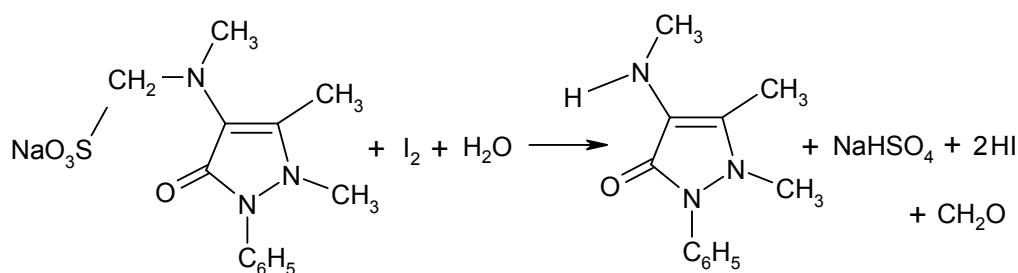
Под действием света и кислорода воздуха может происходить окисление анальгина. Поэтому фармакопея нормирует прозрачность, а вследствие возможного гидролиза – кислотность и щелочность.

При испытании на чистоту определяется также потеря в массе при высушивании, так как анальгин является кристаллогидратом.

4) Количественное определение. На способности анальгина к окислению основано его количественное определение йодометрическим методом.

При этом идет окисление сульфитной серы до сульфатной. Во избежание преждевременного гидролиза лекарственного вещества навеску растворяют в спирте (колба сухая!), прибавляют 0,01 н. раствор кислоты хлороводородной для разложения анальгина и титруют 0,1 н. раствором йода до желтого окрашивания. Кислота необходима для гидролиза остатка натрия метилсульфоната и предотвращения окисления выделяющегося формальдегида (альдегиды окисляются в щелочной среде).

Суммарное химическое уравнение методики выглядит следующим образом:

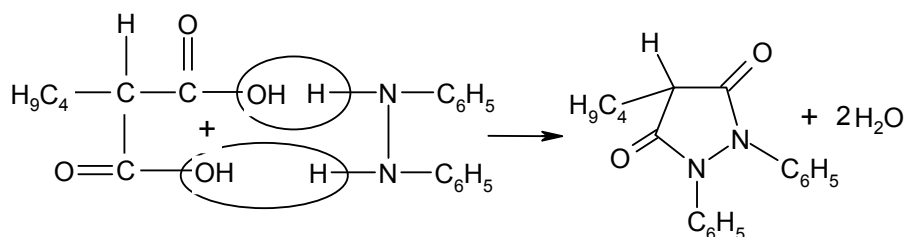


Пропифеназон

В отличие от антипирина пропифеназон проявляет выраженные восстановительные свойства. Это связано с принадлежностью лекарственного вещества к производным частично гидрированного пиразолина и наличием алкильного радикала при C₄, препятствующему S_E реакциям, характерным для антипирина. Пропифеназон (подобно анальгину) окисляется даже слабыми окислителями. Так при действии на водно-спиртовой раствор пропифеназона нескольких капель раствора железа (III) хлорида возникает красно-коричневое окрашивание, переходящее в желтое после добавления кислоты хлороводородной.

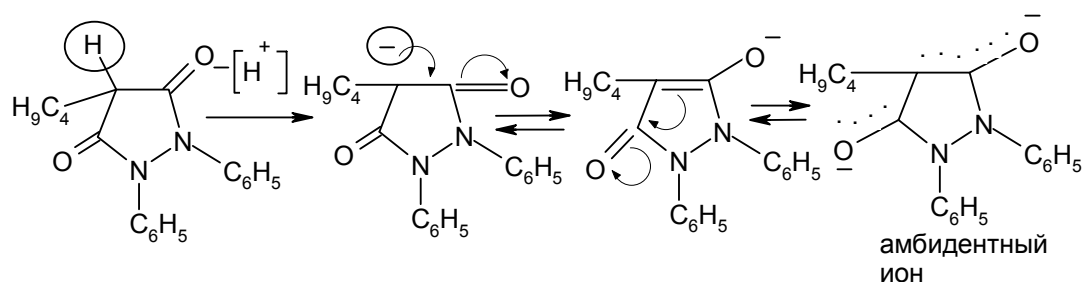
Фенилбутазон

По химическому строению является циклическим гидразидом бутилмалоновой кислоты и 1,2-дифенилгидразина:



Фенилбутазон поглощает в УФ- и ИК- областях спектра, что используется для его идентификации. Уф- спектры имеют одну полосу поглощения с максимумами при 240 нм в нейтральной и кислой средах и при 264 нм в щелочной среде.

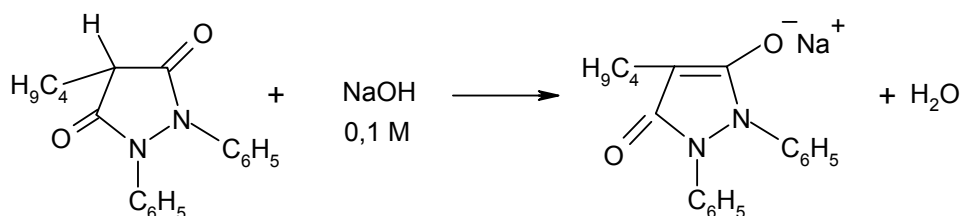
1) Кислотно-основные свойства. Фенилбутазон, как СН-кислота, проявляет кислотные свойства за счет подвижного атома водорода у С₄, стоящего рядом с электроотрицательными карбонильными группами и, как следствие, способности к кето-енольной таутомерии. В щелочной среде идет депротонирование СН-кислотного центра и образование мезомерно-стабилизированных ионов:



Таким образом, в растворах щелочей фенилбутазон находится в виде амбидентного иона.

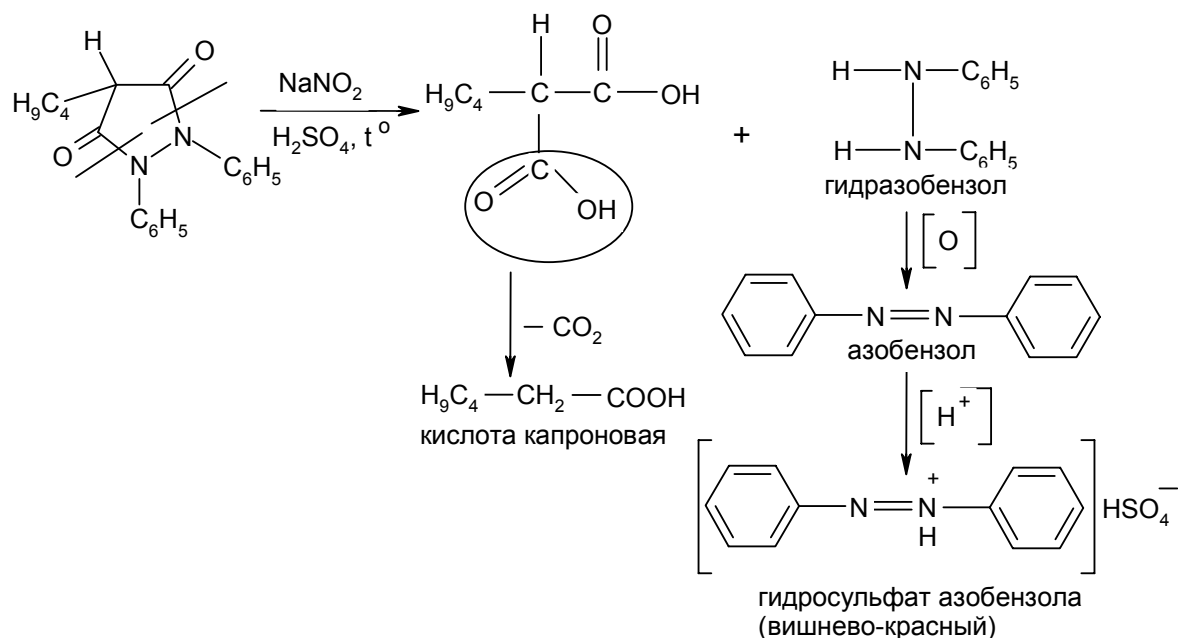
За счет выраженных кислотных свойств фенилбутазон образует нерастворимые окрашенные комплексные соли с ионами тяжелых металлов. Так, реакция с раствором меди (II) сульфата используется для определения подлинности фенилбутазона (образуется осадок серо-голубого цвета).

Кислотные свойства фенилбутазона лежат в основе его количественного определения методом алкаиметрии. При этом навеску фенилбутазона титруют 0,1 М стандартным раствором натрия гидроксида в среде ацетона, который растворяет лекарственное вещество и препятствует гидролизу образующейся натриевой соли:

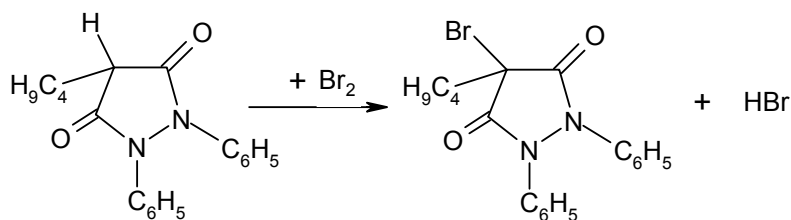


2) Реакции окисления. Фенилбутазон, как производное полностью гидрированной системы, довольно устойчив к окислению. Поэтому он окисляется только в жестких условиях, например, при действии кристаллического натрия нитрита в присутствии кислоты серной концентрированной при нагревании. В данной реакции фенилбутазон, как циклический

гидразид, подвергается гидролитическому расщеплению с образованием кислоты бутилмалоновой и гидразобензола. Кислота бутилмалоновая декарбоксилируется (наблюдается выделение пузырьков CO_2), а гидразобензол окисляется до азобензола, имеющего вишнево-красное окрашивание:



3) Реакции электрофильного замещения. Атом водорода при C_4 может замещаться на электрофилы, например, Br^+ . При действии бромной воды образуется бромзамещенное, имеющее определенную температуру плавления:

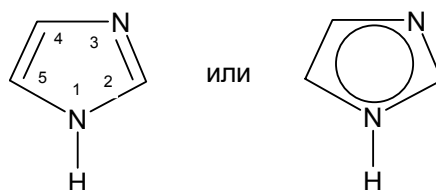


Данная реакция может быть использована для количественного определения фенилбутаона броматометрическим методом (титрант – 0,1 н. раствор калия бромата в присутствии калия бромида в сернокислой среде).

5. ПРОИЗВОДНЫЕ ИМИДАЗОЛА

У имидазола – 1,3-диазола – гетероатомы азота неравноценны по своим свойствам. Азот в положении 1 – «пиррольный». Его пара электронов находится в сопряжении с двойными связями в образовании ароматического цикла. Отсюда атом водорода в положении 1 приобретает некоторую подвижность, обуславливая слабые кислотные свойства. Гетероатом азота

в положении 3 – «пиридиновый». Это центр основности, так как пара электронов локализована на гетероатоме N₃:



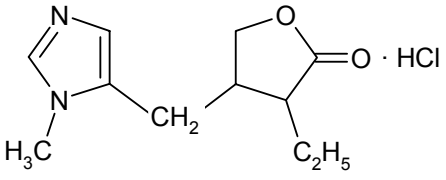
К этой группе относятся лекарственные вещества различные по химическому строению и медицинскому применению (таблица 4).

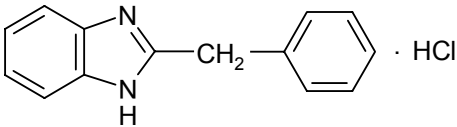
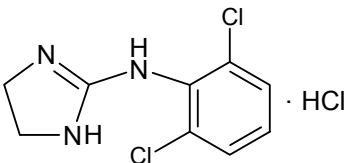
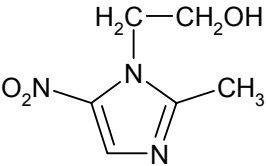
Пилокарпина гидрохлорид

Молекула включает два цикла: имидазола и 4,5-дигидрофуранона (лактона), у которого в положениях 3 и 4 два центра хиральности. Пилокарпин – соединение природного происхождения – алкалоид. Бендазола гидрохлорид (дибазол), метронидазол и клонидина гидрохлорид (клофелин) являются лекарствами синтетического происхождения.

Пилокарпин применяют в качестве холиномиметического (миотического) средства; дибазол – спазмолитическое и гипотензивное средство; клонидина гидрохлорид – гипотензивное средство; метронидазол – противомикробное и противопаразитарное средство.

Таблица 4. Производные имидазола

Химическая структура	Описание
	<p>Pilocarpini hydrochloridum. Пилокарпина гидрохлорид (3S,4R)-3-этил-4-[1-метил-1H-имидазол-5-ил)метил]дигидро-3H-фуран-2-она гидрохлорид или (3-этил-4,5-дигидрофуранон-2)-метилен-1-метилимидазола гидрохлорид.</p> <p>Бесцветные кристаллы или белый кристаллический порошок. Гигроскопичен. Очень легко растворим в воде, легко растворим в спирте, практически нерастворим в эфире и</p>

	<p>хлороформе. Лекарственные формы: глазные капли, глазные пленки, глазная мазь.</p>
	<p>Bendazoli hydrochloridum (Dibazolium). Бендазола гидрохлорид (Дибазол). 2-Бензилбензимидазола гидрохлорид или 2-(Фенилметил)-1H-бензимидазола гидрохлорид. Белый или белый со слегка сероватым оттенком кристаллический порошок. Гигроскопичен. Трудно растворим в воде и хлороформе, легко растворим в спирте, мало растворим в ацетоне, практически нерастворим в эфире. Лекарственные формы: таблетки, раствор для инъекций.</p>
	<p>Clonidini hydrochloridum (Clonidine). Клонидина гидрохлорид (Клофелин). 2-(2,6-Дихлорфениламино)-2-имидазолина гидрохлорид. Белый кристаллический порошок. Растворим в воде, трудно – в спирте. Лекарственные формы: таблетки, раствор для инъекций, глазные капли.</p>
	<p>Metronidazolium. Метронидазол. 1-(β-оксиэтил)-2-метил-5-нитроимидазол. Белый или слегка зеленоватый кристаллический порошок. Мало рас-</p>

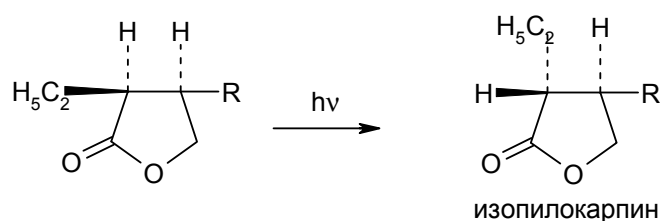
	<p>творим в воде, трудно – в спирте. Лекарственные формы: таблетки, растворы для инъекций и инфузий, гель, крем.</p>
--	---

Физико-химические свойства

По внешнему виду лекарственные вещества данной группы представляют собой белые кристаллические порошки. Для бендазола гидрохлорида допускается сероватый, а для метронидазола – зеленоватый оттенки. Пилокарпина гидрохлорид и клонидина гидрохлорид легко растворимы в воде, дибазол и метронидазол – мало.

Все лекарственные вещества данной группы имеют характерные спектры поглощения в ИК- и УФ- областях спектра. Пилокарпина гидрохлорид, как оптически активное соединение, характеризуется величиной удельного вращения.

Пилокарпин и метронидазол – фотолabile. Пилокарпин на свету изомеризуется и превращается в изопилокарпин, что приводит к потере фармакологической активности:



Кислотно-основные свойства

Производные имидазола – слабые однокислотные основания. Их соли с минеральной кислотой хлороводородной подвергаются гидролизу и придают раствору кислую реакцию среды. Поэтому при оценке качества нормируется предел кислотности или значение рН.

За счет основных свойств лекарственные вещества данной группы образуют с общеалкалоидными реактивами нерастворимые комплексные соли. Для бендазола гидрохлорида характерна реакция с раствором йода в кислой среде; при этом образуется полийодид в виде осадка красновато-серебристого цвета с перламутровым блеском. Эту реакцию используют в качестве испытания подлинности бендазола гидрохлорида.

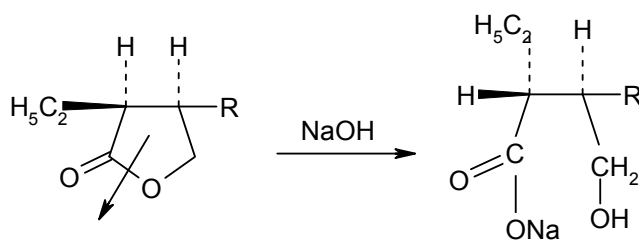
Бендазола гидрохлорид и клонидина гидрохлорид имеют NH- кислотный центр, за счет чего могут образовывать соли с ионами Ag^+ и Co^{2+} .

Способность основания бендазола гидрохлорида давать соль с ионами серебра (осадок белого цвета) учитывают при определении хлорид-иона в

остатке кислоты хлороводородной. Основание предварительно осаждают раствором аммиака, осадок отфильтровывают, в фильтрате, подкисленном кислотой азотной открывают хлорид-ион раствором серебра нитрата.

Гидролитическое разложение

Это свойство в первую очередь характерно для пилокарпина гидрохлорида и обусловлено наличием лактонного цикла. В щелочной среде идет его раскрытие с одновременной изомеризацией вещества, что приводит к потере активности:



За счет лактонного цикла пилокарпин дает гидроксамовую пробу.

У клонидина гидрохлорида в щелочной среде идет разрыв кольца имидазола.

Специфические реакции

Пилокарпина гидрохлорид вступает в реакцию, называемой «проба Хелча». Она основана на образовании комплексной соли основания пилокарпина с хромпероксидом (CrO_5). К раствору пилокарпина гидрохлорида добавляют реактивы: кислоту серную, калия дихромат, водорода пероксид и хлороформ. При этом образуются надхромовые кислоты и хромпероксид, который с основанием пилокарпина дает окрашенную в синефиолетовый цвет комплексную соль, растворимую в хлороформе. Эту реакцию дают и другие органические основания растворимые в воде и неспособные к окислению хромпероксидом (эфедрин, антипирин).

Для метронидазола характерна реакция образования азокрасителя после предварительного восстановления нитрогруппы в аминогруппу, имеющую ароматический характер.

Количественное определение

1) Кислотно-основное титрование в неводной среде (для субстанций). Среда – кислота уксусная безводная (или муравьиная), титрант – 0,1М раствор кислоты хлорной. Для связывания хлорид-иона добавляют ртути (II) ацетат или ангидрид уксусный. Все вещества титруются как одноосновные основания.

2) Алкалиметрия (при внутриаптечном контроле). Титруют щелочью по остатку кислоты хлороводородной. Учитывая нестабильность пилокарпина гидрохлорида и клонидина гидрохлорида, выделяющиеся в процессе титрования органические основания извлекают в хлороформ.

Присутствие хлороформа необходимо также при титровании дибазола, так как основание его за счет NH- кислотного центра может частично реагировать с раствором натрия гидроксида, что может привести к завышению результатов титрования.

3) Физико-химические методы:

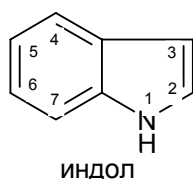
- УФ- спектрофотометрия;
- фотоэлектроколориметрия для пилокарпина гидрохлорида на основе гидроксамовой реакции.

6. ПРОИЗВОДНЫЕ ИНДОЛА

К производным индола относятся лекарственные средства природного и синтетического происхождения, обладающие различным фармакологическим действием:

- резерпин (алкалоид раувольфии змеиной, антигипертензивное и нейролептическое средство);
- индометацин (синтетическое противовоспалительное, жаропонижающее и анальгетическое средство);
- триптофан (природная аминокислота, метаболит);
- серотонина адипинат (медиатор);
- суматриптана сукцинат (серотонинергическое средство);
- ондансетрон, трописетрон (блокаторы серотонина);
- арбидол (противовирусное средство);
- винпоцетин (вазодилатор);
- производные эрголина (алкалоиды спорыньи и их производные: дигидроэрготамин, дигидроэргокристин, ницерголин, эргометрин, эрготамин, метилэргометрин, бромокриптин).

Индол (бензопиррол) – конденсированная система, состоящая из двух циклов – бензола и пиррола:

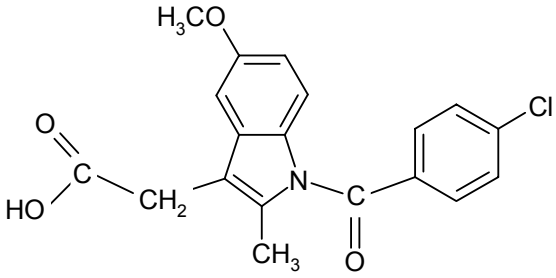
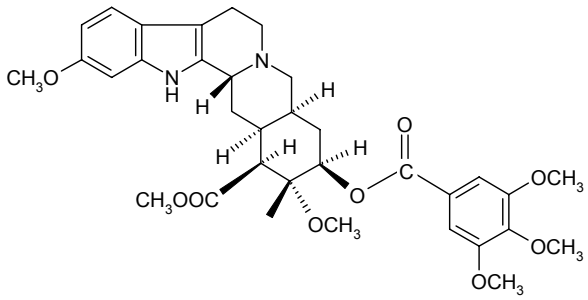


Для индола характерна ароматичность, что проявляется в способности к реакциям электрофильного замещения в положениях 2, 3 и 6, причем наиболее реакционно способным является положение 3 с максимальной электронной плотностью.

Гетероатом азота – «пиррольный», поэтому группа –NH проявляет слабые кислотные свойства.

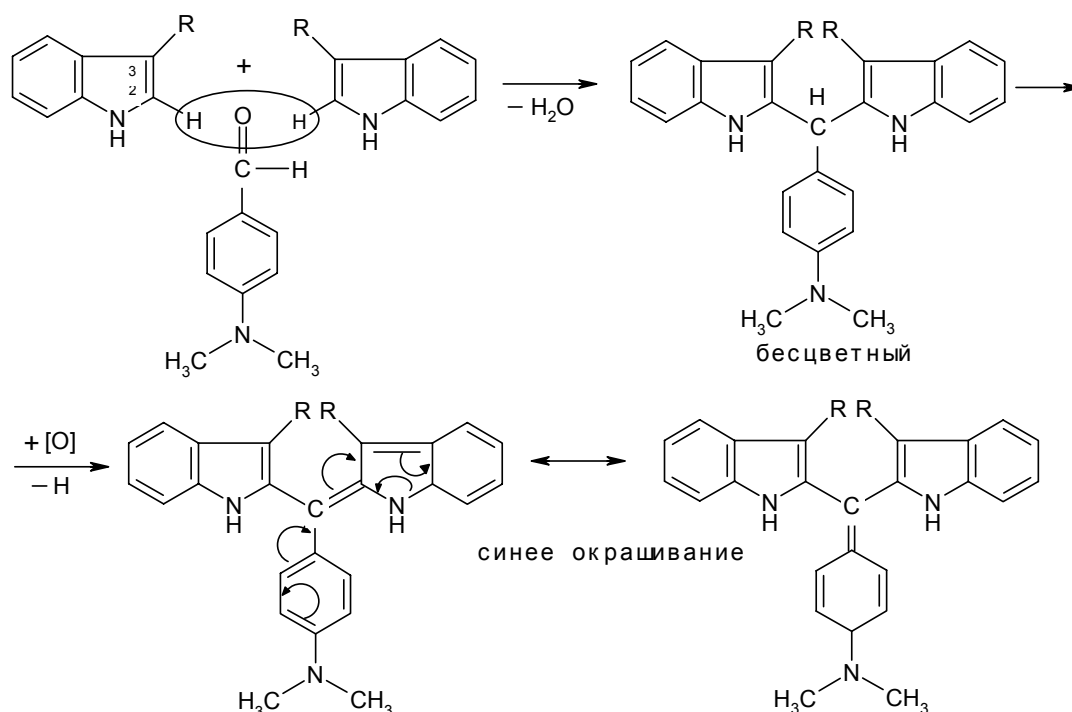
Описание некоторых лекарственных веществ производных индола приводится в таблице 5.

Таблица 5. Производные индола

Химические свойства	Описание
	<p>Indometacinum. Индометацин. 1-(4-Хлорбензоил)-5-метокси-2-метил-1Н-индол-3-уксусная кислота Белый или слегка желтоватый кристаллический порошок со слабым запахом. Практически нерастворим в воде, умеренно растворим в спирте и эфире, растворим в метаноле и диметилформамиде. Лекарственные формы: таблетки, драже, капсулы, мазь, суппозитории, гель.</p>
	<p>Reserpinum. Резерпин. Метилловый эфир (3β,16β,17α,18β,20α)-11,17-диметокси-18-[(3,4,5-триметоксибензоил)окси]йохимбан-16-карбоновой кислоты. Белый или желтоватый мелкокристаллический порошок. Очень мало растворим в воде, 95% спирте и эфире, легко растворим в хлороформе и кислоте уксусной. Лекарственная форма: таблетки.</p>

Групповая реакция на производные индола – реакция Ван-Урка

В основе данной реакции лежит процесс электрофильного замещения. Реагентом является 4-диметиламинобензальдегид. Испытание проводится в присутствии кислоты серной концентрированной и железа (III) хлорида в качестве окислителя:



В эту реакцию вступают производные индола, имеющие свободные положения 2 и 3. Поэтому для индометацина она отрицательна. Резерпин дает ее за счет раскрытия кольца С в присутствии кислот, в результате чего освобождается положение 2.

Продукт реакции может существовать в двух формах. Цвет продукта реакции зависит от химической структуры исходных веществ и условий проведения реакции. Ее можно проводить и с другими альдегидами. Так, для резерпина используют раствор ванилина в кислоте хлороводородной.

Индометацин

Химические свойства и методы анализа индометацина связаны с наличием в его молекуле карбоксильной, амидной и метоксидной функциональных групп.

Кислотно-основные свойства. Индометацин из-за наличия карбоксильной группы относится к -ОН кислотам (рК_а 4,5, т.е. слабее уксусной, рК_а 4,2). Он растворим в растворах щелочей и аммиака с образованием солей.

При растворении индометацина в метаноле и последующем добавлении щелочи возникает желтое окрашивание вследствие ионизации и перераспределения электронной плотности.

За счет кислотных свойств индометацин также вступает в реакции комплексообразования с ионами тяжелых металлов (Cu^{2+} и Fe^{3+}) с образованием нерастворимых окрашенных осадков.

Гидроксамоновая реакция. Она обусловлена наличием амидной группы (химизм см. раздел «Лекарственные вещества группы β -лактамидов и аминогликозидов», тема 7).

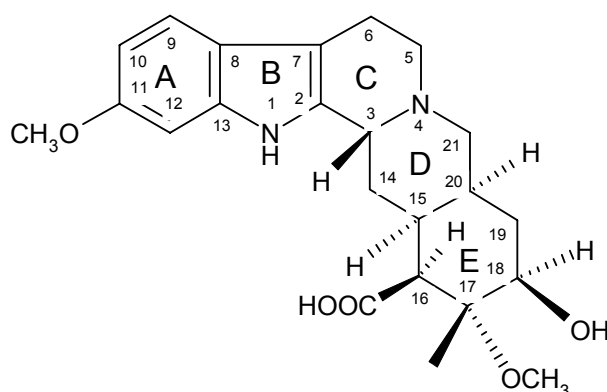
Образование ауринового красителя с реактивом Марки возможно за счет метокси-группы в положении 5 (химизм см. раздел «Анализ производных фенолов, ароматических кислот, фенолоксилов, ароматических аминов и их производных», тема 9).

Кислотные свойства индометацина позволяют проводить **количественное определение** лекарственного вещества методом алкалиметрии. Растворитель – ацетон или метанол, которые предварительно освобождают от углерода оксида (IV) путем пропускания азота. Титруют по фенолфталеину 0,1 М раствором натрия гидроксида в токе азота.

Резерпин

По химическому строению – это дважды сложный эфир резерпиновой кислоты (оксикислота), у которой карбоксильная группа этерифицирована метанолом, а спиртовой гидроксил – 3,4,5-триметоксибензойной кислотой. В основе кислоты резерпиновой лежит пентациклическая система иохимбана, включающая следующие циклы:

A + B – индол; C + D – хинолизидин; E – циклогексан:



Резерпин содержит 6 асимметрических атомов углерода, поэтому оптически активен, имеет левое вращение. Для характеристики качества его используют величину удельного вращения.

Резерпин поглощает в ИК- и УФ- областях спектра. Хромофорные группы – индол и кислота триметоксибензойная обуславливают характерный УФ- спектр, имеющий две полосы поглощения с максимумами при 268 и 295 нм. Эти данные также используют для идентификации и оценки чистоты лекарственного вещества.

Кислотно-основные свойства. Резерпин – слабое однокислотное основание. Центром основности является атом азота в положении 4 хинолизидинового цикла, имеющего локализованную пару электронов. Группа NH, где атом азота пиррольный, является центром кислотности.

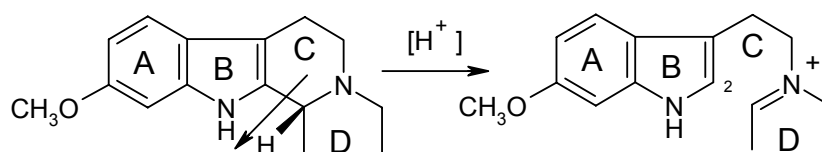
Как азотсодержащее органическое основание, резерпин дает осадки комплексных солей с общеалкалоидными реактивами. Например, комплексную соль с аммония рейнекатом, которую идентифицируют по характерной температуре плавления.

За счет основности он также образует ионы-ассоциаты с веществами кислотного характера (например, с индикаторами), что используют для количественного экстакционно-фотометрического анализа.

Гидролитическое разложение. Как сложный эфир, резерпин гидролизуется с образованием трех соединений: кислоты резерпиновой, спирта метанола и кислоты триметоксибензойной. Указанные продукты разложения подтверждают химическую структуру резерпина.

Гидроксамоновая проба. Данная реакция обусловлена наличием сложноэфирных групп.

Электрофильное замещение (реакция Ван-Урка). Сам резерпин непосредственно не вступает в S_E реакции, но в присутствии кислот происходит раскрытие кольца C и освобождается реакционно способное положение 2, по которому происходит взаимодействие с ароматическим альдегидом:

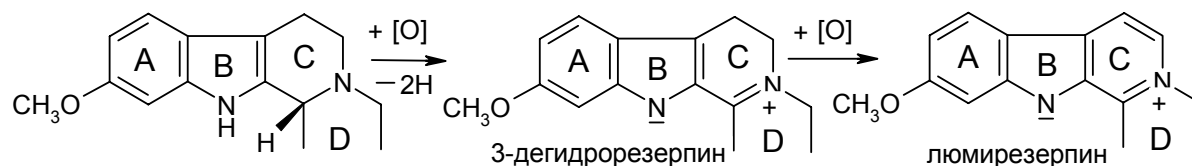


ГФ для определения подлинности резерпина предлагает в качестве электрофила альдегид ванилин; в присутствии кислоты хлороводородной возникает розовое окрашивание.

Окисление и эимеризация. Резерпин – лабильное соединение, которое изменяется под действием кислорода и ультрафиолетового излучения.

Эпимеризация происходит под действием УФ-излучения. При этом идет изменение конфигурации при C₃, а именно, атом водорода переходит в α-положение в результате чего образуется неактивный 3-изорезерпин.

Окисление обусловлено действием кислорода воздуха или других окислителей:



Данное свойство используют для определения подлинности резерпина. Фармакопея рекомендует окисление лекарственного вещества раствором натрия нитрита в кислой среде; наблюдается зеленая флуоресценция.

Неустойчивость резерпина по отношению к кислороду воздуха и свету необходимо учитывать при его хранении.

Количественное определение

Проводят методом кислотно-основного титрования в неводной среде. Растворитель – кислота уксусная безводная; титрант – 0,1 М раствор кислоты хлорной.

Тема 13. АНАЛИЗ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ ПРОИЗВОДНЫХ ПИРИДИНА И ТРОПАНА

1. ПРОИЗВОДНЫЕ ПИРИДИНА

Лекарственные вещества, относящиеся к указанной теме, представляют собой разнообразные химические соединения, в которых проявляются закономерности, присущие и другим группам химических веществ, что дает возможность развитию широких обобщения химических закономерностей для умения решать профессиональные задачи.

К данной группе относятся лекарственные средства как природного, так и синтетического происхождения, обладающие различным фармакологическим эффектом. По химическому строению их можно разделить на следующие подгруппы:

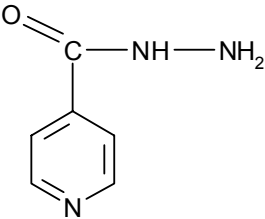
1. Производные **пиридин-4-карбоновой (изоникотиновой) кислоты** (изониазид, фтивазид, метазад, этионамид, ниаламид);

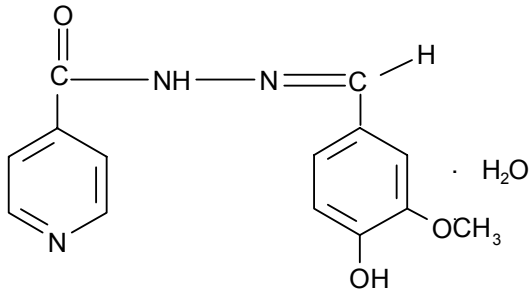
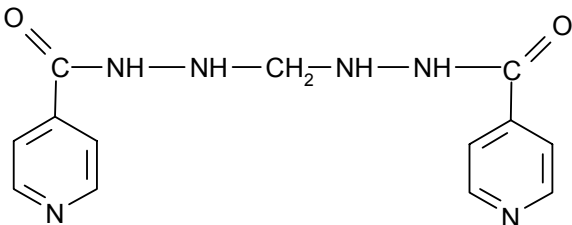
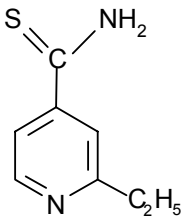
2. Производные **пиридин-3-карбоновой (никотиновой) кислоты** (кислота никотиновая, никотинамид, кордиамин, пикамилон);

3. Производные **пиридинметанола и оксипиридина** (пиридоксина гидрохлорид, пиридоксаль фосфат, пиридитол, пармидин, эмоксипин);

4. Производные **дигидропиридина** (нифедипин, амлодипин, никардипин, риодипин).

Таблица 1. Производные пиридин-4-карбоновой (изоникотиновой) кислоты

Химическая структура	Описание
	Isoniazidum. Изониазид. Гидразид изоникотиновой кислоты. Белый кристаллический порошок без запаха. Легко растворим в воде, кислотах и щелочах, трудно – в спирте. Лекарственные формы: таблетки, раствор для инъекций. Противотуберкулезное средство.

	<p>Phthivazidum. Фтивазид. 3-Метокси-4-оксибензилиденгидразид изоникотиновой кислоты. Светло-желтый или желтый мелкокристаллический порошок со слабым запахом ванилина. Очень мало растворим в воде, легко растворим в растворах кислот и щелочей с усилением окрашивания. Лекарственная форма: таблетки.</p>
	<p>Methazidum. Метазид. 2,2-Метилен-бис-гидразид кислоты изоникотиновой. Белый или белый с кремоватым оттенком кристаллический порошок. Практически нерастворим в воде, спирте и хлороформе, легко растворим в разведенных неорганических кислотах. Лекарственная форма: таблетки. Противотуберкулезное средство.</p>
	<p>Ethionamidum. Этионамид. 2-этилпиридин-4-карботиоамид или 2-этил-4-тиокарбамоил-4-пиридин. Желтый кристаллический или мелкокристаллический порошок. Практически нерастворим в воде, растворим в метаноле, мало растворим в этаноле, очень мало растворим в эфире. Лекарственная форма: драже. Противотуберкулезное средство.</p>

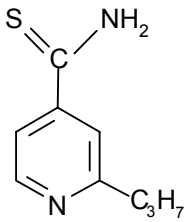
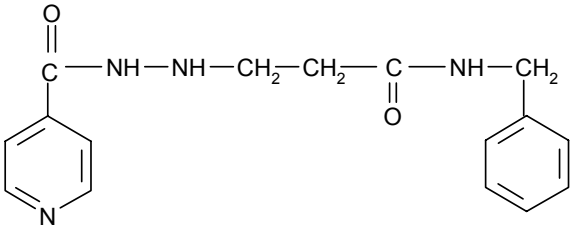
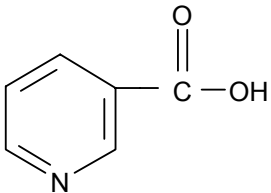
	<p>Protionamidum. Протионамид. 2-Пропил-4-пиридинкарботиоамид. Желтый кристаллический или мелкокристаллический порошок. Практически нерастворим в воде, растворим в метаноле, мало растворим в этаноле, очень мало растворим в эфире. Лекарственная форма: драже. Противотуберкулезное средство.</p>
	<p>Nialamidum. Ниаламид. 2-(2¹-Бензилкарбамоил)-этилгидразид изоникотиновой кислоты. Белый или белый со слабым желтоватым оттенком мелкокристаллический порошок. Мало растворим в воде, трудно – в спирте. Лекарственная форма: таблетки. Антидепрессант.</p>

Таблица 2. Производные пиридин-3-карбоновой (никотиновой) кислоты.

Химическая структура	Описание
	<p>Acidum nicotinicum. Кислота никотиновая. Пиридин-3-карбоновая кислота. Белый кристаллический порошок. Трудно растворим в холодной воде, растворим в горячей воде, растворах кислот и щелочей. Формы выпуска: порошок, таблетки, раствор для инъекций. Витамин PP.</p>

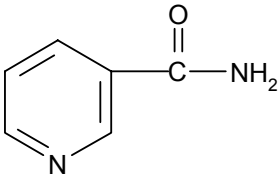
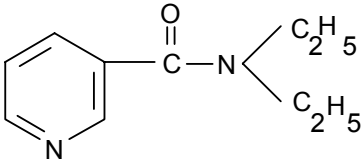
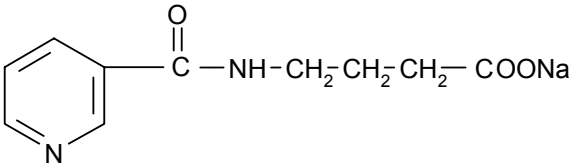
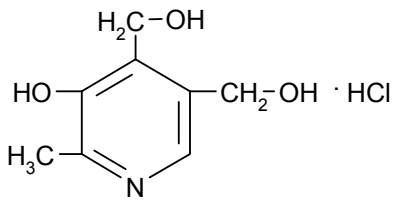
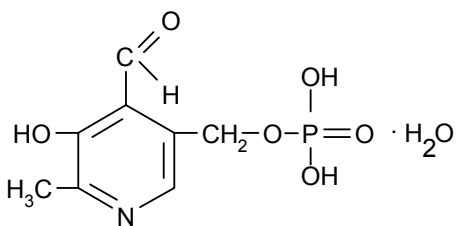
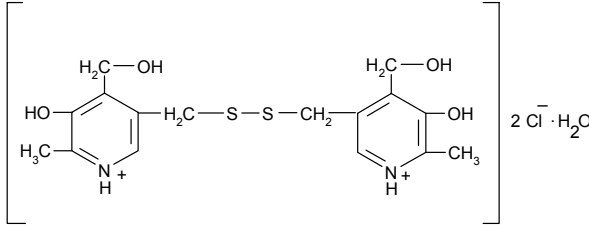
	<p>Nicotinamidum. Никотинамид. Амид кислоты никотиновой. Белый кристаллический порошок. Легко растворим в воде, спирте, растворах кислот и щелочей. Лекарственные формы: таблетки, раствор для инъекций. Витамин РР.</p>
	<p>Diaethylamidum acidı nicotinicı. Диэтиламид никотиновой кислоты. Маслянистая жидкость желтого цвета со своеобразным запахом. Смешивается с водой и спиртом. Лекарственная форма: 25% раствор под названием “Cordiaminum. Кордиамин”. Аналептик.</p>
	<p>Picamilonum. Пикамилон. Натриевая соль N-никотиноил-4-аминомасляной кислоты. Белый кристаллический порошок. Легко растворим в воде и спирте, практически не растворим в хлороформе. Лекарственная форма: таблетки. Ноотроп.</p>

Таблица 3. Производные пиридинметанола и оксипиридина.

Химическая структура	Описание
	<p>Pyridoxini hydrochloridum. Пиридоксина гидрохлорид. 2-Метил-3-окси-4,5-диоксиметилпиридина гидрохлорид. Белый мелкокристаллический порошок. Легко растворим в воде, трудно растворим в спирте. Лекарственные формы: порошок, таблетки, растворы для инъекций. Витамин В₆</p>
	<p>Pyridoxalphosphatum. Пиридоксальфосфат. 5-(2-метил-3-окси-4-формилпиридил)-метилфосфорная кислота. Светло-желтый кристаллический порошок. Неустойчив на свету. Мало растворим в воде, практически нерастворим в спирте. Лекарственная форма: лиофилизированный порошок в ампулах. Витамин В₆</p>
	<p>Pyriditolum. Пиридитол. Бис-(2-метил-3-окси-4-оксиметил-5-метилпиридил)-дисульфида дигидрохлорид, гидрат. Белый или белый со слегка желтоватым оттенком кристаллический порошок. Легко растворим в воде, мало растворим в спирте. Лекарственная форма: таблетки. Ноотроп.</p>

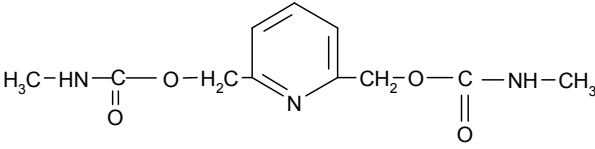
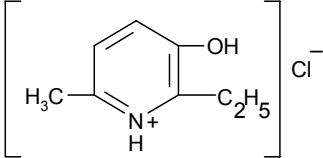
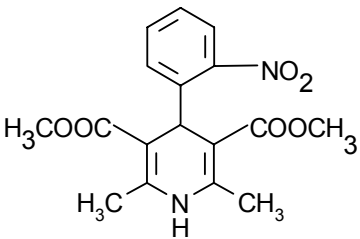
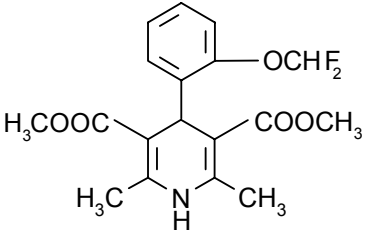
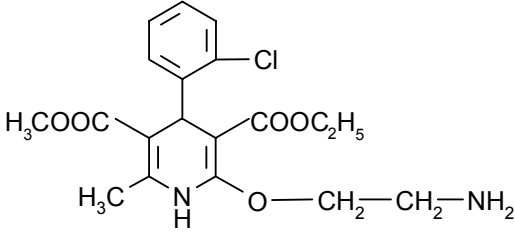
	<p>Parmidinum. Пармидин. Бис-N-метилкарбаминовый эфир 2,6-бис-оксиметилпиридина. Белый кристаллический порошок. Мало растворим в воде, трудно – в спирте. Лекарственная форма: таблетки. Ангиопротектор.</p>
	<p>Етохурinum. Эмоксипин. 3-Окси-6-метил-2-этилпиридина гидрохлорид. Белый с кремоватым оттенком кристаллический порошок. Легко растворим в воде. Лекарственная форма: раствор для инъекций. Антиоксидант, ангиопротектор, антикоагулянт</p>

Таблица 4. Производные дигидропиридина

	<p>Nifedipinum. Нифедипин. 2,6-Диметил-4-(2'-нитрофенил)-1,4-дигидропиридин-3,5-дикарбоновой кислоты диметилловый эфир или 1,4-Дигидро-2,6-диметил-4-(2-нитрофенил)-3,5-пиридиндикарбоновой кислоты диметилловый эфир. Желтый кристаллический порошок. Практически нерастворим в воде. Лекарственная форма: таблетки (драже). Антиангинальное, гипотензивное средство.</p>
---	--

	<p>Foridonum. Форидон. Диметиловый эфир 2,6-диметил-4-[2-(дифторметокси)фенил]-1,4-дигидропиридин-3,5-дикарбоновой кислоты. Белый флуоресцирующий с зеленоватым оттенком кристаллический порошок без запаха. Практически нерастворим в воде, мало растворим в эфире, растворим в спирте, легко растворим в хлороформе. Лекарственная форма: таблетки. Антиангинальное и гипотензивное средство.</p>
	<p>Amlodipinum. Амлодипин. 2-[(2-Аминоэтоксиметил)-4-(2-хлорфенил)-1,4-дигидро-6-метил-3,5-пиридиндикарбоновой кислоты 3-этил-5-метиловый эфир]. Белый кристаллический порошок. Мало растворим в воде, растворим в этаноле. Лекарственная форма: таблетки.</p>

ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА И АНАЛИЗ КАЧЕСТВА

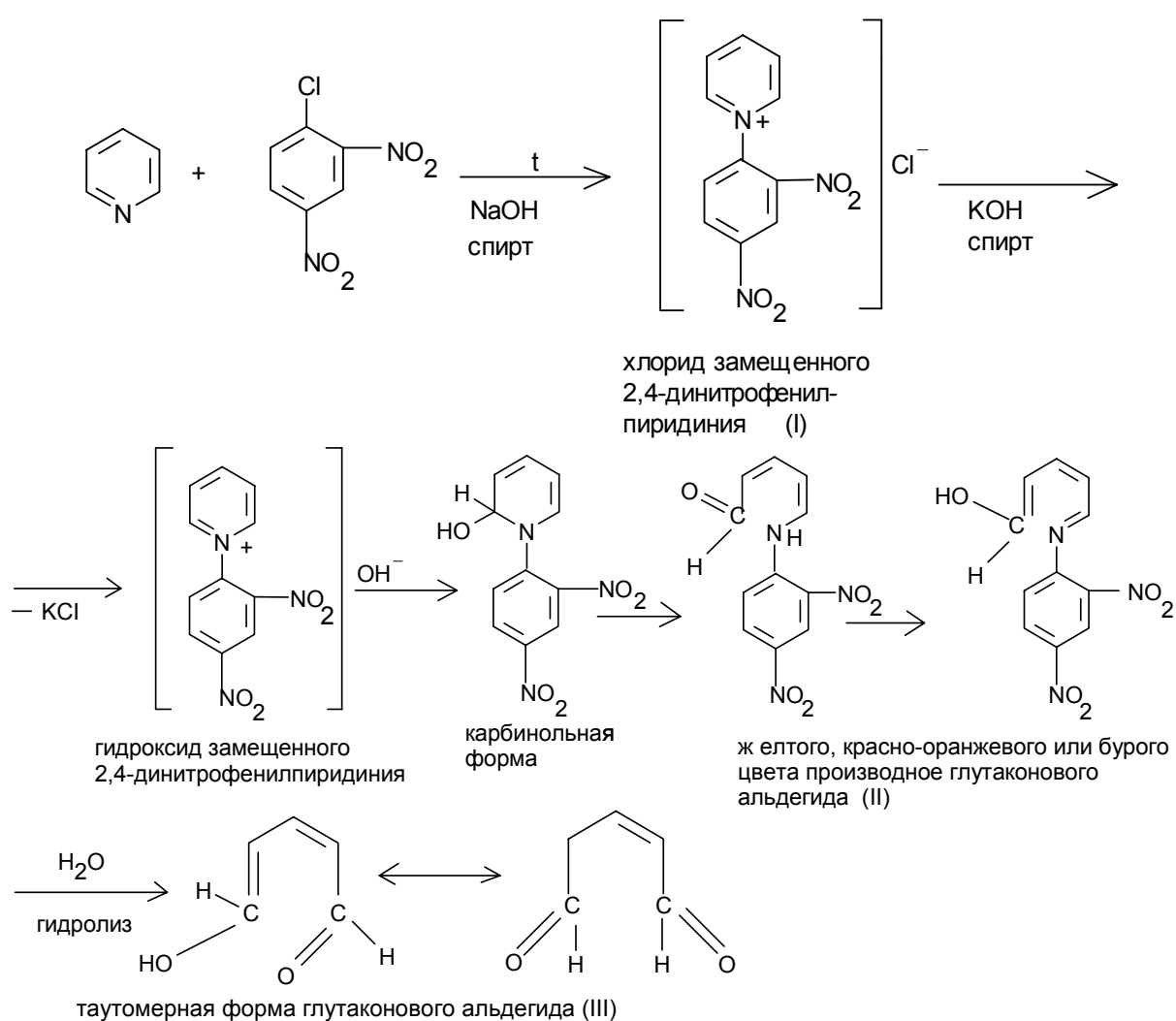
Общие реакции на незамещенный цикл пиридина

1. **Пиролиз.** При нагревании кристаллических веществ производных пиридина с карбонатом натрия образуется пиридин, обнаруживаемый по характерному неприятному запаху.

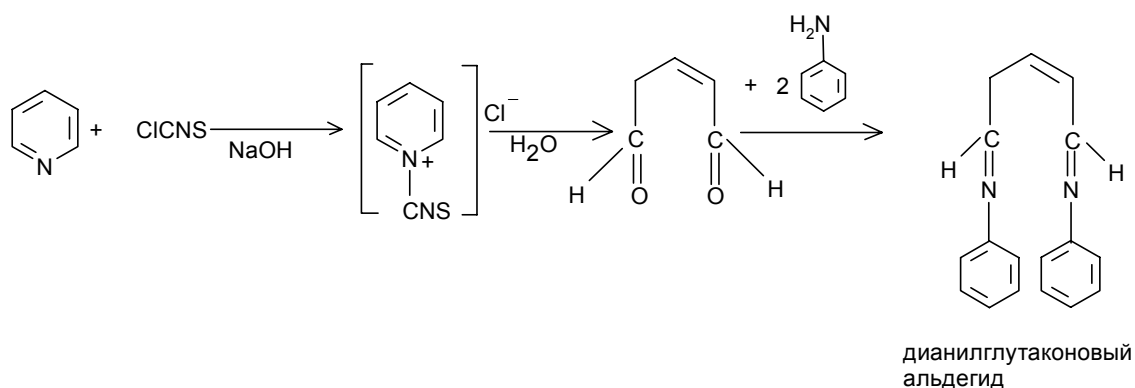
2. **Цветная реакция с лимонной кислотой и уксусным ангидридом.** При нагревании препарата с кристаллической лимонной кислотой и уксусным ангидридом возникает вишневое окрашивание.

3. **Образование полиметиновых красителей производных глутаминового альдегида (реакция Цинке).** Данная реакция характерна для производных пиридина, имеющих свободные 2- и 6- положения относи-

тельно гетероатома азота. Сущность реакции заключается в расщеплении пиридинового цикла при действии 2,4-динитрохлорбензола в щелочной среде с образованием производного глутаконового альдегида. Сначала происходит образование соли пиридиния (I), которая под действием гидроксида натрия после размыкания пиридинового цикла превращается в производное глутаконового альдегида (II), окрашенного в бурый или красный цвет. Производные глутаконового альдегида – малоустойчивые соединения, в результате гидролиза превращающиеся в глутаконовый альдегид (III), существующий в двух таутомерных формах. Натриевая соль енольной формы глутаконового альдегида имеет желтую окраску:



В качестве расщепляющего агента вместо 2,4- динитрохлорбензола можно использовать и другие соединения, например хлорродан (получаемый из роданида аммония и хлорамина Б) или бромродан. При этом также образуется глутаконовый альдегид, который далее конденсируют с анилином для получения окрашенного соединения:



Реакции кислотно-основного типа

Лекарственные средства группы пиридина в основном имеют амфотерный характер, обусловленный соответствующими структурными элементами их молекул.

Как азотсодержащие органические основания, препараты этой группы образуют комплексные соединения с общеалкалоидными осадительными реактивами (например, реактивами Люголя, Драгендорфа, Майера, растворами фосфорно-молибденовой, кремневольфрамовой кислот, танином и др.).

Лекарственные вещества данной группы, содержащие функциональные группы кислотного характера (карбоксильную, амидную, фенольную и др.) вступают во взаимодействие с солями тяжелых металлов с образованием солей (чаще комплексных), имеющих характерный внешний вид.

Анализ качества индивидуальных лекарственных веществ

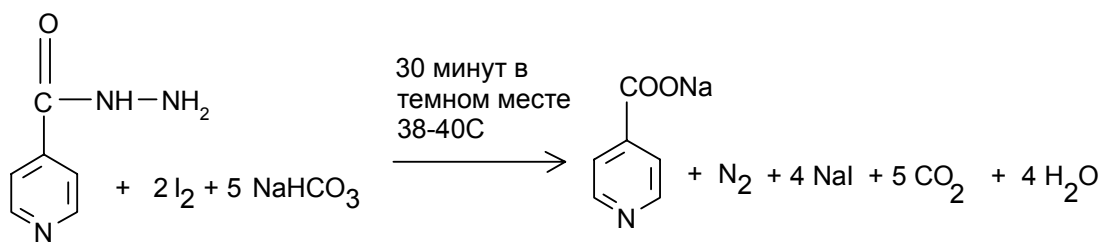
Изониазид

Кислотно-основные свойства

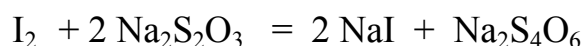
Препарат является амфолитом. Основные свойства связаны с наличием пиридинового атома азота и аминогруппы в гидразиновом фрагменте, кислотные – с наличием амидной группы.

Восстановительные свойства

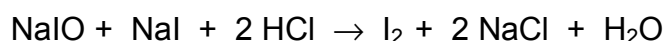
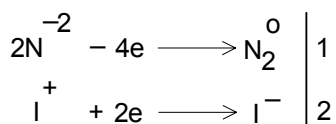
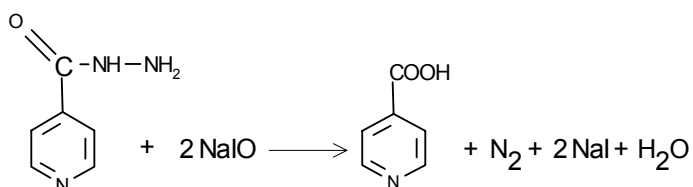
Восстановительные свойства изониазида обусловлены присутствием остатка гидразина. ГФ для идентификации препарата предлагает реакции окисления изониазида аммиачным раствором серебра нитрата и меди сульфата:



Избыток стандартного раствора йода оттитровывают раствором натрия тиосульфата:



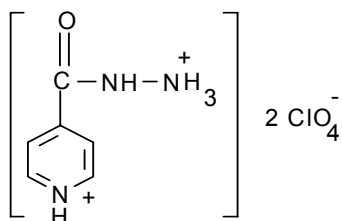
Постадийно процесс можно выразить следующим образом:



Молярная масса эквивалента $(1/z) M = 1/4 M$.м. изониазида.

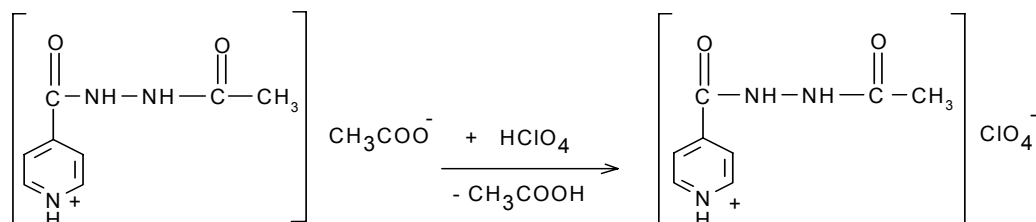
В Международной фармакопее приведен броматометрический метод количественного определения изониазида.

Как вещество основного характера, изониазид можно количественно определять и методом кислотно-основного титрования в неводной среде. В среде кислоты уксусной ледяной при добавлении кислоты хлорной образуется диперхлорат изониазида:



диперхлорат изониазида

Но так как ледяная уксусная кислота содержит некоторое количество уксусного ангидрида, изониазид частично ацетируется по аминогруппе гидразинового фрагмента. Поэтому в колбу для титрования вместе с ледяной уксусной кислотой добавляют 20-25% уксусного ангидрида и образовавшийся ацетилизониазид титруют как однокислотное основание хлорной кислотой:

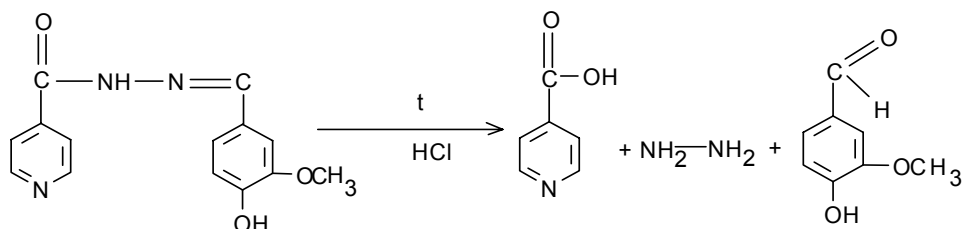


Фтивазид

Кисотно-основные свойства

Препарат является амфолитом и это свойство использует ГФ как одно из испытаний подлинности. При добавлении к спиртовому раствору фтивазида нескольких капель раствора щелочи светло-желтое окрашивание переходит в ярко-желтое (образование фенолята). Последующее постепенное прибавление раствора соляной кислоты приводит сначала к ослаблению окрашивания (молекулярная форма), затем к усилению вновь до ярко-желтого (солевая форма по основному центру).

Как гидразон, фтивазид подвергается гидролитическому расщеплению по амидной и азометиновой группам с образованием изоникотиновой кислоты, гидразина и ванилина (обнаруживается по характерному запаху). Эта реакция также принята ГФ в качестве испытания подлинности:



Восстановительные свойства

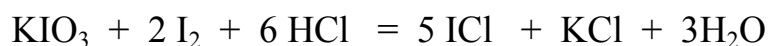
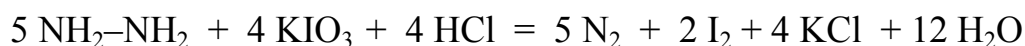
Восстановительные свойства фтивазида проявляются после гидролиза.

Фтивазид может также вступать в различные реакции, характерные для присутствующих в его молекуле фрагментов и функциональных групп

(например, в реакцию Цинке по пиридиновому фрагменту; окислению гидразина после гидролиза реактивом Фелинга, реакциям на фенольный гидроксил и др.).

Количественное определение

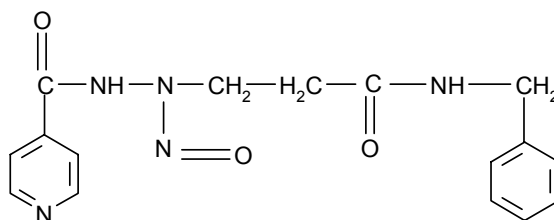
Количественное определение фтивазида по ГФ проводят методом кислотно-основного титрования в среде ледяной уксусной кислоты (титрант – 0,1 н. раствор хлорной кислоты). Количественное определение фтивазида можно также проводить с помощью окислительно-восстановительных методов, например, йодатометрии. Препарат сначала подвергают кислотному гидролизу кипячением с раствором соляной кислоты. По окончании гидролиза добавляют хлороформ и титруют образовавшийся свободный гидразин 0,1 н. раствором KIO_3 до обесцвечивания хлороформного слоя:



Ниаламид

Подлинность препарата определяют по наличию пиридинового фрагмента нагреванием с уксусным ангидридом и лимонной кислотой (появляется вишневое окрашивание), а также взаимодействием с реактивом Фелинга на остаток гидразина (сначала появляются пузырьки газа, затем выпадает красный осадок Cu_2O).

Количественно ниаламид определяют нитритометрически. Методика основана на образовании нитрозопроизводного, образующегося при титровании раствора препарата в присутствии кислоты хлороводородной 0,1 М стандартным раствором натрия нитрита:



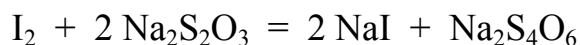
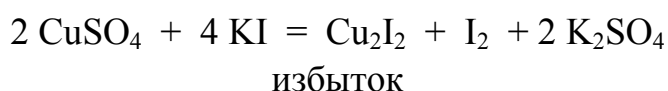
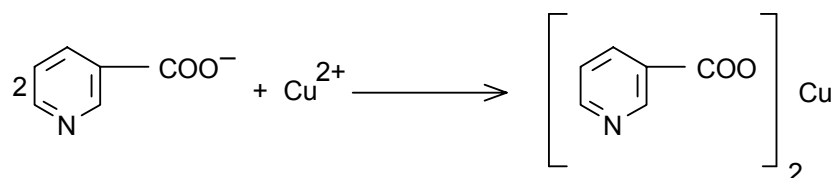
В качестве внутреннего индикатора используют тропеолин 00 в смеси с метиленовым синим. Возможно и применение внешнего индикатора (йод-крахмальной бумаги).

Кислота никотиновая

Наличие в молекуле пиридинового атома азота (центр основности) и карбоксильной группы (центр кислотности) обуславливают **амфотерный** характер препарата. Проект Фармакопейной статьи (ФС) предусматривает в качестве испытания подлинности применение ИК- и УФ-спектроскопии, а также реакции на пиридиновый цикл (нагревание порошка препарата с безводным карбонатом натрия; при этом развивается характерный неприятный запах пиридина) и карбоксильную группу (образование нерастворимой, окрашенной в синий цвет комплексной соли с ацетатом меди).

Так как препарат проявляет достаточно выраженные кислотные свойства и хорошо растворяется в воде, его **количественное определение** проводят методом кислотно-основного титрования в водной среде (титрант – 0,1 М раствор едкого натра).

Лекарственная форма кислоты никотиновой – 1% раствор для инъекций – содержит, кроме действующего вещества, гидрокарбонат натрия. Поэтому применение кислотно-основного титрования невозможно. Данную лекарственную форму количественно определяют куприметрически. При этом к раствору препарата добавляют раствор сульфата меди, выпавший осадок отфильтровывают и в фильтрате определяют избыток реактива:

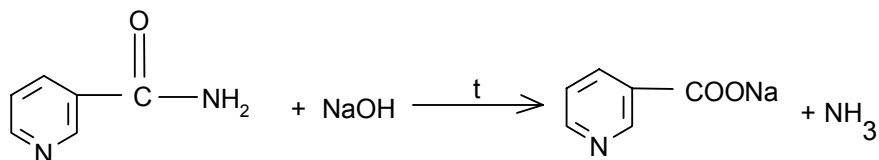


Так как меди сульфат в данной методике не является титрованным раствором, то обязательно проведение контрольного опыта.

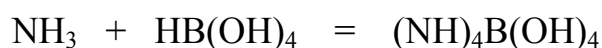
Никотинамид

Свойства никотинамида и никотиновой кислоты во многом схожи. Испытание **подлинности** препарата, отличающее его от кислоты никотиновой заключается в образовании аммиака при щелочном гидролизе никотинамида.

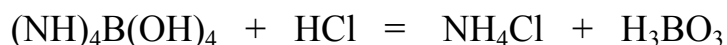
Эта же реакция лежит в основе неофициального количественного определения препарата модифицированным методом Кьельдаля. Навеску препарата кипятят в растворе щелочи в аппарате Кьельдаля и выделяющийся аммиак перегоняют с водяным паром в раствор борной кислоты:



Борная кислота в водном растворе частично существует в виде гидратной формы, которая улавливает аммиак.



Образовавшийся борат аммония титруют 0,1 М раствором кислоты хлороводородной



Параллельно проводят контрольный опыт.

Количественное определение никотинамида по ГФ Х проводят методом кислотно-основного титрования в среде ледяной уксусной кислоты (титрант – 0,1 М раствор хлорной кислоты).

Диэтиламид кислоты никотиновой

Препарат отличается от предыдущих агрегатным состоянием (является маслянистой жидкостью).

Подлинность препарата в соответствии с проектом ФС определяют физико-химическими методами (ИК- и УФ- спектроскопия) и реакциями щелочного гидролиза, в результате которой выделяется диэтиламин (характерный запах) и комплексообразования (образование синего комплекса с сульфатом меди, а при последующем добавлении раствора роданида аммония — двойного нерастворимого комплексного соединения ярко-зеленого цвета).

Количественное определение – метод кислотно-основного титрования в среде уксусного ангидрида (титрант – 0,1 М раствор хлорной ки-

слоты). Лекарственную форму препарата (25% водный раствор) количественно определяют рефрактометрически.

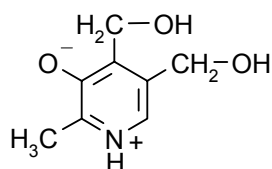
Пикамилон

Испытания подлинности включают регистрацию УФ- спектра поглощения, а также реакции на пиридиновый цикл и аминокислотный фрагмент препарата. На цикл пиридина проводят реакцию с уксусным ангидридом и лимонной кислотой при нагревании (появляется интенсивное фиолетово-красное окрашивание). Нингидриновую пробу аминокислотной части проводят после предварительного гидролиза амидной группы.

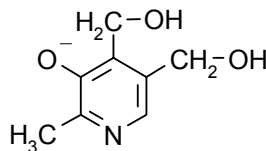
Количественное определение проводят методом кислотно-основного титрования в неводной среде (смесь ледяной уксусной кислоты и уксусного ангидрида; титрант - 0,1 М раствор хлорной кислоты).

Пиридоксина гидрохлорид, пиридоксальфосфат и пиридитол

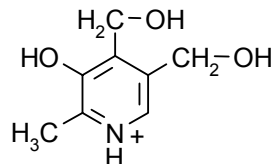
Указанные лекарственные вещества являются амфотерными соединениями. При этом характер их спектров поглощения в УФ-области зависит от значения рН среды:



цвиттер-ион
рН нейтральный
 $\text{max}_1 = 253 \text{ нм}$
 $\text{max}_2 = 324 \text{ нм}$



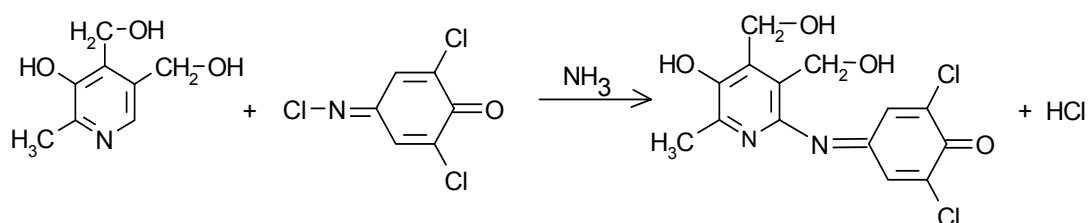
фенолят
 $\text{pH} > 7$
 $\text{max}_1 = 245 \text{ нм}$
 $\text{max}_2 = 349 \text{ нм}$



соль по пиридиновому
атому азота, $\text{pH} < 7$
 $\text{max}_1 = 232 \text{ нм}$
 $\text{max}_2 = 290 \text{ нм}$

Реакции на характерные функциональные группы

Фенольный гидроксил открывают взаимодействием с раствором хлорида железа (III), образованием ауринового красителя с реактивом Марки, образованием азокрасителей и индофенолов. Индофенольная реакция с 2,6-дихлорхинонхлоримидом является одной из реакций подлинности на пиридоксин гидрохлорид, принятых ГФ:



Получившийся индофеноловый краситель извлекают в слой бутанола, который окрашивается в голубой цвет.

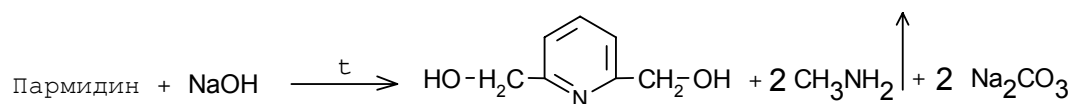
На *альдегидную группу* в пиридоксальфосфате проводят реакцию образования основания Шиффа с фенилгидразином (выпадает желтый хлопьевидный осадок).

Дисульфидную группу в пиридитоле идентифицируют после нагревания препарата с цинковой пылью на водяной бане. Получившийся в результате реакции сульфид цинка взаимодействует с фосфорно-молибденовой кислотой в присутствии концентрированного раствора аммиака с образованием продукта синего цвета.

Количественное определение индивидуальных пиридоксина гидрохлорида, пиридоксальфосфата и пиридитола проводят методом кислотно-основного титрования в неводной среде (ледяной уксусной кислоте и титранте – 0,1 М растворе хлорной кислоты). Пиридоксина гидрохлорид можно количественно определять алкалиметрически.

Пармидин

Испытание подлинности пармидина связано, в первую очередь, с тем, что по химическому строению препарат является уретаном. Наличие уретановых фрагментов подтверждают щелочным гидролитическим расщеплением при нагревании:



На пиридиновый цикл проводят реакцию препарата с лимонной кислотой и уксусным ангидридом при нагревании (появляется желтое, переходящее в красное, окрашивание).

Количественное определение – метод кислотно-основного титрования в среде ледяной уксусной кислоты (титрант– 0,1 М раствор хлорной кислоты).

Нифедипин

Подлинность препарата подтверждают физико-химическими методами (ИК- и УФ- спектроскопия).

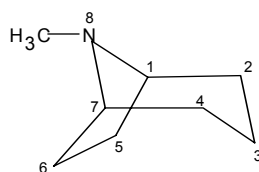
Наличие нитро-группы, обладающей электроноакцепторными свойствами, обуславливает углубление окрашивания при взаимодействии нифедипина в среде диметилформаида с 0,1 М спиртовым раствором гидроксида калия.

Как сложный эфир, препарат вступает в реакции гидролитического расщепления и гидроксамовую пробу.

Количественное определение проводят с помощью УФ- спектрофотометрии с применением стандартного образца лекарственного вещества.

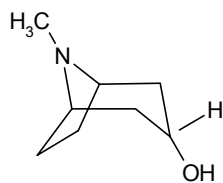
2. ПРОИЗВОДНЫЕ ТРОПАНА

К данной группе лекарственных веществ относятся алкалоиды и их синтетические аналоги в основе которых лежит структура тропана – 8-метил-8-азабицикло-[3,2,1]октана. Тропан – бициклическая конденсированная система, образованная пирролидином и пиперидином:

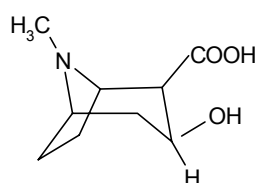


Тропан

Алкалоиды группы тропана разделяют на две подгруппы: 1) производные аминспирта тропина (атропин, гиосциамин, скополамин) и 2) производные оксиаминокислоты эггонина (кокаин):



тропин



ЭГГОНИН

В тропине спиртовая группа находится в аксиальном положении, а в эггонине – в экваториальном. Пространственное строение лекарственных веществ группы тропана имеет прямую связь с фармакологическим эффектом. Так производные тропина проявляют антихолинергическое действие, а кокаин (производный эггонина) – обладает местноанестезирующим и

наркотическим эффектом. По химическому строению лекарственные вещества группы тропана являются сложными эфирами с различными органическими кислотами (троповой, миндальной, бензойной и др.).

ПРОИЗВОДНЫЕ ТРОПИНА

Лекарственные вещества этой группы, преимущественно являющихся *m*-холиноблокаторами, в свою очередь можно подразделить на три подгруппы: 1) природного происхождения, 2) синтетические и полусинтетические, модифицированные по кислотному фрагменту, 3) синтетические, модифицированные по спиртовому и кислотному фрагментам.

Таблица 5. Холиноблокаторы природного происхождения.

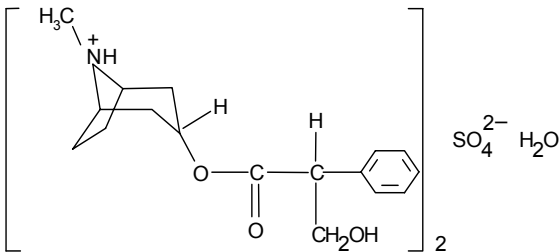
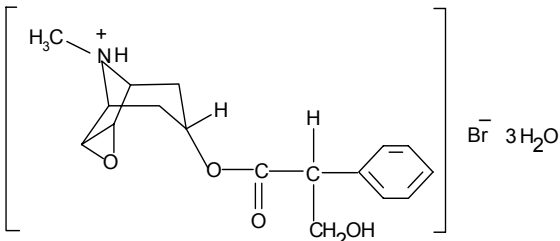
Химическая структура	Описание
	<p>Atropini sulfas. Атропина сульфат. Тропинового эфира-d,l-троповой кислоты сульфат моногидрат или (R,S)-3-тропоилокситропана сульфат моногидрат. Белый кристаллический или зернистый порошок без запаха. Легко растворим в воде и спирте. Лекарственные формы: порошок, таблетки, раствор 0,1% для инъекций, глазная мазь, глазные пленки. Список А.</p>
	<p>Scopolamini hydrobromidum. Скополамина гидробромид. Скопинового эфира l-троповой кислоты гидробромид тригидрат. Бесцветные прозрачные кристаллы или белый кристаллический порошок. Легко растворим в воде, растворим в спирте. Лекарственные формы: порошок, раствор 0,05% для инъекций. Список А</p>

Таблица 6. Синтетические и полусинтетические холиноблокаторы, модифицированные по кислотному фрагменту.

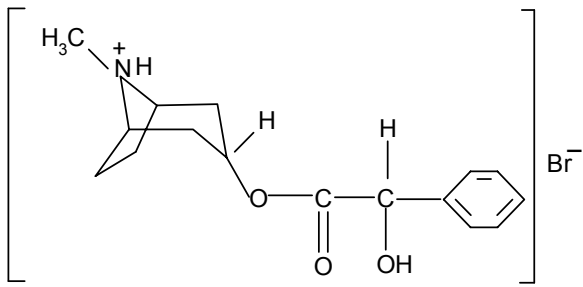
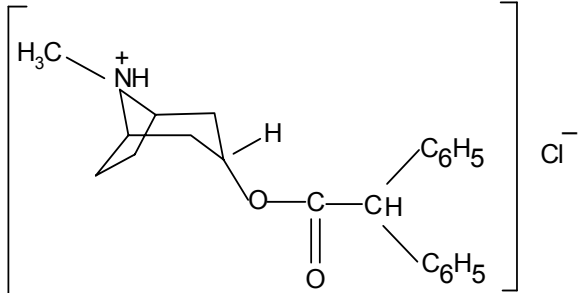
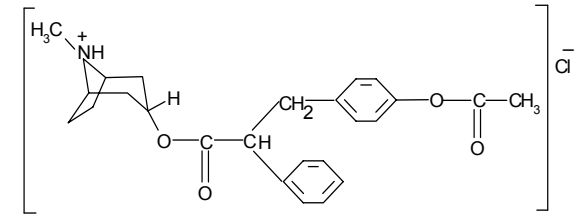
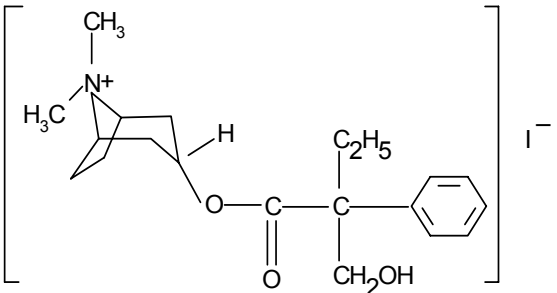
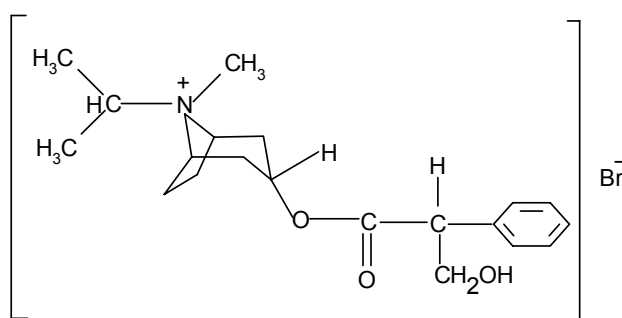
	<p>Homatropini hydrobromidum. Гоматропина гидробромид. Тропинового эфира d,l-миндальной кислоты гидробромид. Белый кристаллический порошок без запаха. Легко растворим в воде, трудно – в спирте. Лекарственные формы: порошок, раствор 0,25%. Список А.</p>
	<p>Trospacium. Тропацин. Тропинового эфира дифенилуксусной кислоты гидрохлорид. Белый или белый со слабым кремоватым оттенком кристаллический порошок. Легко растворим в воде и спирте. Лекарственная форма: таблетки. Список А.</p>
	<p>Trophenum. Тропафен. Тропинового эфира α-фенил-β-(пара-ацетокифенил)-пропионовой кислоты гидрохлорид. Белый или белый со слабым серовато-кремоватым оттенком кристаллический порошок. Легко растворим в воде и спирте. Лекарственные формы: порошок и лиофилизированный порошок для инъекций (в ампулах по 0,02 тропифена в каждой). Выраженный α-адреноблокатор; слабый холинолитик.</p>

Таблица 7. Синтетические холиноблокаторы, модифицированные по спиртовому и кислотному фрагментам.

	<p>Troventolum. Трoвентол. Лекарственная форма: Тропинового эфира-d,l-1-(2-гидроксиметил-2-фенил)масляной кислоты йодметилат. Белый или белый со слабым желтоватым оттенком кристаллический порошок. Мало растворим в воде, практически не растворим в эфире и хлороформе. аэрозольные баллоны с дозатором. Бронхорасширяющее средство.</p>
---	--

Наряду с трoвентолом в качестве бронхорасширяющих средств применяются и другие четвертичные производные тропана, например, атрoвент. Лекарственная форма индивидуального препарата и комплексного (в сочетании с β -адреностимулятором под названием “беродуал”) – аэрозольный баллончик с дозатором:

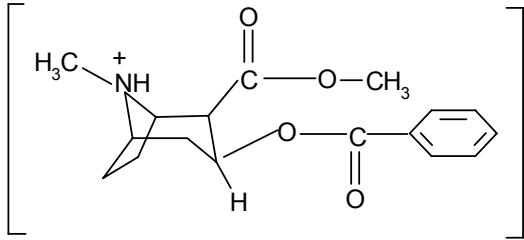


Atroventum. Атрoвент.

ПРОИЗВОДНЫЕ ЭКГОНИНА

В производящем растении (*Erythroxylon coca*) содержится несколько алкалоидов, являющихся сложными эфирами экгонина. Но в качестве лекарственного средства применяют только солянокислую соль кокаина.

Таблица 8. Производные экгонина

 <p>The image shows the chemical structure of Cocaine hydrochloride. It consists of a tropane ring system (8-azabicyclo[3.2.1]octane) with a methyl group attached to the nitrogen atom (forming a quaternary ammonium cation). The ring is substituted at the 2 and 3 positions with a methyl ester group (-COOCH₃) and a benzoyloxy group (-O-CO-C₆H₅), respectively. The structure is shown within large square brackets, with a chloride ion (Cl⁻) positioned to the right of the brackets.</p>	<p>Cocaini hydrochloridum. Кокаина гидрохлорид. Метилового эфира бензоилэкгонина гидрохлорид. Бесцветные игольчатые кристаллы или белый кристаллический порошок без запаха. Очень легко растворим в воде, легко растворим в спирте. Лекарственная форма: порошок. Список А.</p>
--	--

ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА И АНАЛИЗ КАЧЕСТВА

Все приведенные выше лекарственные вещества группы тропина и экгонина являются солями третичных или четвертичных аммониевых оснований, поэтому для всех характерно взаимодействие с *общеалкалоидными осадительными реактивами*.

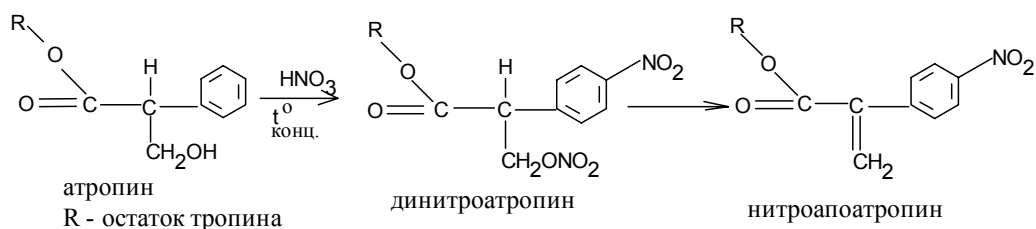
Выделение нерастворимых оснований из водных растворов лекарственных веществ группы тропана (являющихся солями) проводят при добавлении раствора аммиака. Применение для осаждения оснований водных растворов щелочей нежелательно, так как при этом будет проходить гидролиз препаратов как сложных эфиров.

Как сложные эфиры, указанные препараты вступают в реакцию гидроксамовой пробы, гидролитического расщепления и переэтерификации.

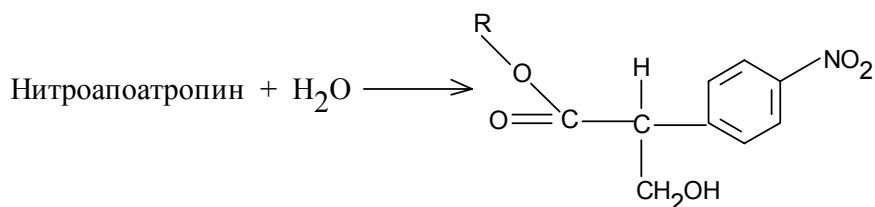
Реакция Витали-Морена

Указанная реакция характерна для сложных эфиров некоторых ароматических кислот. Ниже рассматривается ее механизм на примере атропина.

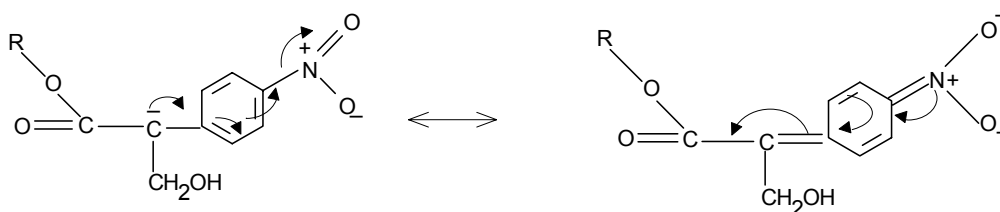
К нескольким кристаллам вещества в выпарительной чашке добавляют 3-4 капли концентрированной азотной кислоты и упаривают досуха. Остаток смачивают несколькими каплями спиртового раствора гидроксида калия и ацетона; возникает фиолетовое окрашивание:



При нагревании препарата с дымящей азотной кислотой происходит нитрование ароматического кольца в 4-ом положении и, одновременно, этерификация спиртового гидроксила. От образовавшегося динитроатропина в жестких условиях легко отщепляется молекула воды и образуется нитроапоатропин, который в щелочной среде вновь присоединяет воду, превращаясь в нитроатропин:



Нитроатропин в щелочной среде образует мезомерно стабилизированный краситель азаоксанолевого типа:



Реакция открыта Витали в 1881 г. и позднее модифицирована Мореном. Без добавления ацетона реакция мало чувствительна, но более специфична. Следует отметить, что в реакцию вступают именно *сложные эфиры*, но не кислоты (троповая, миндальная и др.)

АНАЛИЗ КАЧЕСТВА ИНДИВИДУАЛЬНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ

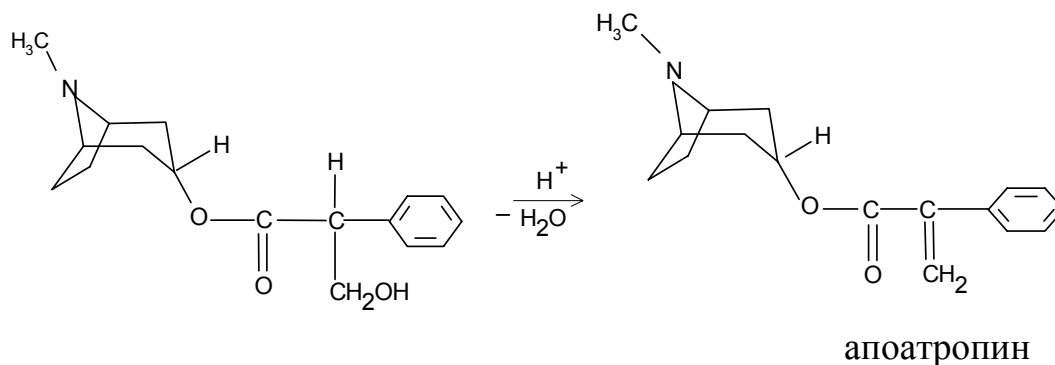
Атропин

Атропин является рацемической формой природного левовращающего алкалоида **гиосциамин**. Степень и скорость рацемизации зависит от значения рН, характера растворителей, температуры и др. условий. Так по-

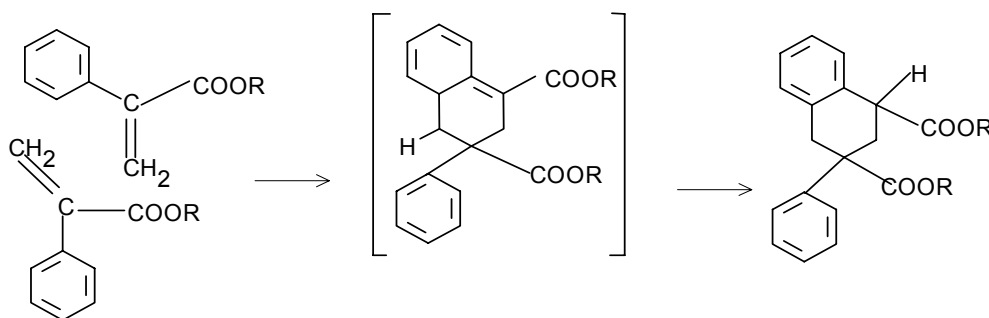
вышение значения pH, увеличения температуры в присутствии полярных растворителей приводит к быстрой рацемизации.

Оптимальные значения pH, при которых атропин стабилен как сложный эфир лежат в пределах 3,0 - 4,0.

В определенных условиях атропин подвергается дегидратации с образованием апоатропина:



Далее апоатропин может довольно легко димеризоваться до белладонина и изатроповой кислоты:



Где R – остаток тропина.

ГФ регламентирует определение в атропине апоатропина, как специфической примеси.

Количественное определение атропина по ГФ проводят методом кислотного-основного титрования в среде ледяной уксусной кислоты (титрант – 0,1 М раствор хлорной кислоты). Особенность методики заключается в том, что сульфаты в среде ледяной уксусной кислоты титруются только по 1-й ступени. Это объясняется тем, что двухосновная серная кислота в среде протонного растворителя только по первой ступени диссоциирует как сильная:



Скополамина гидробромид

Скополамин является сложным эфиром аминоспирта *скопина* и 1-троповой кислоты. Скопин отличается от тропина наличием эпокси-мостика между 6 и 7 атомами углерода. Скополамин оптически активен, поэтому ГФ регламентирует определение удельного вращения. Кроме этого ГФ включает в качестве испытания подлинности реакцию Витали-Морена.

Количественное определение – метод кислотно-основного титрования в среде ледяной уксусной кислоты с добавлением ацетата ртути (II).

Гоматропина гидробромид

Это полусинтетическое лекарственное вещество, являющееся сложным эфиром тропина и d,l-миндальной кислоты.

В отличие от атропина и скополамина, гоматропин не вступает в реакцию Витали-Морена в обычных условиях. Это связано с тем, что спиртовый гидроксил миндальной кислоты чувствителен к окислению и под действием азотной кислоты окисляется до кетона. Вследствие этого нитрование ароматического кольца по 4-ому положению затрудняется и дальнейшее образование оксанолового красителя становится невозможным. Для положительного проведения реакции Витали-Морена с гоматропином, препарат предварительно ацетируют уксусным ангидридом, блокируя спиртовую группу.

Отличие гоматропина (как сложного эфира миндальной кислоты) заключается также в проявлении кислотных свойств. По ГФХ к раствору препарата добавляют раствор гидроксида калия и наблюдают выпадение осадка основания, растворяющегося в избытке реактива.

Кроме взаимодействия с раствором гидроксида калия, ГФХ включает в качестве **испытания подлинности** гоматропина неспецифические реакции с раствором йода (общеалкалоидный осадительный реактив) и с раствором дихлорида ртути

Количественное определение гоматропина – метод кислотно-основного титрования в среде ледяной уксусной кислоты с добавлением ацетата ртути (II).

Тропацин и Тропафен

Это синтетические лекарственные вещества, являющиеся сложными эфирами, соответственно, дифенилуксусной и α -фенил- β -(пара-ацетоксифенил)пропионовой кислот.

Оба препарата вступают в реакцию Витали-Морена. В отличие от тропацина, тропafen легче подвергается гидролизу по двум сложноэфирным группам. Один из продуктов гидролиза – уксусную кислоту – подвергают этерификации с этиловым спиртом и образующийся этилацетат определяют по характерному запаху.

Оба препарата **количественно** определяют методом кислотно-основного титрования в среде ледяной уксусной кислоты.

Тровентол

Тровентол – соль четвертичного производного тропана.

Испытания подлинности включают реакции Витали-Морена, с реактивом Драгендорфа и на йодид-ион.

Количественно препарат можно определить с помощью физико-химических методов.

Кокаина гидрохлорид

Препарат является сложным эфиром аминокислоты эггоина. Изучение строения алкалоида и вычленение в нем анестезиофорной группы привело к направленному синтезу местных анестетиков (новокаина, дикаина, тримекаина и др.).

Для **определения подлинности** кокаина ГФ включает реакции переэтерификации и образования характерных кристаллов препарата с перманганатом калия. Для первого испытания кокаин нагревают с концентрированной серной кислотой, что приводит к образованию метилбензоата, обладающего характерным запахом. По второму испытанию препарат взаимодействует с раствором перманганата калия в определенных условиях, в результате чего получают характерной формы кристаллы. Эта реакция позволяет отличить кокаин от синтетических анестетиков.

Количественное определение кокаина гидрохлорида проводят методом кислотно-основного титрования в среде ледяной уксусной кислоты с добавлением ацетата ртути (II).

Тема 14. АНАЛИЗ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ ГРУППЫ ХИНОЛИНА И ИЗОХИНОЛИНА

1. ПРОИЗВОДНЫЕ ХИНОЛИНА

Хинолин – бенз[b]пиридин – содержится (наряду с хинуклидином) в молекуле алкалоида хинного дерева хинина. В коре хинного дерева кроме хинина содержится еще около 30 алкалоидов.

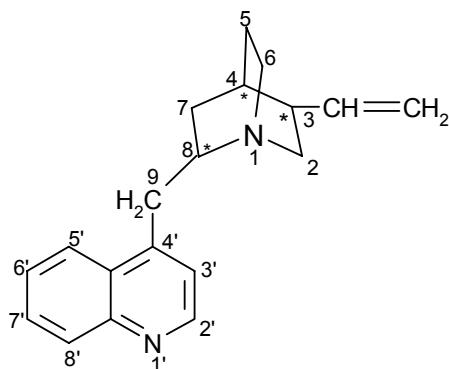
В 1792 г. **А.Ф. Фуркруа** (Fourcroy) и в 1809 г. **Л.Н. Воклен** (Vauquelin) ввели в медицинскую практику препарат “хина”, являющийся суммой неочищенных алкалоидов коры хинного дерева. В 1842 г. **Ш.Ф. Жерар** (Gerhardt) получает хинолин при гидролизе хинина. Истинную структуру хинина установили **Кениг** (Konig) и **З.Х. Скрауп** (Skraup) в 1880 г. После установления структуры хинина, был проведен ряд целенаправленных синтезов противомаларийных, антибактериальных и др. лекарственных средств.

Большинство лекарственных веществ производных хинолина можно разделить на следующие группы:

1. Производные **цинхонана** (соли хинина, хинидин)
2. Производные **8-оксихинолина** (хинозол, нитроксолин, хлорхинальдол, энтеросептол)
3. Производные **4-аминохинолина** (хингамин, трихомонацид)
4. Производные **4-хинолона** (офлоксацин, норфлоксацин, ципрофлоксацин).

ПРОИЗВОДНЫЕ ЦИНХОНАНА

Гетероциклическая система цинхонана лежит в основе химического строения хинина и его оптического изомера хинидина.



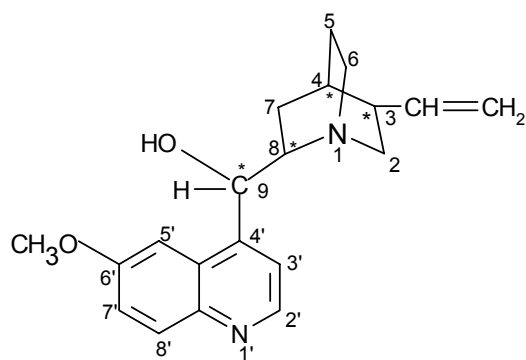
ЦИНХОНАН

Цинхонан состоит из хинолинового ядра, связанного через метиленовый мостик с хинуклидиновым ядром, имеющим винильную группу. Хинуклидиновый фрагмент содержит три асимметрических углеродных атома.

Хинин (и его правовращающий изомер **хинидин**) является 9-Окси-6'-метоксицинхонаном. У хинина появляется четвертый асимметричный атом углерода.

Препараты хинина применяются в качестве антималярийных, антипиретических лекарственных средств. Хинин также является стимулятором мускулатуры матки.

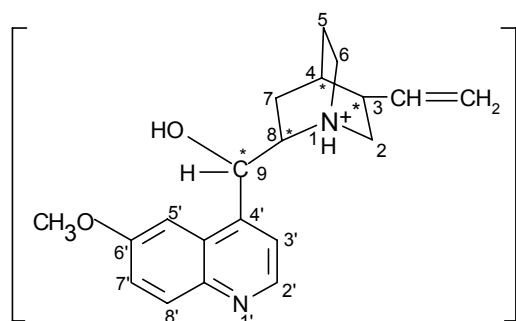
Хинидин – антиаритмическое средство.



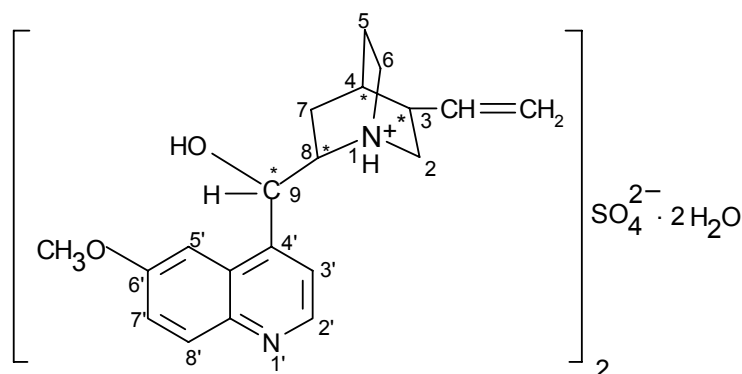
ХИНИН

Хинин является двухкислотным основанием и, поэтому, может образовывать одно- и двухзамещенные соли. Более выраженным центром основности является ядро хинуклидина, где неподеленная пара электронов локализована на гетероатоме азота.

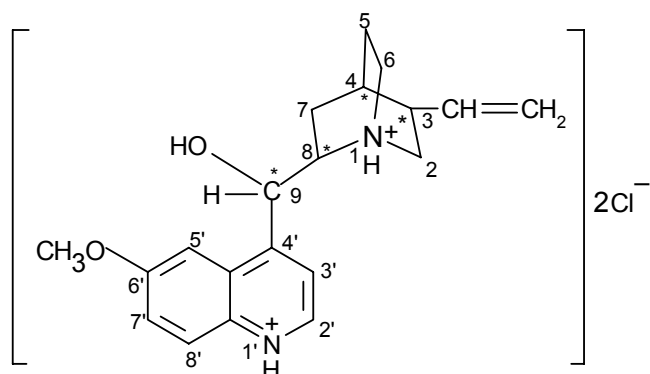
В ГФ включены следующие лекарственные вещества: **Хинина гидрохлорид (Chinini hydrochloridum)**, **Хинина сульфат (Chinini sulfas)** и **Хинина дигидрохлорид (Chinini dihydrochloridum)**.



Хинина гидрохлорид - Гидрохлорид 9-окси-6'-метоксицинхонана дигидрат или 6'-метоксихинолил-(4')-[5-винилхинуклидил-(2)]-карбинола гидрохлорид, дигидрат. Однозамещенная соль хинина. Белый мелкокристаллический порошок без запаха, очень горького вкуса. Растворим в воде, pH водного раствора 6,0 - 7,0.



Хинина сульфат - 9-окси-6'-метоксицинхонана сульфат, дигидрат или 6'-метокси-(4')-[5-винилхинуклидил-(2)]-карбинола сульфат, дигидрат. Белый мелкокристаллический порошок без запаха, очень горького вкуса. Мало растворим в воде, pH суспензии 5,7 - 6,6. Однозамещенная соль хинина.



Хинина дигидрохлорид - 9-окси-6'-метоксицинхонана дигидрохлорид или 6'-метокси-(4')-[5-винилхинуклидил-(2)]-карбинола дигидрохлорид. Белый кристаллический порошок без запаха, очень горького вкуса. Очень легко растворим в воде, рН водного раствора 4,0 - 6,4. Двухзамещенная соль хинина.

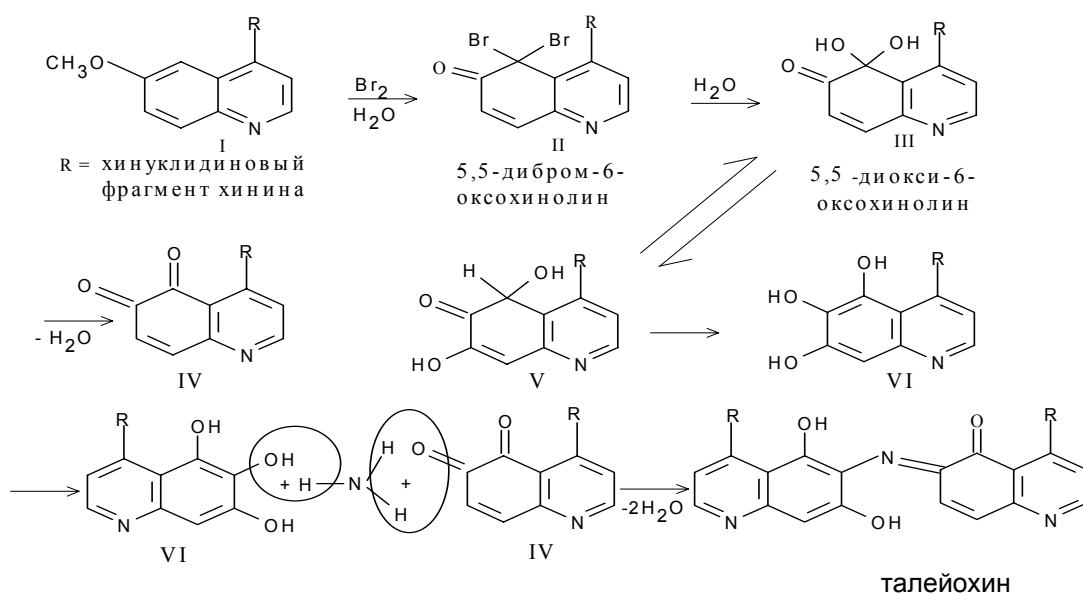
Лекарственные формы: порошки и таблетки хинина сульфата и гидрохлорида, раствор хинина дигидрохлорида 50% для инъекций.

Химические свойства и анализ качества

Как соли азотистых оснований препараты хинина взаимодействуют с общеалкалоидными осадительными реактивами.

Общегрупповой реакцией алкалоидов группы 6'-метоксицинхонана является талейохинная проба. Другие алкалоиды хинной корки, не имеющие заместителей в 6'-положении в эту реакцию не вступают. Для проведения реакции к водному раствору соли хинина добавляют хлорную или бромную воду, а затем разбавленный раствор аммиака; появляется зеленое окрашивание.

Механизм реакции заключается в окислении и галогенировании хинолинового фрагмента с образованием 5,5-дибром-6-оксохинолинпроизводного, его дальнейшей гидратации, изомеризации, конденсации с аммиаком, в результате чего получается оксооловый краситель зеленого цвета:



Наряду с приведенной структурой талейохина, образуются и другие подобного строения талейохины, в которых возможны связи аммиака с 5,5 и 5,6 углеродными атомами. Талейохинная проба принята ГФ в качестве испытания подлинности препаратов хинина.

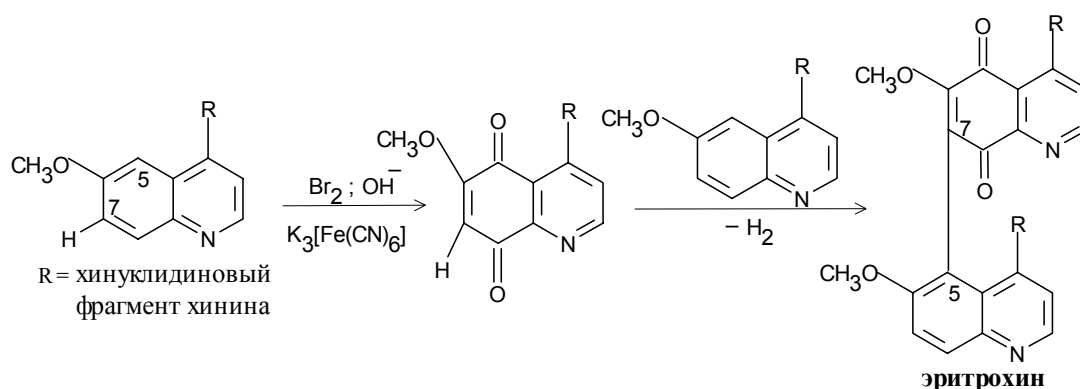
Также фармакопейным испытанием подлинности является флуоресценция хинина в растворах кислородсодержащих кислот (серная, уксусная и др.). Это испытание отрицательно для цинхонина и других алкалоидов хинной коры, не имеющих метоксигруппы в 6'-положении.

ГФ регламентирует также определение удельного вращения препаратов хинина в растворе соляной кислоты.

Известными неофициальными реакциями хинина являются эритрохинная проба и образование герепатита.

Эритрохинная реакция протекает под действием бромной воды и калия гексацианоферрата (III) в щелочной среде на раствор хинина; появляется красное окрашивание. Эта реакция в 10 раз чувствительнее талейохинной, но окрашивание сохраняется короткое время.

Механизм реакции связан с окислением хинина до производного 5,8-хинолинхинона, который далее взаимодействует с не прореагировавшим хинином через 5 и 7 углеродные атомы с образованием эритрохина:



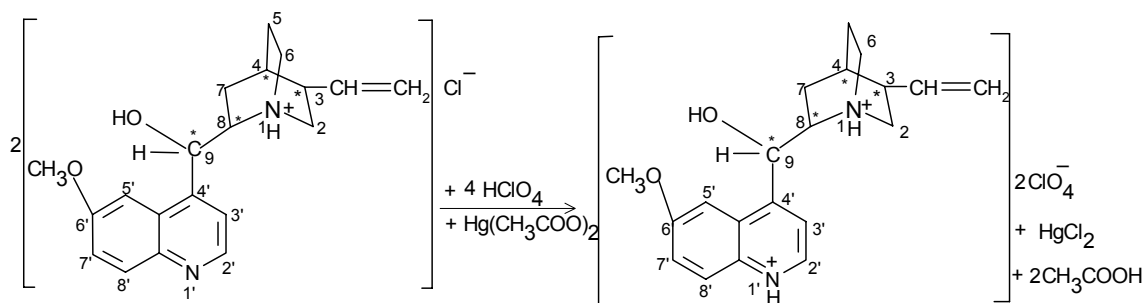
Герепатит – $4C_{20}H_{24}O_2N_2 \cdot 3H_2SO_4 \cdot 2HI \cdot 4I_2 \cdot 6H_2O$ – кристаллы темно-зеленого цвета в форме листочков, образующиеся при взаимодействии сернокислого раствора хинина со спиртовым раствором йода.

Количественное определение индивидуальных солей хинина по ГФ проводят гравиметрически по основанию, выделяемому из раствора соли при добавлении раствора натрия гидроксида. Выделяющееся основание экстрагируют хлороформом (который затем отгоняют), высушивают и взвешивают.

Таблетки хинина гидрохлорида и хинина сульфата определяют методом кислотно-основного титрования по остатку минеральных кислот.

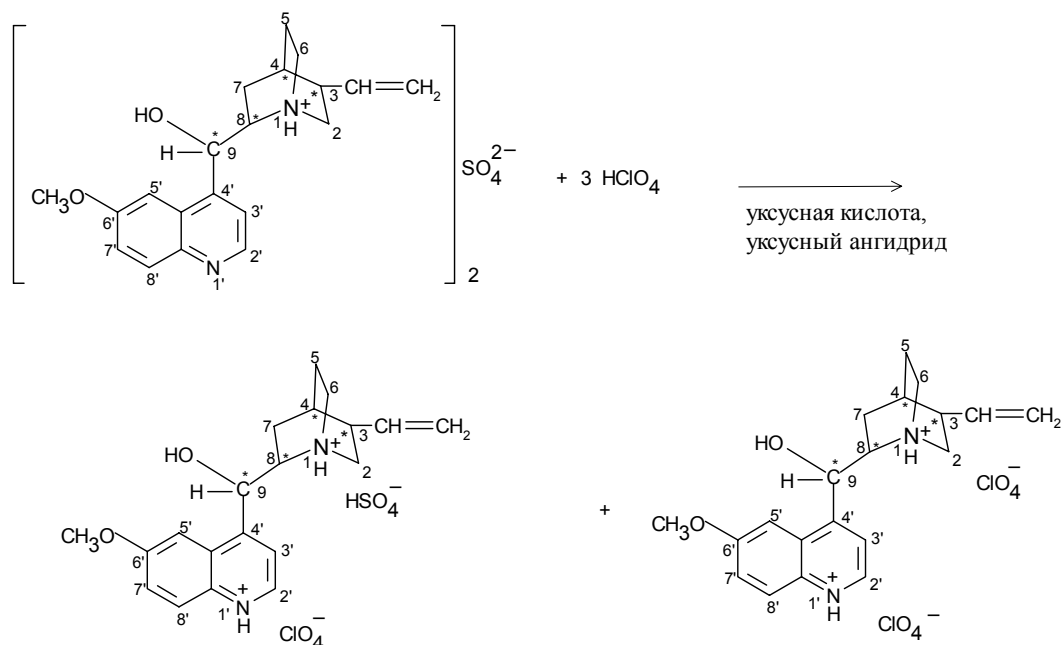
Известны неофициальные методики количественного определения препаратов хинина в неводной среде и броматометрические. Определение

хинина гидрохлорида и дигидрохлорида проводят в среде ледяной уксусной кислоты с добавлением ангидрида уксусного и ртути (II) ацетата:



хинина хлорид

В аналогичных условиях проводят количественное определение хинина сульфата:



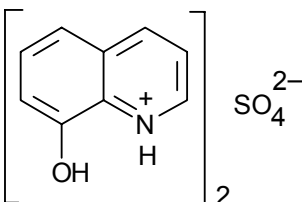
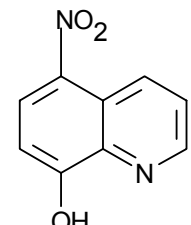
Броматометрическое количественное определение хинина основано на бромировании винильного радикала в хинуклидиновом фрагменте алкалоида.

Международная Фармакопея регламентирует одновременное определение препаратов хинина двумя методиками: кислотно-основным титрованием в неводной среде и броматометрически. Первой методикой определяется хинин в сумме с возможной примесью – дигидрохинином (имеет в хинуклидиновом фрагменте предельный этильный радикал), а второй – только хинин. Разница в результатах, полученных по двум методикам, показывает содержание примеси дигидрохинина в препарате.

ПРОИЗВОДНЫЕ 8-ОКСИХИНОЛИНА

К производным 8-оксихинолина относится довольно многочисленная группа лекарственных веществ, представителями которой являются хинозол, энтеросептол, нитроксолин, хлорхинальдол.

Таблица 1. Производные 8-оксихинолина

Химическая структура	Описание
	Chinosolum. Хинозол. 8-оксихинолина сульфат. Мелкокристаллический порошок лимонно-желтого цвета. Легко растворим в воде. Лекарственные формы: растворы, присыпки, мази, суппозитории. Антисептик.
	Nitroxolinum. Нитроксолин. 5-нитро-8-оксихинолин. Мелкокристаллический порошок желто-зеленого цвета. Практически нерастворим в воде. Лекарственная форма: таблетки покрытые оболочкой. Антибактериальное средство.

Общие химические свойства и реакции подлинности

Приведенные лекарственные вещества по кислотно-основным свойствам относятся к амфолитам. Однако их кислотные свойства выражены сильнее, чем у простых фенолов из-за влияния на подвижность атома водорода фенольного гидроксила гетероатома азота. Поэтому 8-оксихинолин растворяется в карбонатах. Наличие электроакцепторных атомов в молекулах нитроксолина и хлорхинальдола приводит к еще большему усилению кислотных свойств.

Одним из испытаний подлинности хинозола является взаимодействие раствора препарата с водным раствором натрия карбоната. Выпадает осадок (8-оксихинолин), растворяющийся при добавлении избытка реактива.

Амфотерные свойства лекарственных веществ группы 8-оксихинолина обуславливают их различную диссоциацию, а также специфику спектров поглощения в УФ-области в растворах кислот и щелочей. Так ФС на хлорхинальдол предусматривает определение УФ-спектров поглощения препарата в 0,5 М растворе соляной кислоты (максимумы поглощения при 330 нм и 357 нм) и в 0,5 М растворе натрия гидроксида (максимум поглощения при 263 нм).

Другая особенность указанных лекарственных веществ, как производных 8-оксихинолина, – образование хелатных комплексных соединений с ионами металлов (Mg^{2+} , Fe^{3+} , Cu^{2+} и др.). При этом прочность некоторых комплексов такова, что они не разрушаются разбавленными минеральными кислотами. Реакции комплексообразования приводятся в качестве испытания подлинности на хинозол, хлорхинальдол и нитроксолин.

Частные химические свойства и реакции подлинности

Ароматическую нитрогруппу в нитроксолине восстанавливают до первичной ароматической аминогруппы и далее проводят диазотирование (добавлением раствора нитрита натрия с образованием соли диазония) и азосочетание со щелочным раствором β -нафтола с образованием азокрасителя красно-оранжевого цвета.

Хинозол и нитроксолин способны также вступать в реакции Марки и индофенольную, галогенирования.

Методики количественного определения

Общегрупповыми методиками количественного определения препаратов рассматриваемой группы являются:

1. кислотно-основное титрование в водной и неводной средах;
2. комплексометрия;
3. гравиметрия (при образовании нерастворимых комплексных соединений).

Хинозол количественно определяют по остатку серной кислоты алкалиметрически (титрант – 0,1 М раствор натрия гидроксида).

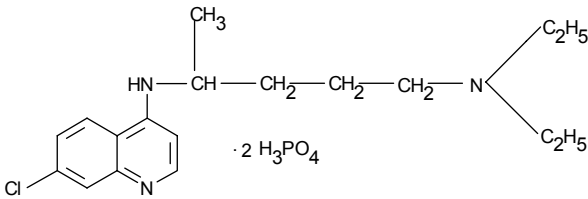
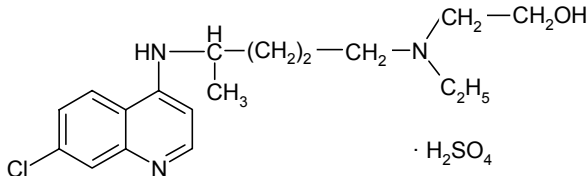
Нитроксолин определяют в среде протофильного растворителя – диметилформамида. При этом усиливаются кислотные свойства препарата. Титрант – 0,1 М раствор натрия метилата.

Хлорхинальдол по ФС количественно определяют в среде уксусного ангидрида (титрант – 0,1 М раствор кислоты хлорной).

ПРОИЗВОДНЫЕ 4-АМИНОХИНОЛИНА

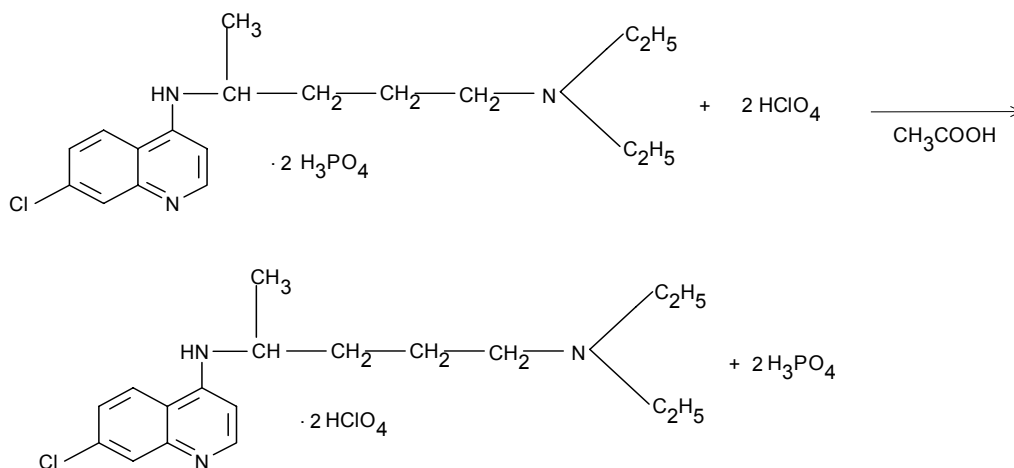
Представителями этой группы являются **хлорохин** и **гидроксихлорохина сульфат**. Хингамин применяется, главным образом, для лечения малярии, а трихомонадид – для лечения трихомонадоза и других протозойных инфекций.

Таблица 2. Производные 4-аминохинолина

Химическая структура	Описание
	<p>Chloroquinum. Хлорохина фосфат. 4-(1'-метил-4'-диэтиламинобутиламино)-7-хлорхинолина дифосфат. Белый или белый с легким кремоватым оттенком кристаллический порошок горького вкуса. Легко растворим в воде, очень мало – в спирте.</p> <p>Лекарственные формы: порошок, таблетки, раствор для инъекций.</p> <p>Противомалярийное средство.</p>
	<p>Hydroxychloroquinum. Гидроксихлорохина сульфат. 4-(1-метил-4-этил-4-оксиэтиламинобутиламино)-7-хлорхинолина сульфат. Белый или почти белый кристаллический порошок. Без запаха. Легко растворим в воде; практически нерастворим в хлороформе, этаноле и эфире.</p> <p>Лекарственная форма: таблетки</p> <p>Антипротозойное и противомалярийное средство.</p>

Подлинность хлорохина и гидроксихлорохина сульфата определяют по общегрупповым реакциям, характерным для солей азотистых оснований и с помощью физико-химических методов. У хлорохина определяют температуру плавления его пикрата и регистрируют спектр поглощения солянокислого раствора в УФ-области, имеющий максимумы при 257, 329 и 343 нм.

Количественное определение хлорохина фосфата и гидроксихлорохина сульфата проводят методом кислотно-основного титрования в среде ледяной уксусной кислоты (титрант – 0,1 М раствор кислоты хлорной). Фосфаты при этом титруются только по первой ступени:

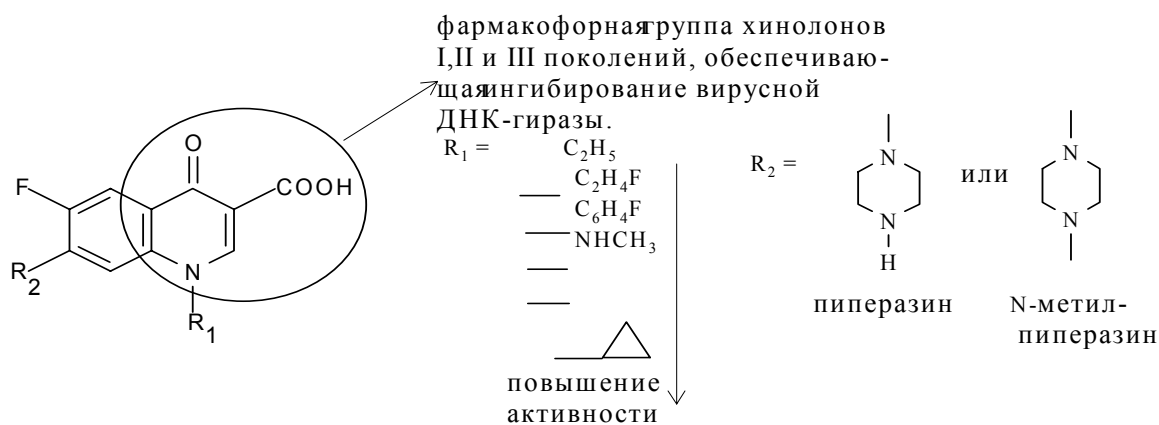


ПРОИЗВОДНЫЕ 4-ХИНОЛОНА

Лекарственные средства этой группы являются синтетическими химическими веществами, обладающими широким антибактериальным спектром и применяющимися для лечения инфекционных заболеваний различной природы и локализации. К препаратам первого поколения относятся кислота налидиксовая (относится к нафтиридинам) и кислота оксолиниевая (относится к хинолонам):

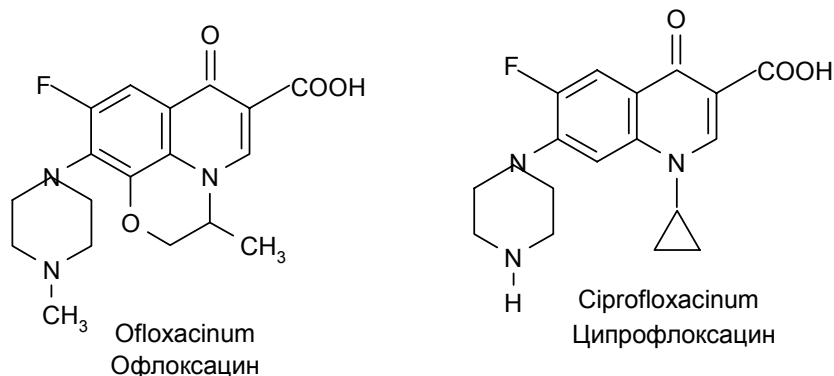


В настоящее время широкое применение в медицине нашли препараты третьего поколения, такие как офлоксацин, норфлоксацин, ципрофлоксацин (ципробай) и др., называемые фторхинолонами, отвечающие общей структурной формуле:



В настоящее время установлена взаимосвязь структуры хинолонов с фармакологическим действием, заключающаяся в следующем:

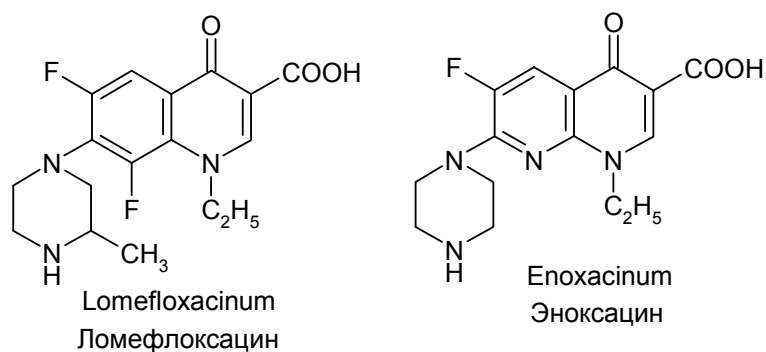
- наличие фармакофорной группы, отвечающей за ингибирование вирусной ДНК-гиразы;
- введение атома F расширяет антибактериальный спектр;
- пиперазиновый или N-метилпиперазиновый циклы повышают антибактериальную активность в отношении грамположительных микроорганизмов и облигатных анаэробов, придают соединению липофильные свойства;
- оксазиновое кольцо повышает устойчивость к метаболизму, уменьшает токсичность, придает соединению гидрофильные свойства;
- сочетание оксазина с N-метилпиперазином обуславливает амфотерность, улучшает всасывание и распределение в тканях и различных очагах инфекции.



Офлоксацин – белый с желтым оттенком кристаллический порошок, без запаха. Очень мало растворим в воде, метаноле; трудно растворим в хлороформе; легко растворим в ледяной уксусной кислоте. Обладает амфотерными свойствами.

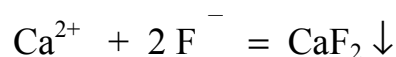
Ципрофлоксацин (выпускается в виде гидрохлорида или лактата) – белый кристаллический порошок без запаха, растворим в воде, мало растворим в спирте, нерастворим в хлороформе.

Кроме офлоксацина и цiproфлоксацина к хинолонам третьего поколения относятся еще около десяти лекарственных средств. Среди них ломефлоксацин (содержит два атома фтора) и эноксацин (производный нафтиридина):

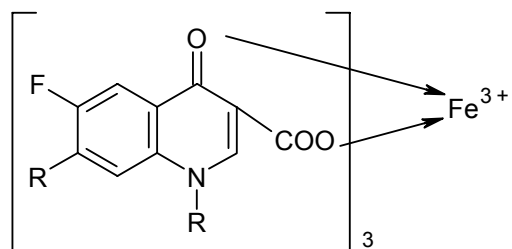


Подлинность лекарственных веществ группы 4-хинолона подтверждают с помощью физико-химических методов (ИК- и УФ-спектроскопия, ВЭЖХ).

Органически связанный фтор определяют после минерализации в виде фторида по реакции с раствором хлорида кальция (появляется белый осадок фторида кальция):



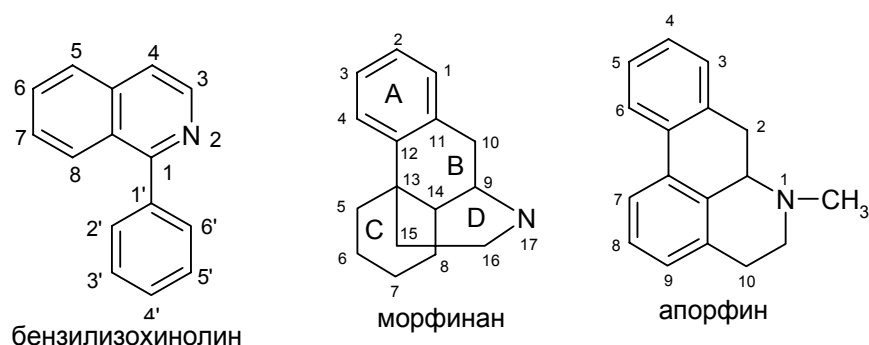
Препараты группы 4-хинолона образуют хелатные комплексы с ионами Fe^{3+} темно-красного цвета:



Количественное определение индивидуальных препаратов группы 4-хинолона, а также их лекарственных форм проводят с помощью физико-химических методов и методом кислотно-основного титрования в неводных средах.

2. ПРОИЗВОДНЫЕ ИЗОХИНОЛИНА

Широкое применение в медицине лекарственных веществ производных изохинолина связано с изучением алкалоидов мака снотворного. В млечном соке зеленых коробочек мака содержится около 25 алкалоидов. Важнейшие из них: морфин, кодеин, тебаин, наркотин, папаверин. Алкалоиды группы изохинолина (и лекарственные вещества, созданные на их основе) относятся, главным образом, к производным бензилизохинолина, морфинана и апорфина. Морфинан и апорфин относятся к группе фенантренизохинолина:

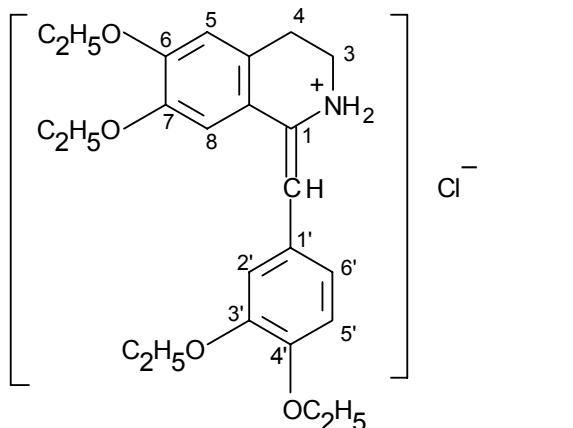


Производные бензилизохинолина

К данной группе относятся папаверина гидрохлорид и дротаверина гидрохлорид (являющийся производным 1,2,3,4-тетрагидроизохинолина).

Таблица 3. Производные бензилизохинолина

Химическая структура	Описание
<p>The structure shows a benzylisoquinoline core with methoxy groups at positions 6 and 7 of the isoquinoline ring, and methoxy groups at positions 3' and 4' of the benzyl ring. The nitrogen atom is protonated and carries a positive charge, with a chloride ion (Cl⁻) as the counterion.</p>	<p>Papaverini hydrochloridum. Папаверина гидрохлорид. 6,7-Диметокси-1-(3',4'-диметоксибензил)-изохинолина гидрохлорид. Белый кристаллический порошок без запаха. Растворим в хлороформе, умеренно растворим в воде, мало растворим в спирте. Лекарственные формы: порошок, таблетки, раствор для инъекций. Спазмолитик. Список Б.</p>

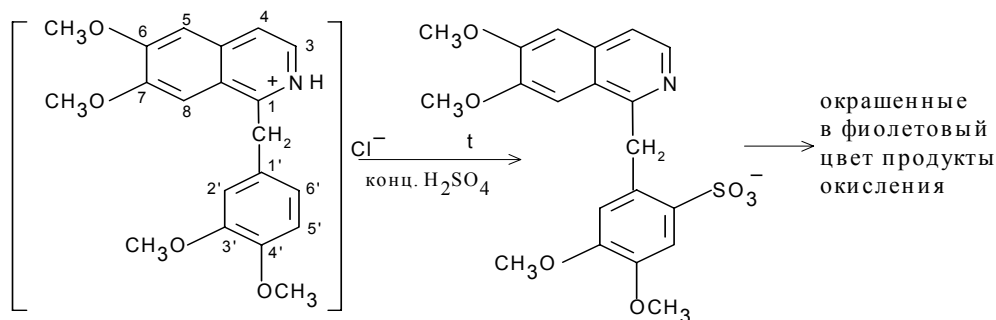
	<p>Drotaverini hydrochloridum (No-spanum). Дротаверина гидрохлорид (Но-шпа). 1-(3',4'-Диэтоксбензилиден)-6,7-диэтокс-1,2,3,4-тетрагидроизохинолина гидрохлорид. Зеленовато-желтый кристаллический порошок со слабым запахом. Лекарственные формы: таблетки, раствор для инъекций. Спазмолитик. Список Б.</p>
---	---

Папаверина гидрохлорид – соль слабого азотистого основания, не растворимого в уксусной кислоте. Поэтому при добавлении к раствору препарата раствора ацетата натрия выделяется осадок основания. Это испытание позволяет отличить папаверина гидрохлорид от солей более сильных оснований.

Папаверин взаимодействует с общеалкалоидными осадительными реактивами.

Восстановительные свойства папаверина гидрохлорида объясняются наличием в структуре двух ароматических фрагментов, связанных метиленовой группой, а также четырех метоксидных групп. Лекарственное вещество легко окисляется на свету и в присутствии примеси ионов тяжелых металлов. Первыми продуктами окисления являются спирт папаверинол и кетон папаверальдин (окисление происходит по метиленовому фрагменту).

При добавлении к папаверину гидрохлориду сильных окислителей и последующем нагревании образуются различно окрашенные продукты. Так, взаимодействие с концентрированной азотной кислотой приводит к появлению желтого окрашивания, переходящего в оранжево-красное при нагревании. Нагревание с концентрированной серной кислотой приводит к образованию продукта окрашенного в фиолетовый цвет:



кулу дротаверина можно рассматривать как продукт конденсации 6,7-диэтокситетрагидроизохинолина и 3,4-диэтоксibenз-альдегида. Препарат имеет характерный спектр поглощения в УФ-области.

Дротаверин проявляет более выраженные основные свойства, чем папаверин, поэтому для выделения основания из раствора препарата следует добавить раствор щелочи.

Как и папаверин, дротаверин обладает выраженными восстановительными свойствами. При добавлении к навеске препарата концентрированно серной кислоты с дальнейшим добавлением капли разведенной азотной кислоты возникает темно-коричневое окрашивание.

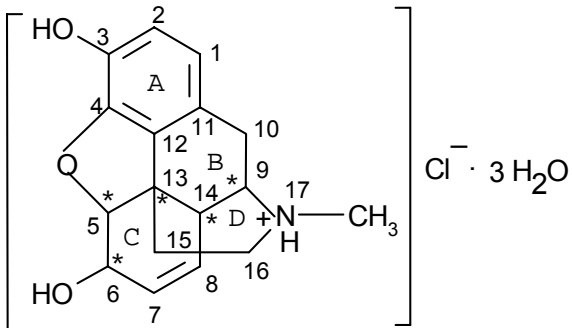
Количественное определение дротаверина гидрохлорида проводят также, как у папаверина гидрохлорида.

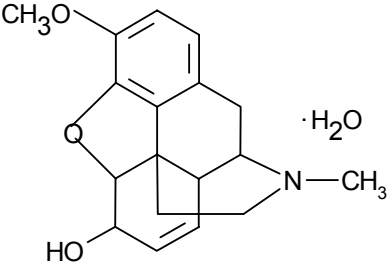
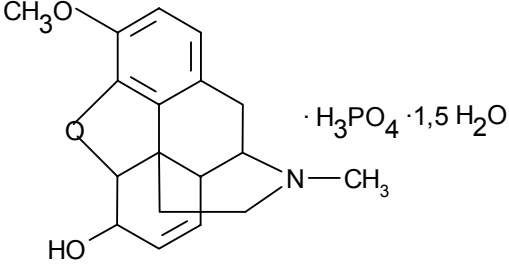
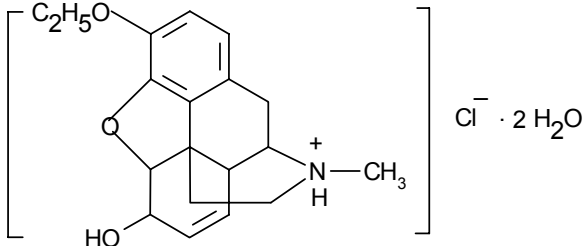
Производные фенантренизохинолина

Большинство лекарственных веществ этой группы относятся к подгруппе морфинана. К подгруппе апорфина относится апоморфина гидрохлорид.

Производные морфинана

Таблица 4. Производные морфинана

Химическая структура	Описание
	<p>Morphini hydrochloridum. Морфина гидрохлорид. 7,8-Дидегидро-4,5α-эпокси-17-метилморфинан-3,6α-диола гидрохлорид, тригидрат Белые игольчатые кристаллы или белый кристаллический порошок, желтеющий при хранении. Медленно растворим в воде, трудно растворим в спирте. Лекарственные формы: таблетки, раствор для инъекций. Наркотический анальгетик. Список А</p>

	<p>Codeinum. Кодеин. 7,8-Дидегидро-4,5-эпокси-3-метокси-17-метилморфинан-6-ола гидрат. Белый кристаллический порошок без запаха. Медленно и мало растворим в воде, растворим в горячей воде, легко растворим в спирте. Лекарственные формы: порошок, таблетки Наркотический анальгетик. Список Б.</p>
	<p>Codeini phosphas. Кодеина фосфат. 7,8-Дидегидро-4,5-эпокси-3-метокси-17-метилморфинан-6-ола фосфат, 1,5-гидрат Белый кристаллический порошок без запаха. Легко растворим в воде, мало – в спирте. Лекарственные формы: порошок. Наркотический анальгетик. Список Б.</p>
	<p>Aethylmorphini hydrochloridum. Этилморфина гидрохлорид. 7,8-Дидегидро-4,5-эпокси-3-этокси-17-метилморфинан-6-ола гидрохлорид, дигидрат. Белый кристаллический порошок без запаха. Растворим в воде и спирте, мало растворим в хлороформе, очень мало – в эфире. Лекарственные формы: порошок, таблетки. Наркотический анальгетик. Список А.</p>

Морфинан является частично гидрированным октагидрофенантренизохинолином. Сочетание циклов А,В,С образуют частично гидрированный фенантрен; С, D – гидрированный изохинолин; цикл D – пиперидин.

У морфина появляется еще один цикл, образованный эпокси-группой и соседними атомами углерода. Наличие пяти асимметрических атомов углерода (5,6,9,13,14) придает соединению оптическую активность.

Кисотно-основные свойства морфина объясняются наличием третичного атома азота (центр основности) и фенольного гидроксила (центр кислотности). Основные свойства морфина выражены слабее, чем у аммиака, а кислотные – не на много сильнее, чем у фенола.

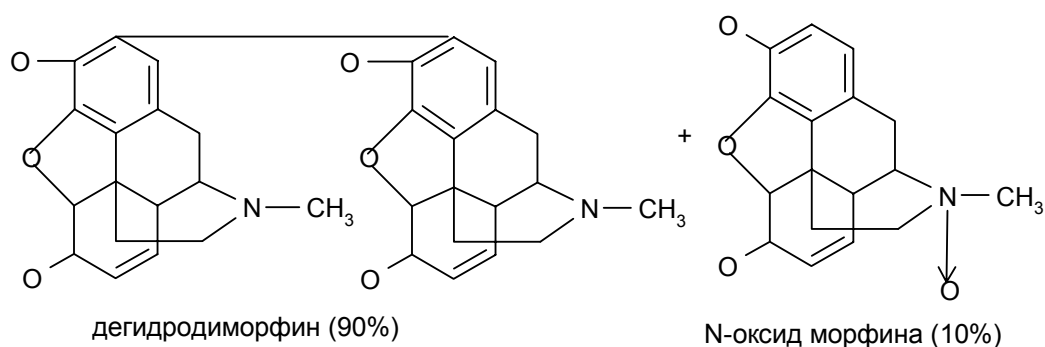
ГФ регламентирует, как одно из испытаний подлинности морфина гидрохлорида, взаимодействие его раствора с раствором аммиака (выпадает белый осадок основания). Дальнейшее прибавление раствора натрия гидроксида приводит к растворению осадка (образование фенолята).

Как и соли других оснований, морфина гидрохлорид взаимодействует с общеалкалоидными осадительными реактивами.

Выраженные **восстановительные свойства** обусловлены принадлежностью морфина к частично гидрированной системе фенантрена, а также наличием фенольного гидроксила и вторичной спиртовой группы.

Растворы морфина гидрохлорида очень легко окисляются, особенно на свету и в щелочной среде. Наибольшая устойчивость растворов препарата наблюдается при значении pH = 2,5.

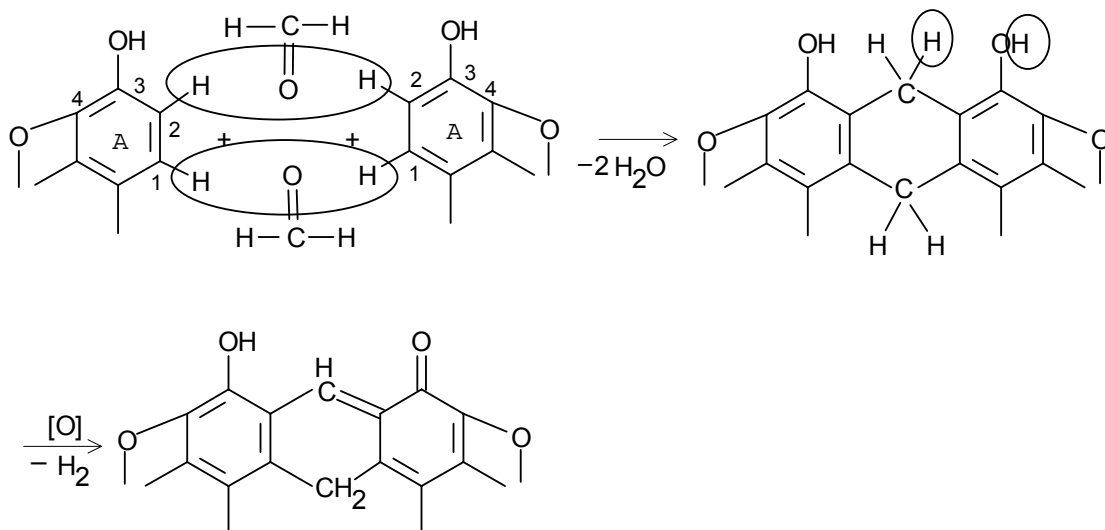
При свободном окислении морфина гидрохлорида образуются дегидроморфин (псевдоморфин) и N-оксид морфина в соотношении 9 : 1



Взаимодействие морфина гидрохлорида и других препаратов группы морфинана с сильными окислителями приводит к образованию различно окрашенных продуктов окисления.

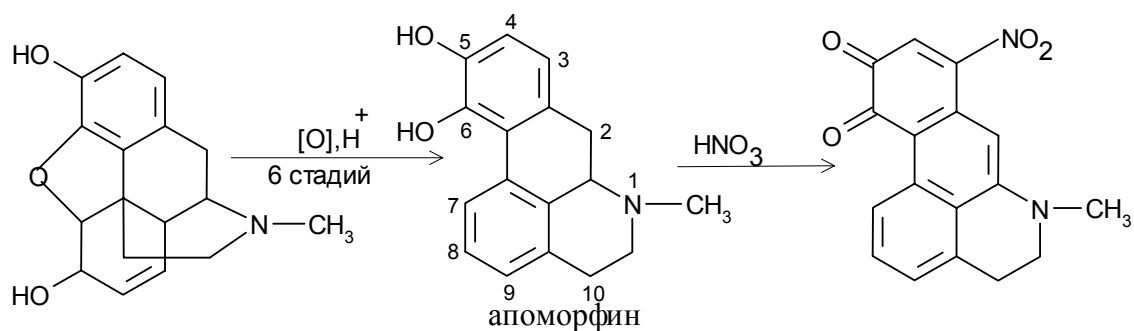
ГФ в качестве испытаний подлинности морфина гидрохлорида приводит реакции препарата с реактивом Марки и с раствором молибдата аммония в кислоте серной концентрированной (реактив Фреде). При взаи-

модействии морфина с реактивом Марки образуется пурпурное окрашивание, переходящее в фиолетовое:



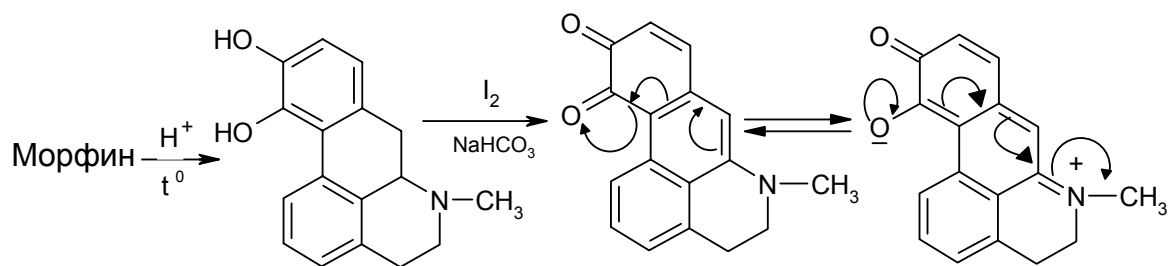
В результате взаимодействия препарата с реактивом Фреде появляется фиолетовое окрашивание, переходящее в синее и (при стоянии) в зеленое.

Известны и другие (неофициальные) реакции морфина гидрохлорида с различными окислителями. Так, при взаимодействии с реактивом Эрмана (смесь концентрированных серной и азотной кислот) образуется продукт красного цвета:

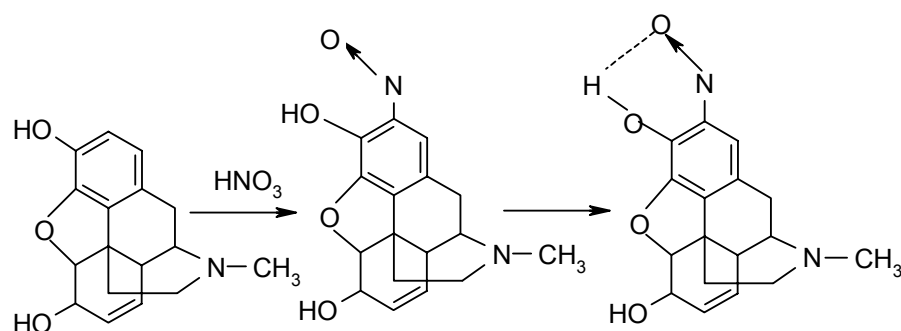


Окисление морфина реактивом Манделина (раствор ванадата аммония в кислоте серной концентрированной) приводит к образованию продукта фиолетового цвета.

Окисление морфина раствором йода (реакция Пеллагри) проходит в две стадии. На первой – морфин переводят в апоморфин нагреванием с кислотой серной концентрированной. Затем кислоту нейтрализуют и добавляют раствор йода и натрия гидрокарбонат. В результате образуется мезомерно стабилизированный красного цвета *o*-хинон:



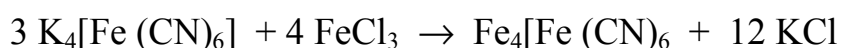
Реакция морфина с кислотой азотной концентрированной приводит к образованию оранжево-красного внутримолекулярного хелата:



При добавлении к раствору препарата раствора калия гексацианоферрата (III) образуются псевдоморфин и калия гексацианоферрат (II):



Дальнейшее прибавление раствора железа (III) хлорида приводит к образованию берлинской лазури синего цвета:



Известны реакции морфина гидрохлорида и с другими окислителями.

Наличием в молекуле морфина фенольного и вторичного спиртового гидроксильных обусловлены характерные для этих функциональных групп реакции. Так, при взаимодействии раствора препарата с раствором железа (III) хлорида появляется сине-фиолетовое окрашивание (образование комплексного соединения по фенольному гидроксильной), быстро исчезающее из-за окисления морфина реактивом.

Как и другие фенолы, морфин вступает в S_E реакции (галогенирование, азосочетание с солями диазония и др.).

Возможно окисление вторичного спиртового гидроксильной до кетона с последующим образованием оксимов, гидразонов, семикарбазонов.

Морфин легко этерифицируется и по фенольному, и по вторичному спиртовому гидроксильным.

ГФ регламентирует также определение величины удельного вращения морфина гидрохлорида.

Количественное определение морфина гидрохлорида по проводят методом кислотно-основного титрования в среде ледяной уксусной кислоты с добавлением ртути (II) ацетата.

Содержание кодеина в опиоиде невелико, поэтому препарат получают полусинтетически метилированием морфина. Особенностью кодеина, отличающей его от других алкалоидов и синтетических оснований является растворимость в воде, с чем связаны и выраженные основные свойства препарата.

Структурным сходством кодеина с морфином можно объяснить взаимодействие препаратов с одинаковыми окислителями. Но различие в окрашивании получающихся продуктов реакций позволяет отличать препараты друг от друга.

Реакция кодеина с реактивом Марки приводит к образованию синефиолетового окрашивания, усиливающегося при стоянии.

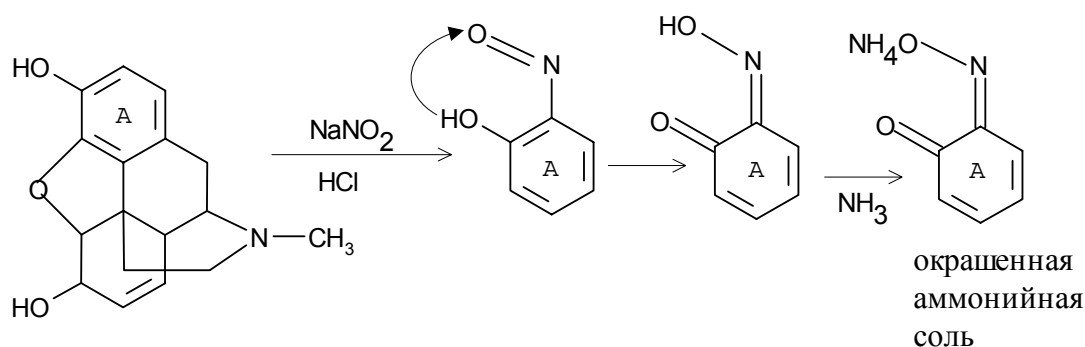
С концентрированной серной кислотой в присутствии железа (III) хлорида, как катализатора получается продукт синего цвета, переходящий после добавления небольшого количества разведенной азотной кислоты в красный.

При реакции кодеина с концентрированной азотной кислотой возникает оранжевое окрашивание, переходящее в желтое.

С реактивом Фреде кодеин реагирует с образованием фиолетового окрашивания, а с реактивом Эрдмана – красного.

Как и морфин, кодеин легко этерифицируется по вторичному спиртовому гидроксилу.

Специфической примесью в кодеине, допустимой по ГФ до 0,0001%, является морфин. Примесь морфина определяется в определенной навеске кодеина по реакции с раствором натрия нитрита в кислой среде и последующем добавлении раствора аммиака. Интенсивность возникшего при реакции окрашивания сравнивают с окрашиванием эталонного раствора морфина после взаимодействия с теми же реактивами:



Кодеин, являющийся метиловым эфиром морфина по фенольному гидроксилу, в реакцию с натрия нитритом не вступает.

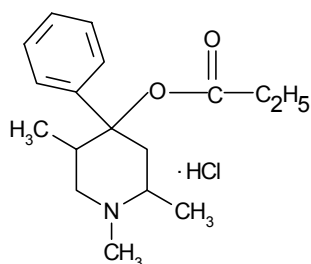
Количественное определение кодеина – ацидиметрия. Кодеин отличается от многих алкалоидов и синтетических оснований не только растворимостью в воде, но и силой основности. Значение рН водного раствора препарата находится в пределах 9,0. Это позволяет определять количественно кодеин методом кислотно-основного титрования в водной среде. Титрант – 0,1 М раствор кислоты хлороводородной, индикатор – метиловый красный.

Кодеина фосфат количественно определяют методом кислотно-основного титрования в неводной среде (растворитель – кислота уксусная ледяная; титрант – 0,1 М кислоты хлорной).

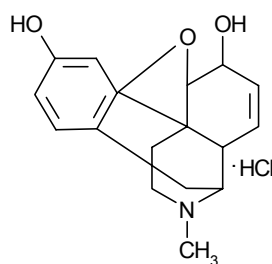
Этилморфина гидрохлорид по ГФ анализируется в тех же условиях, что и морфина гидрохлорид и кодеин. При взаимодействии препарата с концентрированной серной кислотой в присутствии железа (III) хлорида как катализатора возникает зеленое окрашивание, переходящее в фиолетово-синее, а при добавлении 1 капли кислоты азотной разведенной – в красное.

Синтетические аналоги морфина по фармакологическому действию

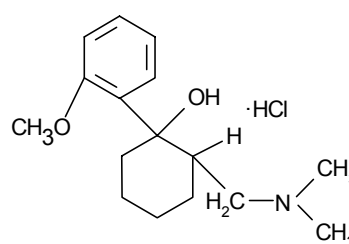
Учитывая степень социального зла, связанного с наркотическими анальгетиками, содержащимися в опиоиды, во многих лабораториях мира проводится большая работа по созданию синтетических аналогов морфина по фармакологическому действию. Одним из первых в ряду был синтезирован **промедол**, а сравнительно недавно – **трамал**:



Promedolum
1,2,5-Триметил-4-пропионилокси-4-фенилпиперидина гидрохлорид



Morphini hydrochloridum

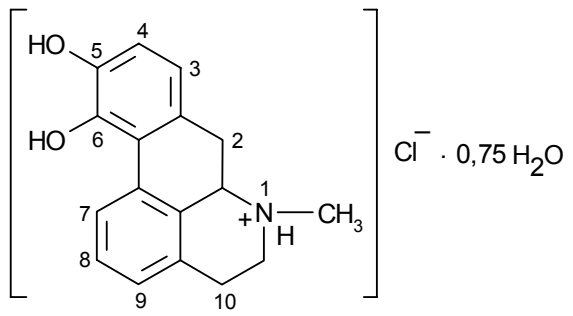


Tramalum
(±)-транс-2-[(диметил-амино)-метил]-1-(*m*-метоксифенил)-циклогексанола гидрохлорид.

Сравнение приведенных структур показывает преобладание химического строения промедола и трамала от предшественника – морфина. Хотя трамал не является даже гетероциклическим соединением. Следует, однако, отметить, что промедол и трамал действуют, по-видимому, на те же центры коры головного мозга, что и морфин. Поэтому их длительное применение также вызывает привыкание.

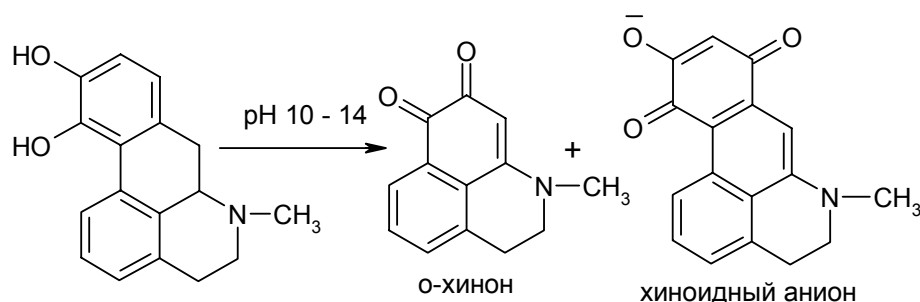
Производные апорфина

Таблица 5. Общие свойства производных апорфина

Химическая структура	Описание
	<p>Apomorphini hydrochloridum. Апоморфина гидрохлорид. 5,6-Диоксиапорфина гидрохлорид. Белый, слегка сероватый или слегка желтоватый кристаллический порошок. На воздухе и на свету зеленеет. Трудно растворим в воде. Лекарственные формы: порошок, раствор для инъекций. Рвотное средство. Список А</p>

Апоморфин следует рассматривать, как продукт промежуточного окисления морфина. Это обстоятельство сказывается на внешнем виде и химических свойствах препарата. Апоморфина гидрохлорид неустойчив при хранении, особенно на свету, и легко окисляется как в нейтральной, так и в кислой и щелочной среде.

Окисление в кислой и нейтральной среде (pH 2 - 7) приводит к образованию diketона (реакция Пеллагри, см. выше), а в щелочной – к ортохинону (10%) и хиноидному аниону (70%):



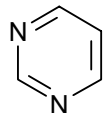
Подлинность апоморфина гидрохлорида определяют взаимодействием препарата с азотной кислотой (см. химизм нитрования морфина) и реакцией Пеллагри.

Другие реакции апоморфина связаны с его амфотерным характером и наличием в его молекуле двух фенольных гидроксильных групп.

Количественное определение апоморфина гидрохлорида – кислотно-основное титрование в неводной среде.

Тема 15. АНАЛИЗ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ ГРУППЫ ПИРИМИДИНА

Лекарственные вещества данного класса являются производными гетероцикла пириимидина – 1,3-диазина:



пириимидин

Пириимидин – слабое основание, растворим в воде; t^0 пл. $22,5^0$ С, t^0 кип. 124^0 С. В медицине самостоятельного применения не имеет.

Фрагмент пириимидина является составной частью некоторых жизненно необходимых биологически активных веществ, например, нуклеотидов, витаминов группы В₁. К веществам класса пириимидина относятся и многие синтетические лекарства, не являющиеся копиями природных соединений, а производных барбитуровой кислоты в природе вообще нет.

Классификация

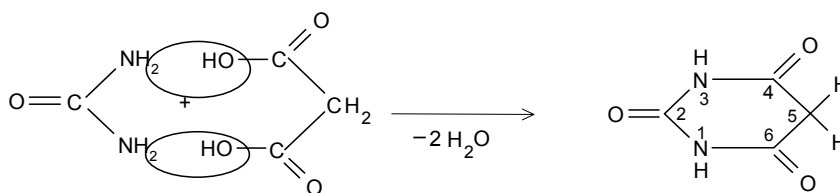
Большинство синтетических лекарственных средств производных пириимидина можно разделить на следующие подгруппы:

1. производные **(1Н,3Н,5Н)пириимидин-2,4,6-триона**, или барбитураты;
2. производные **пириимидин-4,6-диона** (гексамидин);
3. производные **пириимидин-2,4-диона**, или урацила (метилурацил, фторурацил, фторафур, азидотимидин);
4. производные **пириимидин-2-она**, или цитозина (цитарабин).

1. ПРОИЗВОДНЫЕ ПИРИИМИДИН-2,4,6-ТРИОНА

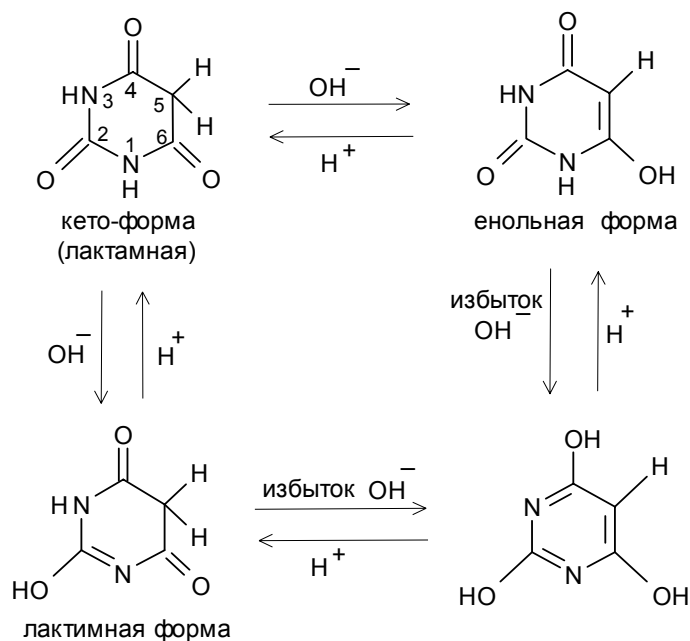
По фармакологическому эффекту барбитураты разделяются на **снотворные** (барбитал, барбитал-натрий, фенобарбитал); **наркозные** (гексенал, тиопентал-натрий); **противосудорожные** (бензонал, фенобарбитал).

В основе структуры данных лекарственных средств лежит барбитуровая кислота, являющаяся продуктом конденсации мочевины и малоновой кислоты:



барбитуровая кислота;
(1Н,3Н,5Н)пириимидин-
2,4,6-трион

Барбитуровая кислота является циклическим уреидом, для которого возможны два типа изомерии: 1) кето - енольная и 2) лактим – лактамная:

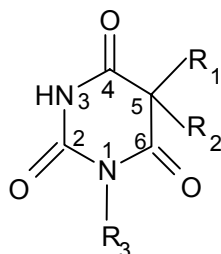


Лекарственные средства, производные кислоты барбитуровой, представляют собой ее 5,5- дизамещенные, способные к лактим - лактамной таутомерии. Эта способность позволяет иметь два типа лекарственных веществ данной группы:

- 1) в кислотной форме (лактаманной) и
- 2) в солевой форме (лактимной, водорастворимой).

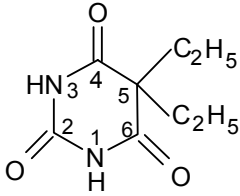
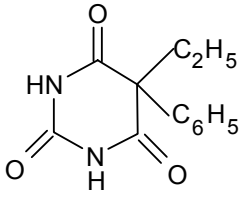
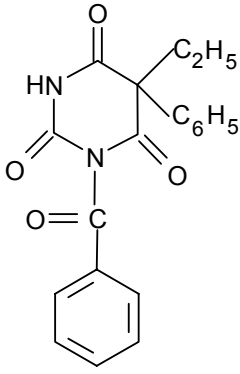
Производные лактамной формы барбитуровой кислоты

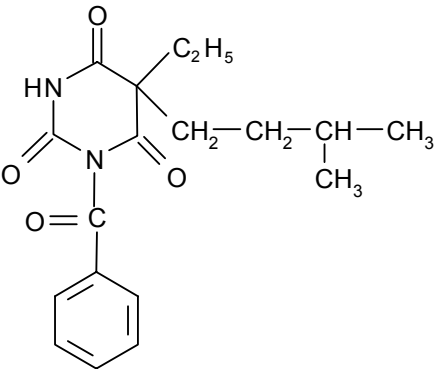
Лекарственные вещества, относящиеся к этой подгруппе имеют общую формулу:



Общие свойства лекарственных веществ лактамной формы кислоты барбитуровой представлены в таблице 1.

Таблица 1. Производные лактамной формы кислоты барбитуровой

Химическая структура	Описание
	<p>Barbitalum. Барбитал. 5,5-диэтилбарбитуровая кислота или 5,5-диэтил-2,4,6-(1Н,3Н,5Н)пиримидинтрион. Белый кристаллический порошок без запаха, слабо горького вкуса. Мало растворим в воде, растворим в кипящей воде и спирте, легко растворим в растворах щелочей, трудно растворим в эфире и хлороформе. Лекарственная форма: порошки. Снотворное средство.</p>
	<p>Phenobarbitalum. Фенобарбитал. 5-Этил-5-фенилбарбитуровая кислота или 5-этил-5-фенил-2,4,6-(1Н,3Н,5Н)пиримидинтрион. Белый кристаллический порошок без запаха, слабо горького вкуса. Очень мало растворим в холодной воде, трудно растворим в кипящей воде и хлороформе, легко растворим в 95 % спирте и в растворах щелочей, растворим в эфире. Лекарственные формы: порошок, таблетки. Снотворное, противосудорожное.</p>
	<p>Benzonalum. Бензонал. 1-Бензоил-5-этил-5-фенилбарбитуровая кислота Белый кристаллический порошок. Очень мало растворим в воде, легко растворим в хлороформе, растворим в эфире, трудно растворим в спирте. Лекарственные формы: порошок, таблетки. Противоэпилептическое средство.</p>

	<p>Benzobamilum. Бензобамил. 1-Бензоил-5-этил-5-изоамилбарбитуровая кислота. Белый кристаллический порошок. Практически нерастворим в воде, легко растворим в спирте. Лекарственная форма: таблетки. Противоэпилептическое средство.</p>
---	---

Препараты лактимной (водорастворимой) формы барбитуратов отвечают общей формуле:

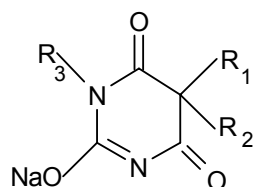
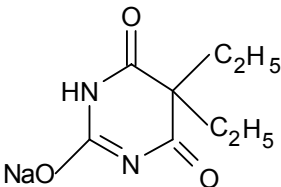
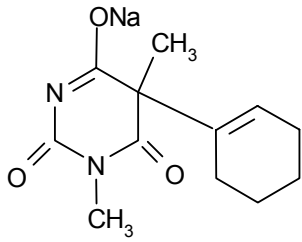


Таблица 2. Общие свойства лекарственных веществ лактимной формы барбитуратов

Химическая структура	Описание
	<p>Barbitalum-natrium. Барбитал-натрий. 5,5-Диэтилбарбитурат натрия или 5,5-диэтил-2,4,6(1Н,3Н,5Н)пиримидинтриона моносодиевая соль. Белый кристаллический порошок без запаха, горького вкуса. Водный раствор имеет щелочную реакцию по фенолфталеину. Легко растворим в воде, мало растворим в 95 % спирте, практически нерастворим в эфире. Лекарственные формы: порошок, таблетки Снотворное средство.</p>



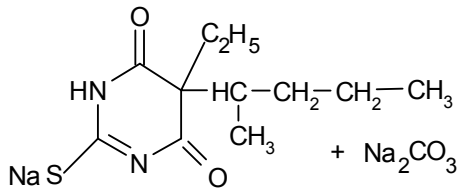
Hexenalum. Гексенал.

1,5-Диметил-5-(циклогексен-1-ил)-барбитурат натрия или

1,5-Диметил-5-(циклогексен-1-ил)-2,4,6 (1Н,3Н,5Н)пиримидинтриона мононатриевая соль.

Белая пенообразная масса. На воздухе под влиянием углекислоты разлагается. Гигроскопичен. Очень легко растворим в воде и 95 % спирте, практически нерастворим в эфире и хлороформе.

Лекарственная форма: порошок в герметически закрытых флаконах. Средство для внутривенного наркоза.



Thiopentalum-natrium. Тиопентал-натрий.

Смесь натриевой соли 5-этил-5-(1-метил-бутил)-2-тиобарбитуровой кислоты с безводным карбонатом натрия.

Сухая пористая масса желтоватого или желтовато-зеленого цвета со своеобразным запахом. Гигроскопичен. Водный раствор имеет щелочную реакцию.

Легко растворим в воде, практически нерастворим в бензоле и эфире. Лекарственная форма: порошок в герметически закрытых флаконах. Средство для внутривенного наркоза.

Физико-химические свойства

Барбитал, барбитал-натрий, фенобарбитал и бензонал – белые кристаллические порошки; гексенал – белая пенообразная масса; тиопентал-натрий – пенообразная масса или порошок желтого или зеленоватого цвета.

Препараты кислотной (лактамной) формы очень мало или практически не растворимы в воде; растворимы в спирте, эфире, хлороформе; легко растворимы в разбавленных растворах щелочей и карбонатов.

Лекарства солевой (лактимной) формы легко растворимы в воде.

Препараты кислотной формы имеют четкую температуру плавления.

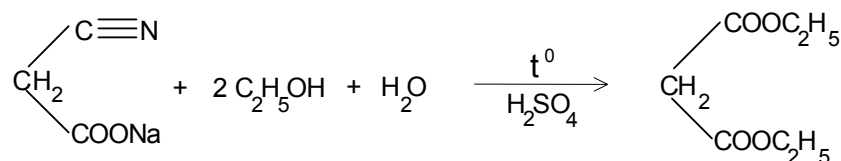
Все барбитураты имеют характерные спектры поглощения в УФ- и ИК- областях.

Общая схема синтеза

Синтез барбитуратов включает несколько стадий.

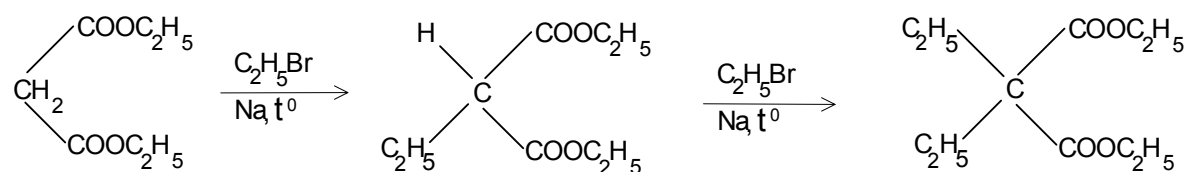
1. Получение диэтилового эфира малоновой кислоты.

Так как малоновая кислота легко декарбоксилируется, на первой стадии получают ее диэтиловый эфир из натриевой соли циануксусной кислоты при действии на нее этиловым спиртом в кислой среде:



2. Введение соответствующих заместителей в метиленовую группу.

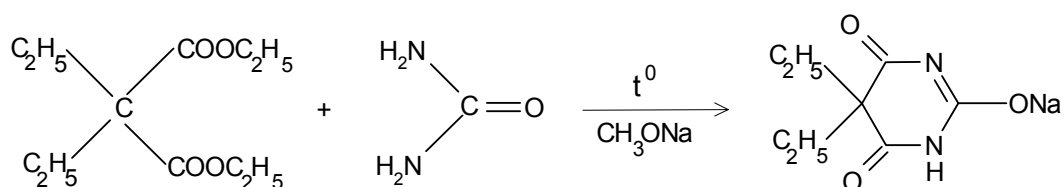
Существует несколько способов получения замещенных малоновой кислоты. По одному из них соответствующие алкил- (или арил-) бромиды нагревают с полученным на первой стадии диэтиловым эфиром малоновой кислоты в присутствии натрия. Так, для получения барбитала действуют этилбромидом:



Образующаяся на этой стадии часть моноэтилзамещенной малоновой кислоты может далее конденсироваться с мочевиной с образованием моно-

этилбарбитуровой кислоты, наличие которой проверяется в барбитале в соответствии с требованиями НД.

3. Конденсация с мочевиной:



Реакция проводится в присутствии метилата натрия, поэтому препарат может содержать в качестве примеси метиловый спирт.

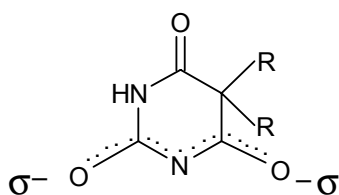
Далее на натриевую соль барбитала действуют разбавленной кислотой серной, переводя его в кислотную форму.

При получении солевой формы препарата на барбитал действуют разбавленным раствором натрия гидроксида. Поэтому в барбитале-натрии и других препаратах лактимной формы определяют в качестве примеси свободную щелочь.

Химические свойства и характерные типы реакций

Кислотные свойства

Вследствие лактам-лактимной таутомерии барбитураты являются слабыми кислотами или солями слабых кислот. При образовании солевой формы отрицательный заряд делокализуется с образованием амбидентного иона, так как образующаяся система более выгодна энергетически:



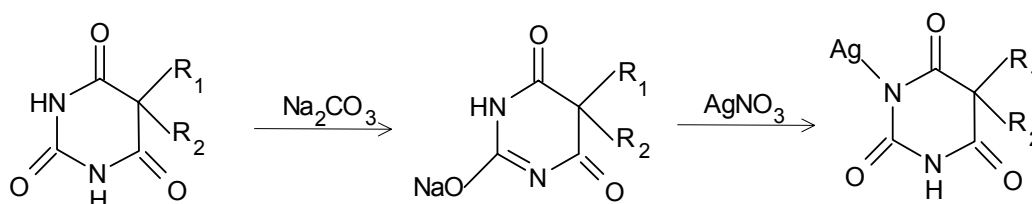
Присоединение катиона металла может происходить как к атому кислорода, так и к атому азота. В соответствии с теорией Пирсона жесткие кислоты (Na^+ , K^+ , Mg^{2+}), являющиеся акцепторами пары электронов, соединяются с жесткими основаниями (OH^- , RO^-), а мягкие кислоты (Ag^+ , Cu^{2+} , Hg^{2+}), являющиеся донорами пары электронов, — с мягкими основаниями (атом азота в пиридине или в аминогруппе). Поэтому натриевые соли барбитуратов следует писать связанными через атом кислорода, а в солях серебра или меди атомы металла связаны с атомом азота.

Барбитураты, обладая свойствами NH - кислот, вступают в реакции комплексообразования с солями тяжелых металлов (Co^{2+} , Cu^{2+} , Ag^{2+}).

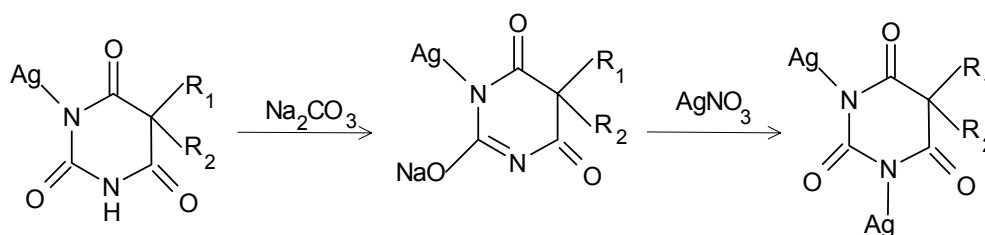
акцию с солями кобальта ГФ использует для установления подлинности всех барбитуратов, кроме тиопентала-натрия. Испытание проводят в спиртовой среде (для предотвращения гидролиза комплексной соли) с добавлением хлорида кальция, способствующего образованию более устойчивого комплекса. Препараты лактамной (кислотной) формы предварительно переводят в лактимную (солевую) форму добавлением эквивалентного количества (без избытка!) 0,1 М раствора натрия гидроксида. Данная реакция является общегрупповой, так как все барбитураты образуют одинаково окрашенные в сине - фиолетовый цвет комплексные соли.

Взаимодействие барбитуратов с сульфатом меди приводит к различным окрашенным комплексным соединениям, что делает испытание более специфичным. ГФ регламентирует комплексообразование с сульфатом меди для определения подлинности всех лекарственных препаратов группы барбитуратов. Успешное проведение реакций (также, как при получении комплексов с солями кобальта) зависит от тщательного соблюдения условий конкретных методик.

С солями серебра барбитураты образуют нерастворимые соли белого цвета. Барбитал, барбитал-натрий, фенобарбитал реагируют с нитратом серебра в две стадии: 1) образование монозамещенной серебряной соли, растворимой в избытке карбоната натрия и 2) получение нерастворимой дивалентной соли при добавлении избытка реактива:



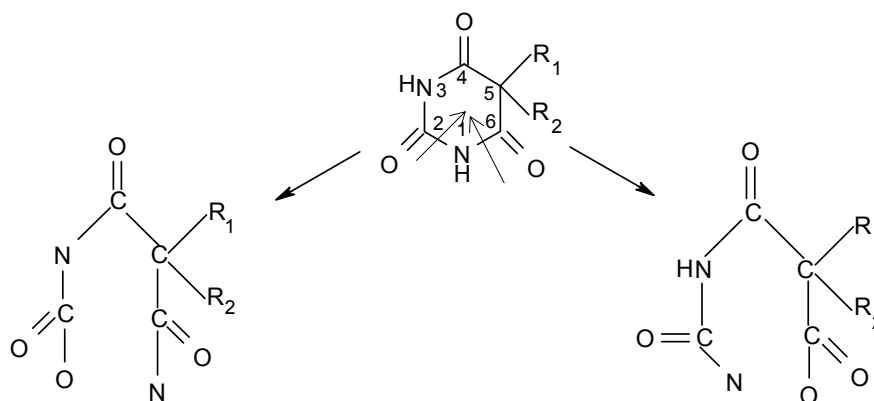
Постепенное прибавление по каплям раствора нитрата серебра приводит к помутнению, исчезающему при встряхивании. Дальнейшее добавление реактива приводит к образованию белого осадка дивалентной соли:



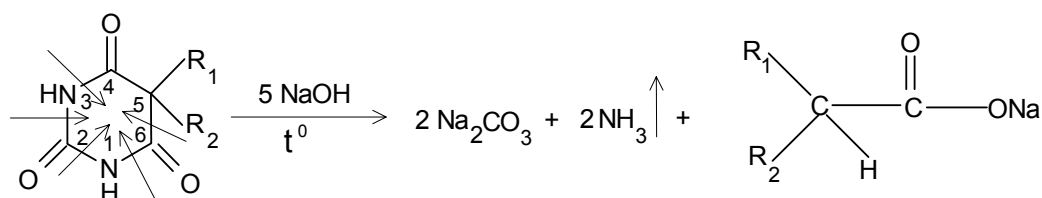
Бензонал и гексенал образуют монозамещенные нерастворимые серебряные соли белого цвета.

Гидролитическое расщепление

Общим свойством барбитуратов, как циклических уреидов, является также их способность к гидролитическому расщеплению в различных условиях. Так, в относительно мягких условиях (например, при длительном хранении в присутствии влаги и повышенной температуре), возможен разрыв амидных связей в положениях 1-2 и 1-6 с образованием уровых кислот:



В жестких условиях, например, при сплавлении барбитурата с кристаллической щелочью, происходит более полная деструкция молекулы:

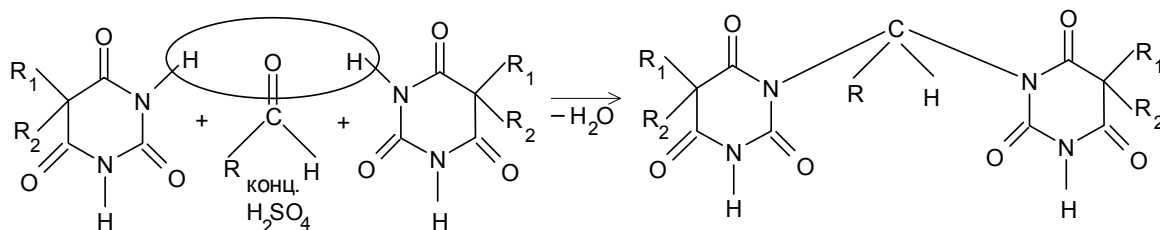


натриевая соль дизамещенной уксусной кислоты

Добавление к продуктам реакции избытка соляной кислоты приводит к образованию углекислого газа и дизамещенной уксусной кислоты, обладающей характерным запахом.

Конденсация с ароматическими альдегидами

Барбитураты способны также к конденсации с альдегидами в присутствии концентрированной серной кислоты как водоотнимающего и окислительного реагента. При выборе соответствующего альдегида и условий можно получить специфически окрашенные продукты, позволяющие идентифицировать отдельные лекарственные вещества:

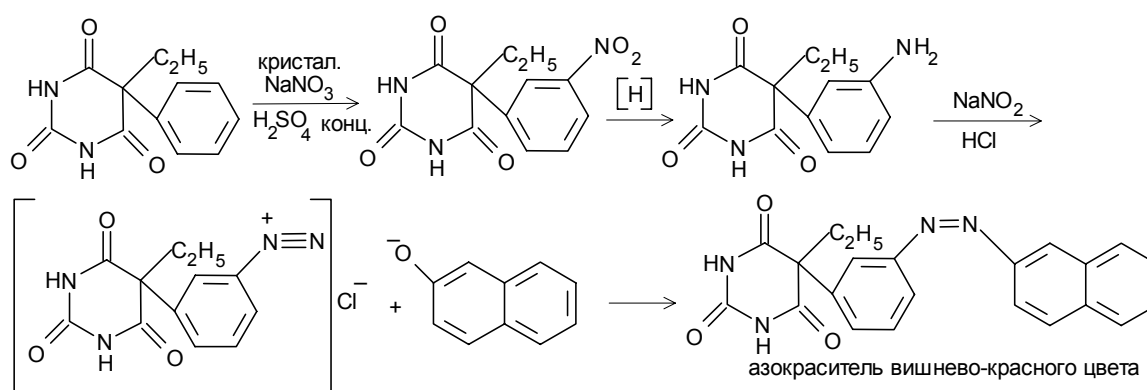


Фенобарбитал с формальдегидом образует продукт розового цвета, а барбитал – желтого. В качестве реагента используют также различные ароматические альдегиды, например, *пара*-диметиламинобензальдегид.

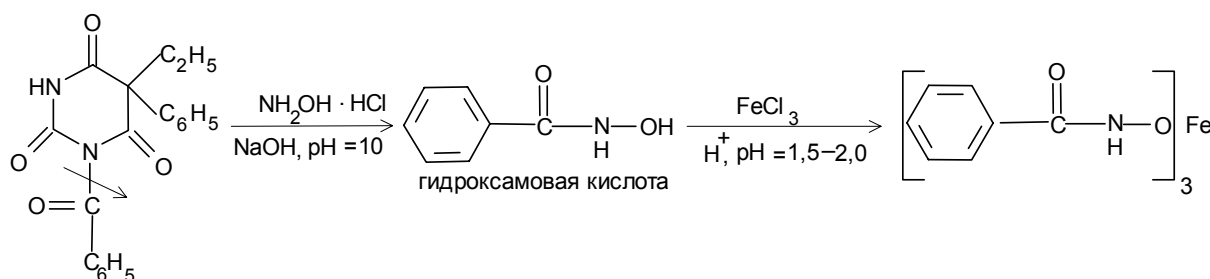
Частные реакции

Частные реакции обусловлены особенностями химического строения отдельных лекарственных веществ группы барбитуратов, главным образом, наличием заместителей в положениях 1 и 5.

Фенобарбитал имеет в положении 5 фенильный радикал, по которому возможны реакции S_E , например, нитрование с последующим восстановлением нитрогруппы, диазотированием и азосочетанием:

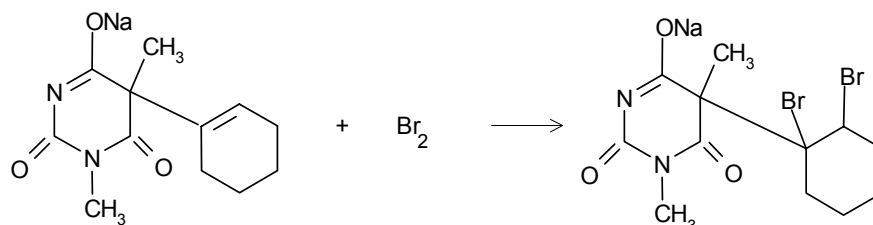


Фрагмент бензойной кислоты в бензонале открывают после гидролиза взаимодействием с солями трехвалентного железа (появляется осадок оранжево-желтого цвета). По амидной группе препарат вступает в реакцию гидроксамовой пробы:



Гидроксаматы железа представляют собой растворы красно-фиолетового цвета, а гидроксаматы Cu^{2+} – осадки бирюзового цвета.

Гексенал, имеющий в молекуле фрагмент циклогексена, способен к реакциям присоединения и, поэтому, обесцвечивает бромную воду:



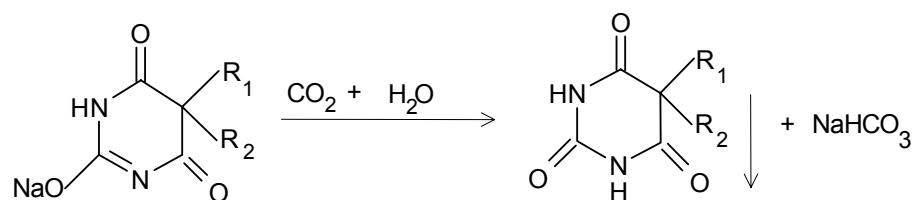
В **тиопентале-натрии** атом сульфидной серы можно обнаружить по черному осадку, образуемому при взаимодействии препарата с солями тяжелых металлов.

У препаратов лактимной (солевой) формы определяют ионы натрия и температуру плавления кислотных форм после осаждения последних раствором соляной кислоты.

Контроль чистоты

Испытания на чистоту препаратов группы барбитуратов обусловлены их химическими свойствами и способами синтеза. Определение прозрачности проводят как для солевых, так и для кислотных форм барбитуратов. При испытании прозрачности кислотных форм используют их растворимость в карбонате натрия. Некоторые полупродукты синтеза и сопутствующие вещества не растворяются в карбонатах.

Изменение этого показателя для солевых форм обусловлено их возможным взаимодействием с оксидом углерода (IV) и влагой воздуха с образованием при этом нерастворимой кислотной формы:



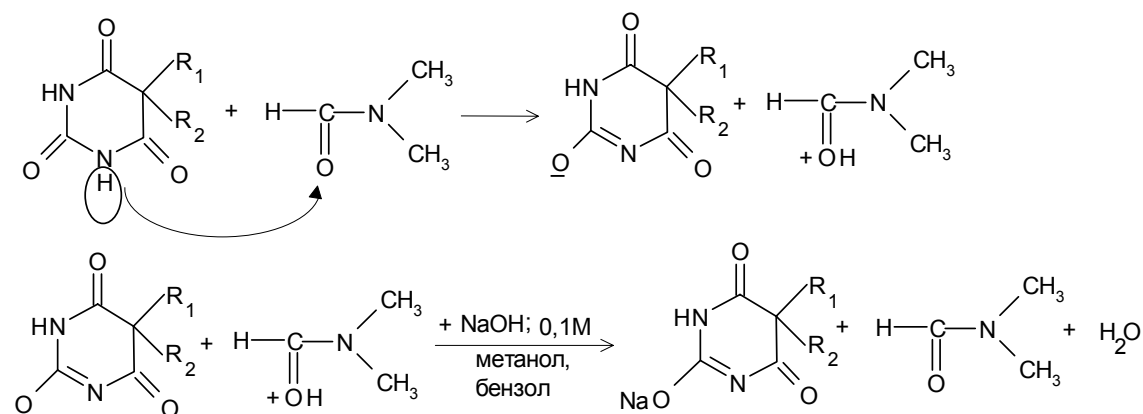
У барбитала и фенобарбитала проверяют наличие моноалкилзамещенных производных барбитуровой кислоты (соответственно, этилбарбитуровой и фенилбарбитуровой). При наличии этих примесей, обладающих более выраженными кислотными свойствами, чем лекарственные вещества группы барбитуратов, изменяются значения pH.

Возможную (допустимую до регламентированного ГФ) примесь свободной щелочи определяют титрованием в определенных условиях у препаратов солевой формы.

В гесенале и тиопентал-натрии определяют допустимую до определенного предела примесь метанола. Метанол попадает в препарат при синтезе на стадии конденсации мочевины с дизамещенной малоновой кислотой, где в качестве катализатора используют метилат натрия. При определении примеси метанол окисляют перманганатом калия до формальдегида, который далее конденсируют с кислотой хромотроповой. Интенсивность окраски образовавшегося продукта сравнивают с окраской эталонного раствора.

Методы количественного определения

Препараты лактамной (кислотной) формы количественно определяют методом кислотно-основного титрования. В качестве протопфильного растворителя используют диметилформамид. Титрант – 0,1 М раствор натрия гидроксида в смеси метанола и бензола; индикатор – тимоловый синий:



По методике ФС на фенобарбитал лекарственное вещество растворяют в ацетоне или спирте, прибавляют необходимое количество воды и титруют 0,1М раствором натрия гидроксида в присутствии индикатора тимолфталеина. Применение данной методики показывает, что фенобарбитал обладает достаточно выраженными кислотными свойствами и может достоверно количественно определяться и в водной среде. Ацетон (или спирт) препятствуют гидролизу образующейся при титровании соли.

Препараты солевой формы количественно определяют ацидиметрически. Навеску препарата растворяют в свежeproкипяченной воде (для удаления следов углекислоты) и титруют 0,1 М раствором хлороводородной кислоты в присутствии индикатора метилового оранжевого до розового окрашивания. При наличии в препарате свободной щелочи (опреде-

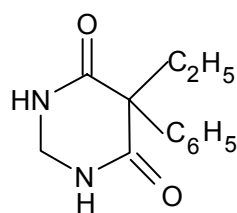
ляемой при испытании на чистоту) из найденного процентного содержания вычитают процентное содержание свободной щелочи, умноженное на соответствующий для каждого препарата коэффициент.

Другими методами количественного определения барбитуратов являются аргентометрия (в прямом и обратном вариантах), гравиметрия. Гексенал можно определить количественно броматометрически по фрагменту циклогексена.

Для количественного определения индивидуальных препаратов группы барбитуратов и, особенно, для их лекарственных форм применяют физико-химические методы анализа (ВЭЖХ, спектрофотметрия).

2. ПРОИЗВОДНЫЕ ПИРИМИДИН-4,6-ДИОНА

К данной группе лекарственных веществ относится препарат “Гексамидин (Hexamidinum)”, являющийся 5-этил-5-фенилгексагидропиримидиндионом-4,6:



гексамидин

По химической структуре гексамидин близок к фенобарбиталу, но не является барбитуратом, так как в его молекуле отсутствует фрагмент мочевины. Модификация молекулы привела к созданию препарата с выраженным противосудорожным действием и меньшим, по сравнению с фенобарбиталом, снотворным эффектом. Лекарственная форма – таблетки.

Физико-химические свойства

По внешнему виду гексамидин представляет собой белый кристаллический порошок без запаха. Практически не растворим в воде, эфире и бензоле, мало растворим в спирте и ацетоне.

Химические свойства и реакции подлинности

Обладая амидными группами, гексамидин проявляет *кислотные свойства*. Однако выражены они слабее, чем у фенобарбитала, являющегося имидом. Гексамидин растворяется в щелочах, но образующиеся соли

неустойчивы. Из-за слабо выраженных кислотных свойств препарат не образует характерных комплексных соединений с солями тяжелых металлов.

Гидролитическое расщепление

Как и другие амиды гексамидин подвержен гидролитическому расщеплению, которому способствуют повышение температуры и щелочная среда. По ГФ Х испытание подлинности проводят при нагревании порошка препарата с кристаллическим гидроксидом натрия. Выделяющийся при реакции аммиак окрашивает влажную лакмусовую бумагу в синий цвет.

Другим продуктом гидролиза является формальдегид, образующийся из метиленовой группы. При нагревании навески порошка препарата с раствором динатриевой соли хромотроповой кислоты в присутствии серной кислоты появляется сиреневое окрашивание. Аналогично выделяют формальдегид при гидролизе гексаметилентетрамин, стрептоцид растворимый, дихлотиазид.

Количественное определение

Так как кислотные свойства гексамидина выражены в значительно меньшей степени, чем у фенобарбитала, применение кислотно-основного титрования для количественного определения препарата некорректно. Поэтому гексамидин количественно определяют по содержанию азота методом Кьельдаля.

3. ПРОИЗВОДНЫЕ ПИРИМИДИН-2,4-ДИОНА (УРАЦИЛА)

Урацил и его гомолог тимин являются нуклеиновыми основаниями, входящими в состав нуклеиновых кислот в виде нуклеозидов и нуклеотидов. На основе урацила и тимина путем модификации их структуры синтезирован ряд лекарственных веществ, являющихся метаболитами (метилурацил) и антиметаболитами (фторурацил, фторафур, цитарабин) нуклеиновых оснований. Препараты-антиметаболиты ингибируют синтез ДНК и применяются как противоопухолевые средства.

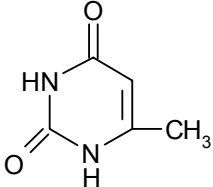
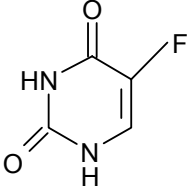
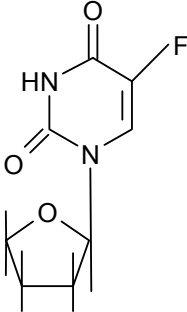
Физико-химические свойства

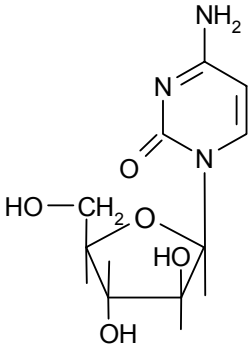
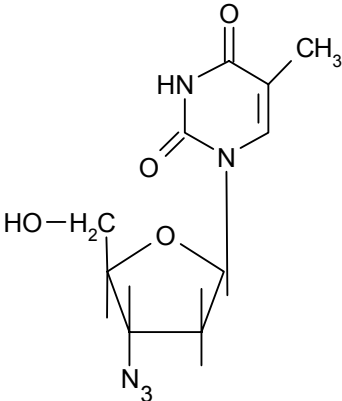
Метилурацил, фторафур, цитарабин и азидотимидин – белые порошки; для фторурацила допускается желтоватый оттенок.

В лактамной (кислотной) форме препараты мало растворимы в воде, а в виде натриевых солей – легко растворимы.

Все указанные препараты имеют четкие интервалы температуры плавления (в лактамной форме), характерные ИК- и УФ- спектры поглощения.

Таблица 3. Производные пириимидин-2,4-диона

Химическая структура	Описание
	<p>Methyluracilum. Метилурацил 2,4-Диоксо-6-метил-1,2,3,4-тетрагидропириимидин. Белый кристаллический порошок без запаха. Мало растворим в воде. Стимулятор лейкопоэза, ранозаживляющее и противовоспалительное средство. Лекарственная форма: таблетки</p>
	<p>Phthoruracilum. Фторурацил 2,4-Диоксо-5-фторпириимидин или 5-фторурацил Белый или белый с желтоватым оттенком кристаллический порошок. Мало растворим в воде, очень мало – в спирте. Противоопухолевое средство.</p>
	<p>Phthorafurum. Фторафур N' - (2-фуранидил)-5-фторурацил Белый кристаллический порошок без запаха. Трудно растворим в воде и спирте. Натриевая соль растворима в воде. Лекарственные формы: капсулы и раствор для инъекций. Противоопухолевое средство.</p>

	<p>Cytarabinum. Цитарбин. 4-Амино-1-(β-D-арабинофуранозил)-1,2-дигидропиримидин. Белый кристаллический порошок без запаха. Растворим в воде, практически нерастворим в спирте и хлороформе. Лекарственная форма: лиофилизированный порошок во флаконах. Противоопухолевое средство.</p>
	<p>Azidothymidinum. Азидотимидин. (Ретровир, Зидовудин, Тимазид) 3'- Азидотимидин. Белый кристаллический порошок без запаха. Растворим в воде, нерастворим в спирте и хлороформе. Лекарственные формы: капсулы, раствор для инфузий, сироп. Средство для лечения ВИЧ, СПИДа.</p>

Кислотно-основные свойства

Как и другие имиды, лекарственные вещества группы пиримидин-2,4-диона являются NH- кислотами. В кислотной форме указанные препараты применяют в пероральных лекарственных формах, а в солевой – в растворах для инъекций и инфузиях.

Подобно другим NH- кислотам (например, барбитуратам) лекарственные вещества группы урацила взаимодействуют с солями Cu^{2+} и Co^{2+} с образованием окрашенных осадков, а с солями Ag^+ – белые.

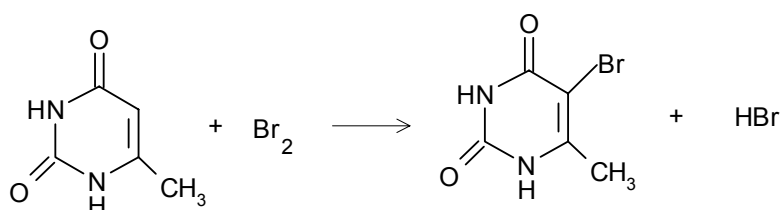
Однако, по силе кислотных свойств препараты группы урацила уступают угольной. Поэтому соприкосновение растворов натриевых солей препаратов группы урацила с оксидом углерода (IV) может привести к образованию нерастворимых кислотных форм и, следовательно, к нарушению прозрачности растворов.

Реакции гидролитического расщепления

Как и барбитураты, препараты группы урацила подвержены разложению с разрывом амидных связей. Процесс ускоряется при повышении температуры и в присутствии щелочей. Нагревание препаратов с концентрированным раствором натрия гидроксида, в результате чего образуется аммиак, обнаруживаемый по посинению влажной лакмусовой бумаги, можно использовать для определения подлинности и количественного определения указанной группы препаратов методом Кьельдаля.

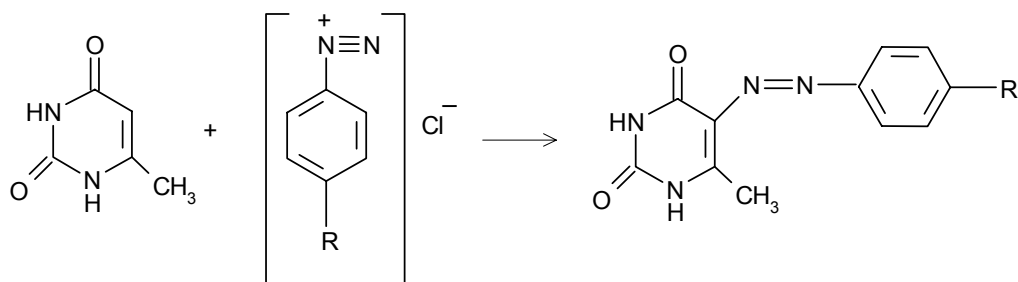
Реакции электрофильного замещения

Препараты группы урацила взаимодействуют с бромом с образованием соответствующих бромпроизводных. Реакцию применяют для определения подлинности индивидуального метилурацила в порошке и в мази.



Данную реакцию можно использовать и для количественного броматометрического количественного определения метилурацила и других препаратов группы урацила.

К S_E реакциям относится и образование азокрасителей с солями диазония:

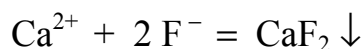


Данной реакцией определяют подлинность метилурацила в мази.

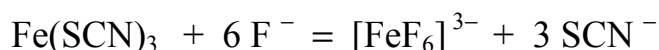
Частные реакции

У фторурацила и фторафура подтверждают наличие связанного фтора после минерализации. При сухой минерализации навеску препарата прока-

ливают со смесью для спекания, содержащую карбонат натрия и нитрат калия (1:1), остаток растворяют в воде и добавляют раствор хлорида кальция. Выпадает белый осадок кальция фторида:



После сжигания в атмосфере кислорода фторид- ионы, поглощенные раствором пероксида водорода, обесцвечивают красного цвета раствор железа (III) тиоцианата:



Часто фторид- ионы доказывают с помощью цирконий - ализаринового реактива. При этом красный цвет цирконий - ализаринового комплекса переходит в желтый (ализарин).

Чистота

Примесь урацила и близких по строению веществ определяют с помощью ВЭЖХ и ТСХ.

Примесь свободных фторидов обнаруживают на ион - селективных электродах.

Контролируют также прозрачность и цветность растворов препаратов группы урацила.

Количественное определение

Общими методами количественного определения препаратов группы урацила являются:

1. Кислотно - основное титрование в неводных средах
2. Косвенный метод нейтрализации
3. Аргентометрия
4. Броматометрия
5. Физико-химические методы (спектрофотометрия, фотоэлектроколориметрия, ВЭЖХ и др.).

Тема 16. АНАЛИЗ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ ГРУППЫ ПУРИНА

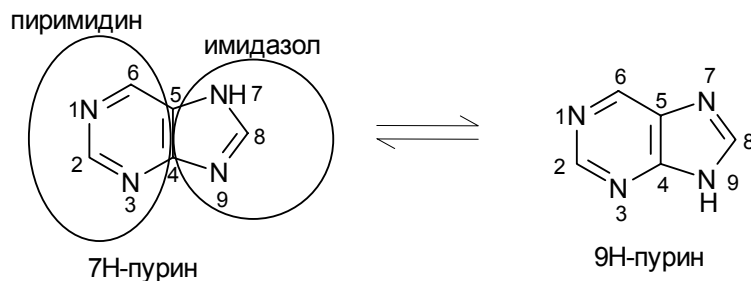
В природе производные пурина имеют большое биологическое значение. Соединения группы пурина содержатся в растениях и в тканях животных в свободном виде, а также входят в состав нуклеозидов, нуклеотидов и нуклеиновых кислот.

Кофеин содержится в листьях чая (до 5%) и зернах кофе (до 1,5%). Впервые кофеин был выделен и описан Ф. Рунге (1819); строение этого алкалоида было доказано Э. Фишером в 1882 г. В листьях чая содержится также теofilлин, а в бобах какао – теобромин.

Нуклеиновые кислоты присутствуют в клетках всех живых организмов и выполняют важнейшие функции по хранению и передаче генетической информации.

К производным пурина относится большая группа лекарственных веществ, обладающих различной фармакологической активностью, например, бронхолитической, диуретической, кардиотонической, противоопухолевой, действием на ЦНС.

В основе химической структуры указанных лекарств лежит бициклическая система пурина, существующая в виде двух изомеров:



Классификация

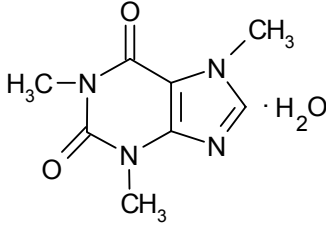
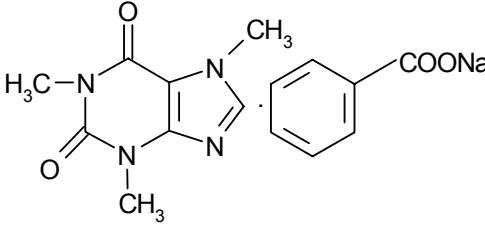
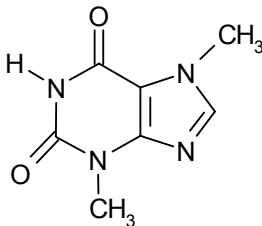
Лекарственные средства производные пурина по химическому строению разделяются на следующие группы:

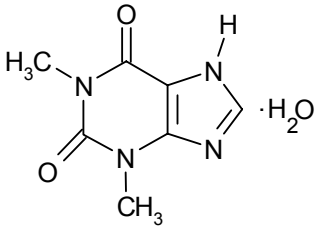
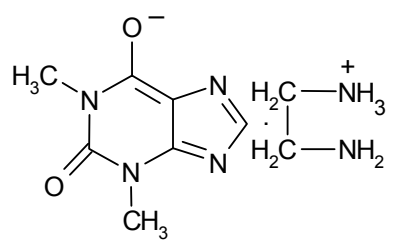
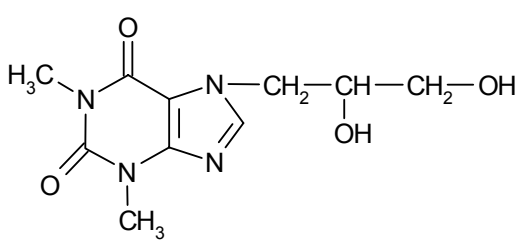
1. **Производные ксантина** (кофеин, кофеин-бензоат натрия, теобромин, теofilлин, эуфиллин, дипрофиллин, ксантинола никотинат)
2. **Нуклеозиды и нуклеотиды пурина** (рибоксин, АТФ, динатриевая соль аденозинтрифосфорной кислоты)
3. **Синтетические производные пурина и близкие по строению** (меркаптопурин, азатиоприн, аллопуринол, этимизол).

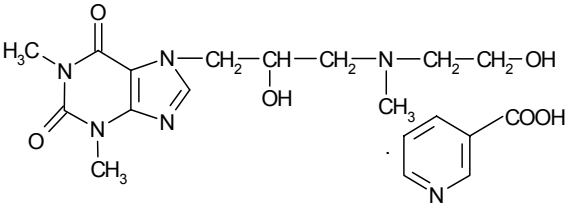
Свойства лекарственных средств группы пурина представлены в таблице 1.

Таблица 1. Свойства лекарственных веществ группы пурина

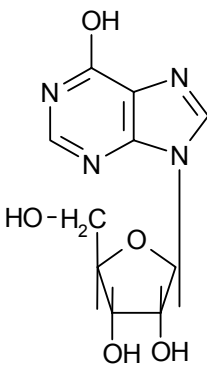
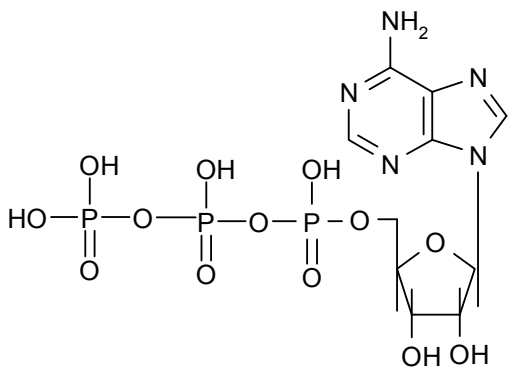
Производные ксантина (7 Н - пурина)

Химическая структура	Описание
	<p>Coffeinum. Кофеин. 1,3,7-триметилксантин. Белые шелковистые игольчатые кристаллы или белый кристаллический порошок без запаха. На воздухе выветривается, при нагревании возгоняется. Медленно растворим в воде (1:60), легко растворим в горячей воде и хлороформе, трудно растворим в спирте. Стимулятор ЦНС.</p>
	<p>Coffeinum-natrii benzoas. Кофеин-бензоат натрия. Комплексная соль кофеина с бензоатом натрия с содержанием 40% кофеина. Белый порошок без запаха. Легко растворим в воде, трудно растворим в спирте. Лекарственные формы: таблетки, растворы для инъекций.</p>
	<p>Theobrominum. Теобромин. 3,7-диметилксантин. Белый кристаллический порошок без запаха. Очень мало растворим в воде, мало растворим в спирте, эфире, хлороформе, легко растворим в разведенных щелочах и кислотах. Лекарственная форма: таблетки. Спазмолитик и диуретик.</p>

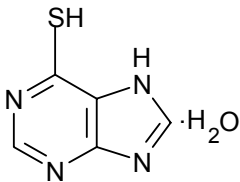
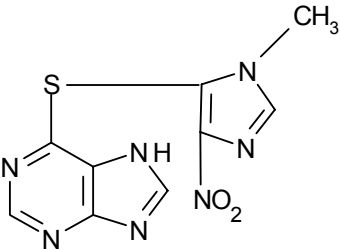
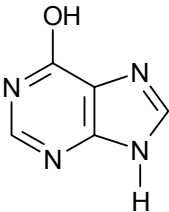
	<p>Theophyllinum. Теофиллин. 1,3-диметилксантин. Белый кристаллический порошок без запаха. Мало растворим в воде, спирте, эфире и хлороформе. Легко растворим в горячей воде и горячем спирте, растворим в растворах кислот и щелочей. Лекарственные формы: порошок, суппозитории. Спазмолитик и диуретик.</p>
	<p>Euphyllinum. Эуфиллин. Соль теофиллина с этилендиаминном. Белый или белый с желтоватым оттенком кристаллический порошок со слабым аммиачным запахом. На воздухе поглощает углекислоту, при этом растворимость уменьшается. Лекарственные формы: порошок, таблетки, раствор для инъекций. Спазмолитик и диуретик.</p>
	<p>Diprophyllinum. Дипрофиллин. 7-(2,3-диоксипропил)-теофиллин. Белый мелкокристаллический порошок. Медленно растворим в воде (1:10), растворим при кипячении в спирте, практически нерастворим в ацетоне, хлороформе. Лекарственные формы: таблетки, раствор для инъекций, суппозитории. Спазмолитик.</p>

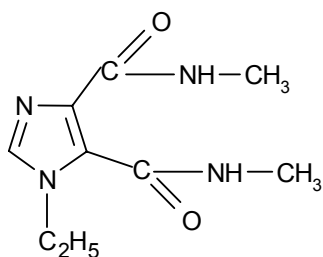
	<p>Xanthinoli nicotinas. Ксантинола никотинат</p> <p>7-[2-Окси-3-(N-метил-β-оксиэтиламино)-пропил]-теофиллина никотинат.</p> <p>Белый кристаллический порошок, легко растворим в воде, мало – в спирте.</p> <p>Лекарственные формы: драже, раствор для инъекций.</p> <p>Улучшает периферическое и церебральное кровообращение.</p>
---	---

Нуклеозиды и нуклеотиды пурина (9 Н - пурина)

Химическая структура	Описание
	<p>Riboxinum. Рибоксин.</p> <p>9-β-D-рибофуранозилгипоксантин.</p> <p>Белый или белый со слабым желтоватым оттенком кристаллический порошок, без запаха. Медленно и трудно растворим в воде, очень мало растворим в спирте.</p> <p>Лекарственные формы: таблетки покрытые оболочкой, растворы для инъекций.</p> <p>Метаболит.</p>
	<p>Acidum adenosintriphosphoricum. Кислота аденозинтрифосфорная.</p> <p>Аденозин-5'-трифосфорная кислота.</p> <p>Белый кристаллический гигроскопический порошок. Применяется для приготовления натрия аденозинтрифосфата 1% для инъекций.</p> <p>Метаболит.</p>

Синтетические производные пурина и близкие по строению

Химическая структура	Описание
	<p>Mercaptopurinum. Меркаптопурин. 6-Меркаптопурин. Желтый кристаллический порошок. Практически нерастворим в воде и спирте, растворим в горячей в воде, в растворах щелочей. Лекарственная форма: таблетки. Антилейкемическое средство. Список А.</p>
	<p>Azathioprinum. Азатиоприн. 6-(1-Метил-4-нитроимидазол-5)-меркаптопурин. Светло-желтый с зеленоватым оттенком кристаллический порошок. Практически нерастворим в воде и спирте, легко растворим в растворах щелочей. Лекарственная форма: таблетки. Иммунодепрессант. Список А.</p>
	<p>Allopurinolum. Аллопуринол. 4-Оксипиразоло[3,4-d]пиримидин или 8-Азагипоксантин. Белый или белый с кремоватым оттенком мелкокристаллический порошок. Практически нерастворим в воде и спирте. Лекарственная форма: таблетки. Средство для лечения гиперурикемических состояний и подагры.</p>



Aethimizolum. Этимизол.

Бис-(метиламид)-1-этилимидазол-4,5-дикарбоновой кислоты.

Белый кристаллический порошок. Мало растворим в воде, растворим в спирте.

Лекарственные формы: таблетки, растворы для инъекций.

Аналептик.

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА И АНАЛИЗ КАЧЕСТВА

Физические свойства

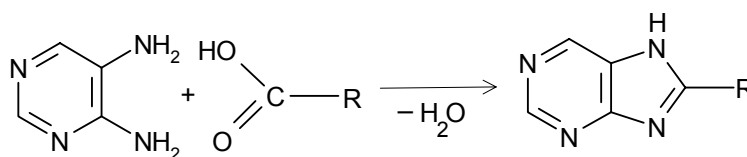
Все соединения группы пурина – кристаллические порошки белого цвета, имеющие характерные температуры плавления и спектры поглощения в УФ- и ИК-областях.

Способы получения

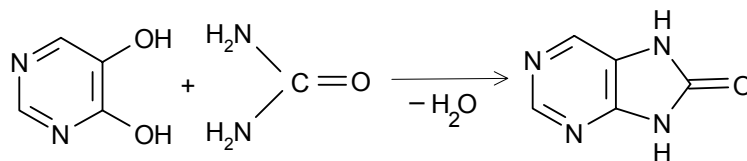
Вещества группы пурина можно получать из природных источников и синтетически. Растительное происхождение имеют пуриновые алкалоиды – кофеин, теofilлин, теобромин.

С конца XIX в успешно развиваются различные методы синтеза пурина и его производных. Впервые пурин был синтезирован Э. Фишером в 1899 г. при восстановлении 2,6,8-трихлорпурина. В настоящее время наибольшее практическое значение имеют четыре способа синтеза пуринов:

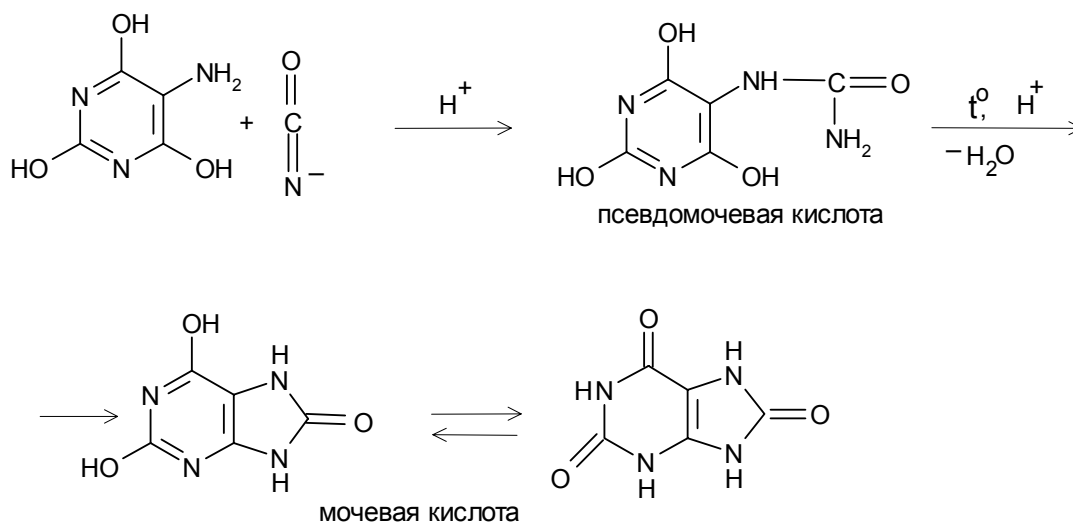
1. Конденсация 4,5-диаминопиримидинов с карбоновыми кислотами (синтез Траубе, 1910 г.). Этот способ в дальнейшем многократно модифицировался и до сих пор не утратил своего значения:



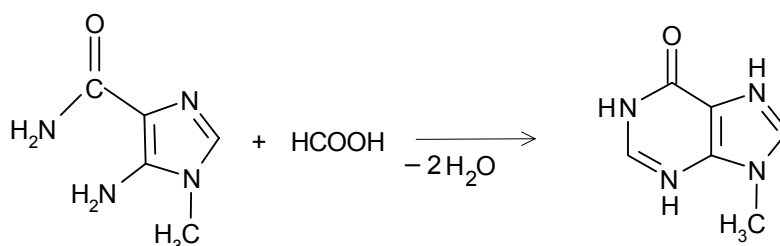
2. Конденсация 4,5-диоксипиримидинов с мочевиной (Беренд, Розен, 1888 г.):



3. Присоединение цианатов или изотиоцианатов к 5-амино-2,4,6-триоксиимидину с последующей циклизацией образующегося карбамида при нагревании в кислой среде (Э. Фишер, Аш, 1895 г.):



4. Конденсация амида 5-амино-1-метилимидазол-4-карбоновой кислоты с муравьиной кислотой:



Кислотно-основные свойства

Пурин – ароматическая система с сильной делокализацией π-электронов, которые играют большую роль в образовании различных молекулярных комплексов. Обладает электронодонорными свойствами и представляет собой растворимое в воде слабое основание (pK_a= 2,4), образующее с кислотами непрочные соли. В то же время, благодаря наличию подвиж-

ного атома водорода в NH-группе, проявляет слабые кислотные свойства ($pK_a = 8,9$) и образует соли с металлами.

Лекарственные вещества группы пурина – слабые основания, образующие с кислотами неустойчивые соли при протонировании гетероатома азота в 9 положении.

Как правило, производные ксантина с трудом растворяются в воде, лучше – в горячей воде. Для получения хорошо растворимых лекарственных препаратов используется их способность к комплексообразованию. Данные о растворимости различных веществ группы пурина представлены в нижеследующей таблице:

Название вещества	Растворимость в воде
пурин	1 : 2
ксантин	1 : 1500
кофеин	1 : 60
теофиллин	1 : 120
теобромин	1 : 300

Хорошая растворимость пурина объясняется тем, что он образует водородные мостики с молекулами воды. Особенно мала растворимость ксантина. При метилировании атомов азота она значительно улучшается, как видно на примере кофеина, теофиллина, теобромина. Отличие в растворимости объясняется их различной межмолекулярной ассоциацией.

У кофеина три гетероатома азота метилированы. Вещество является мономером (не образует ассоциатов через водородные мостики), что объясняет его лучшую растворимость и низкую температуру плавления. Растворимость кофеина увеличивается в горячей воде, а также в присутствии солей органических кислот за счет образования комплексов.

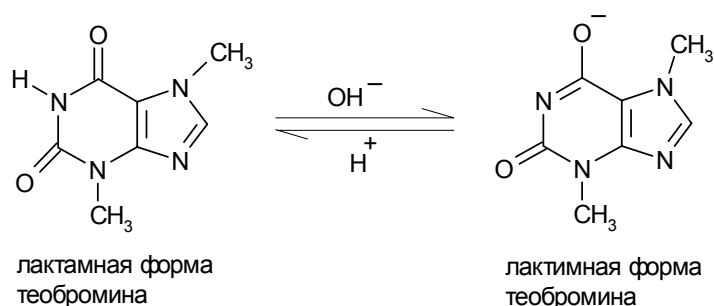
В теофиллине имеется одна свободная, но мало активная NH-группа, способная образовывать слабые межмолекулярные водородные мостики. Как в твердом состоянии, так и в растворе предполагается димеризация. Это обстоятельство подтверждается меньшей, по сравнению с кофеином, растворимостью и более высокой температурой плавления.

Теобромин в твердом состоянии образует еще большие межмолекулярные агрегаты, основанные на активной NH-группе и выгодных в пространственном отношении карбонильных группах. Плохую растворимость и высокую температуру плавления можно также объяснить этой стабильной ассоциацией, что доказано ИК-спектроскопией.

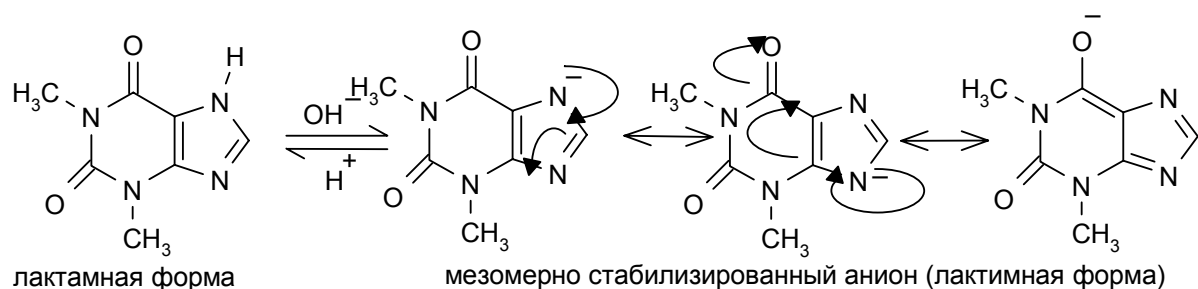
Тенденция ксантинов к “самокомплексообразованию” противостоит их предрасположенности к образованию комплексов с солями органических кислот (бензойной, салициловой, 4-аминобензойной, ацетилсалициловой и др.). В таких комплексах сопряженные карбонильные группы ксантинов являются π -электроноакцепторами, а кислоты и основания – π -электроноакцепторами.

Кофеин – слабое органическое основание ($pK_a = 0,61$). Растворим в минеральных кислотах, но устойчивых солей не образует. Взаимодействует с общеалкалоидными осадительными реактивами. Но с раствором йода реагирует только при подкислении (что характерно для такого слабого основания) с образованием осадка перйодида $Coff \cdot HI \cdot I_4$. С танином кофеин образует осадок, растворимый в избытке реактива. В отличие от многих других оснований, кофеин не осаждается реактивом Майера, что используется при определении чистоты препарата.

Теобромин и теофиллин являются амфотерными соединениями. Их основные свойства обусловлены наличием неподеленной пары электронов атома азота в положении 9. Кислотные свойства теобромина ($pK_a = 9,9$) связаны с подвижностью атома водорода имидной группы, а теофиллина ($pK_a = 8,8$) – подвижностью атома водорода при гетероатоме азота в 7 положении. Кислотные свойства теофиллина выражены сильнее, чем у теобромина. Это связано с тем, что теобромин в растворах щелочей образует только лактимную форму, а теофиллин – мезомерно стабилизированный анион:



Обладающий более выраженными, чем у теобромина, кислотными свойствами теофиллин растворяется не только в щелочах, но и в растворе аммиака:

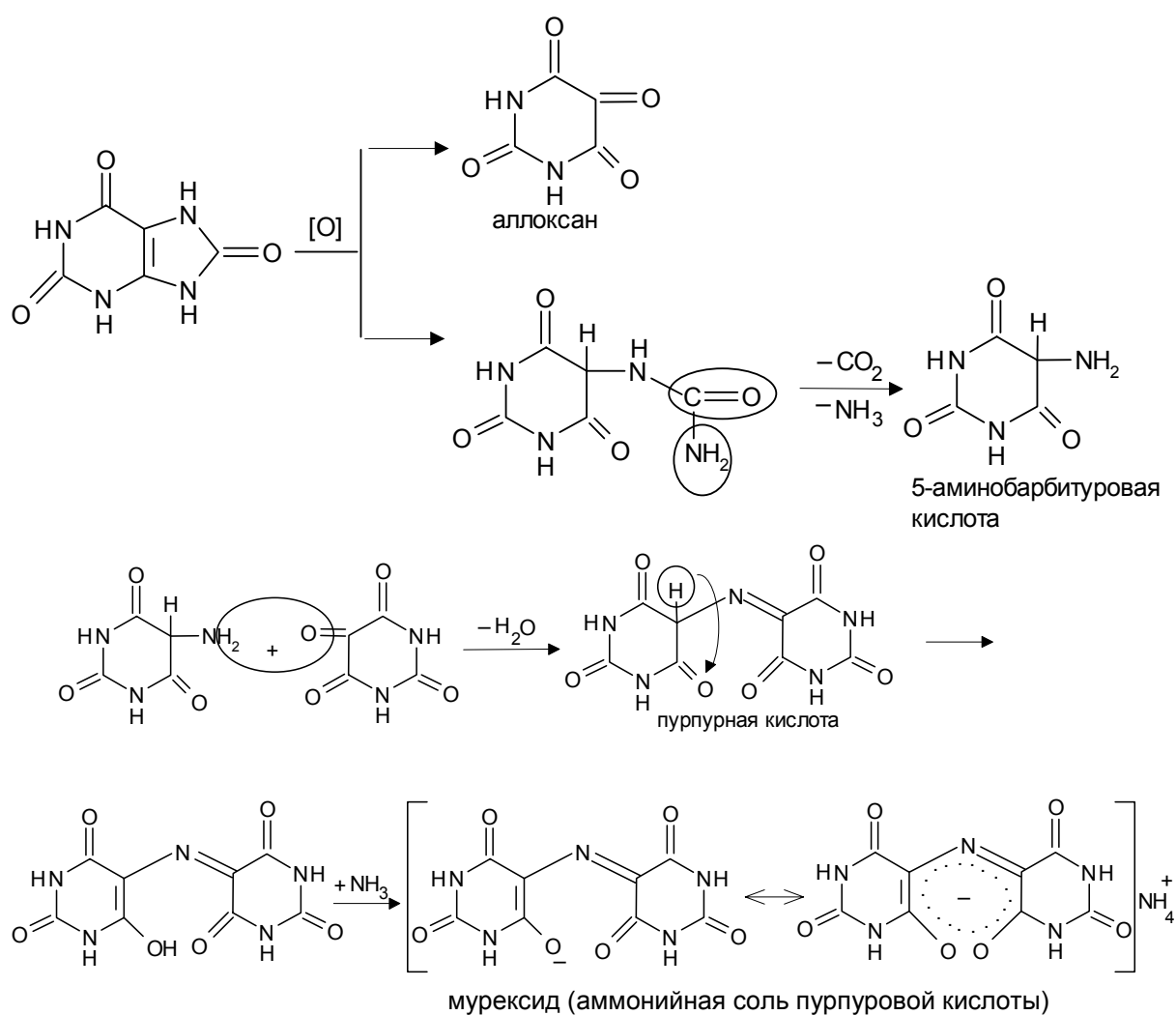


За счет кислотных свойств теofilлин и теобромин образуют растворимые соли не только со щелочами, но и с органическими основаниями. С солями тяжелых металлов (Ag^+ , Co^{2+} , Cu^{2+}) получаются нерастворимые соединения.

Мурексидная проба (общегрупповая реакция)

Реакция основана на окислительно-гидролитическом разложении веществ группы ксантина до производных пиридина, в которых одна или две аминогруппы конденсируются друг с другом до образования пурпурной кислоты, имеющей в виде аммонийной соли красно-фиолетовое окрашивание. Для проведения реакции препарат нагревают на водяной бане до полного упаривания с окислителем (H_2O_2 , Br_2 , HNO_3) в кислой среде. Затем добавляют раствор аммиака; появляется пурпурно-красное окрашивание.

Химизм (на примере мочевиной кислоты):



Для мочевой кислоты нагревание производят с концентрированной азотной кислотой, которая окислительно разлагает вещество до аллоксана и 5-аминобарбитуровой кислоты. Затем продукт окисления (как карбонильное соединение) конденсируется с продуктом гидролиза до пурпурной кислоты, которая в присутствии аммиака переходит в мезостабилизированный анион, называемый мурексидом.

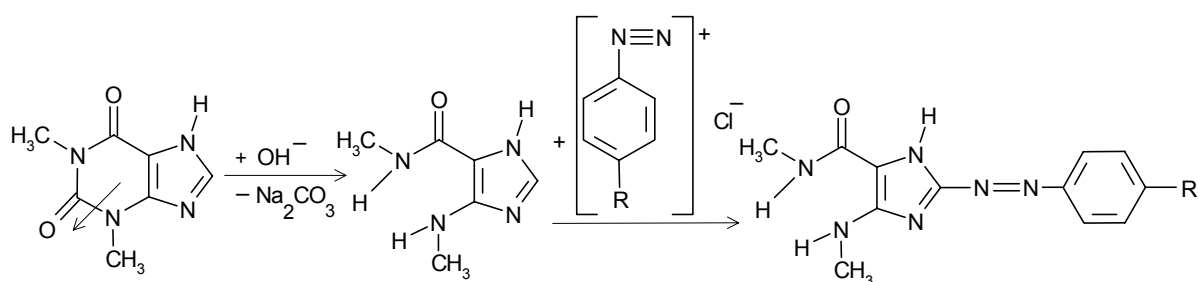
В случае метилированных производных ксантина вместо азотной кислоты следует применять раствор пероксида водорода в солянокислой среде и затем добавлять аммиак. Добавление аммиака не является необходимым, если он образуется при гидролизе препарата.

Реакции электрофильного замещения после щелочного гидролиза

Кофеин, обладающий слабоосновными свойствами, неустойчив в щелочной среде. При значении pH выше 9 происходит разложение кофеина до кофеидин-карбоновой кислоты, которая разлагается с образованием кофеидина и соответствующего карбоната. Причем кофеидин является антагонистом кофеина по фармакологическому действию, что может привести к нежелательным последствиям при применении разложившегося препарата.

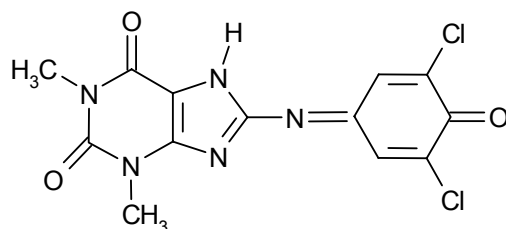


В сернокислой среде кофеин может разложиться до муравьиной кислоты. Аналогично разлагается теофиллин до теофиллидина, который далее может быть идентифицирован по реакции азосочетания с солью диазония с образованием азокрасителя:

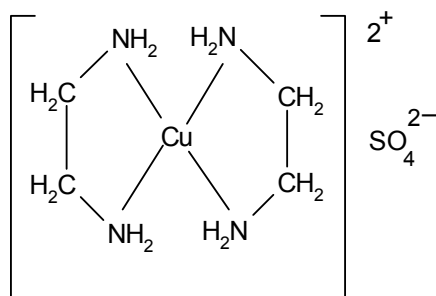


Другие реакции

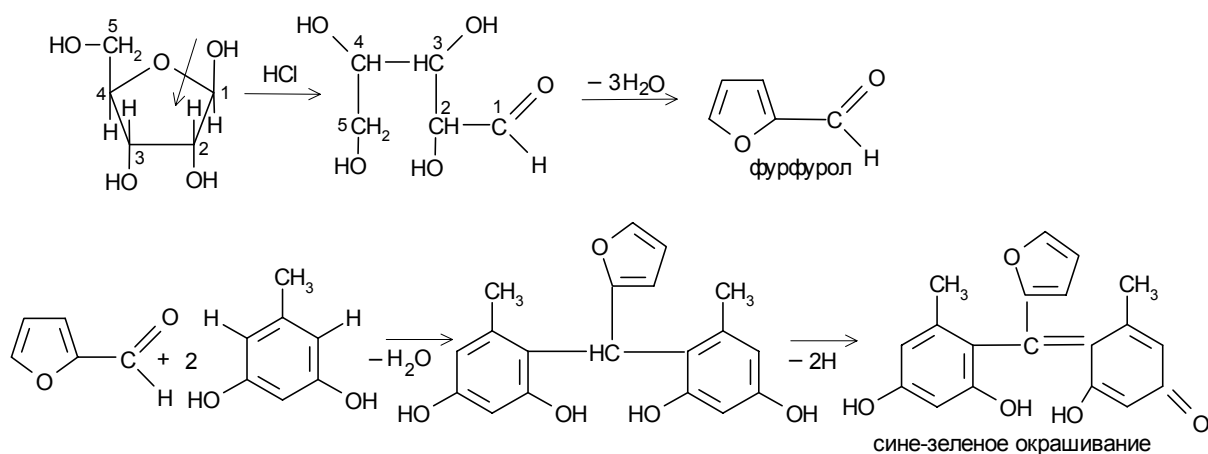
Теофиллин с 2,6-дихлорхинонхлоримидом в боратном буферном растворе ($\text{pH} = 8,5$) в результате сочетания образует мероцианиновый краситель интенсивно-голубого цвета:



Эуфиллин реагирует с раствором сульфата меди с образованием комплексного соединения красно-фиолетового цвета (реакция на остаток этилендиамина):



Аденозинтрифосфорная кислота (и *натриевая соль*) за счет остатка рибозы взаимодействует с орцином в присутствии небольшого количества хлорида железа (III) с образованием продукта конденсации сине-зеленого цвета:



В *азатиоприне* нитро-группу восстанавливают до первичной ароматической амино-группы и далее проводят диазотирование и азосочетание с фенолом (образование азокрасителя).

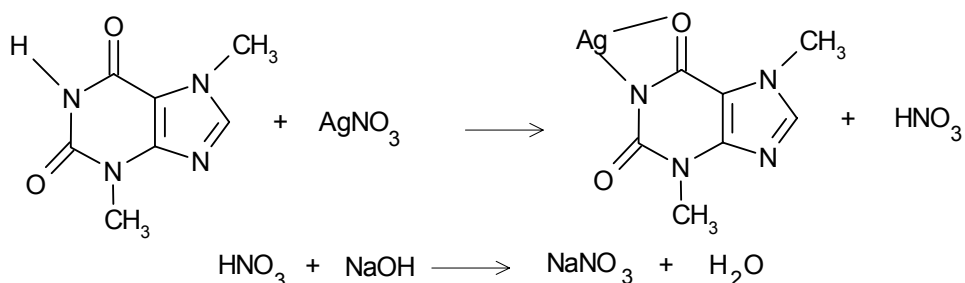
Остаток бензойной кислоты в *кофеине-бензоате натрия* открывают качественной реакцией с хлоридом железа (III) (образуется осадок телесного цвета).

Методы количественного определения

1). *Кислотно-основное титрование в неводной среде.* Препараты-основания и соли оснований определяют в среде уксусного ангидрида (кофеин) или смеси ледяной уксусной кислоты и уксусного ангидрида (ксантинола никотинат). Титрант – 0,1М раствор хлорной кислоты.

Обладающих кислотными центрами теобромин, теофиллин растворяют в протофильных растворителях (диметилформамид, пиридин, бутиламин) и титруют растворами метилатов натрия или калия.

2). *Косвенный метод нейтрализации.* При взаимодействии теобромина и теофиллина с раствором нитрата серебра образуется эквивалентное препаратам количество азотной кислоты, которую титруют стандартным раствором гидроксида натрия:



3). *Кислотно-основное титрование в водной среде.* Кофеин-бензоат натрия определяют по остатку бензоата натрия титрованием стандартным раствором хлороводородной кислоты в присутствии эфира.

Эуфиллин за счет остатка этилендиамина количественно определяют титрованием стандартным раствором хлороводородной кислоты.

4). *Аргентометрия (обратный способ).* К раствору теофиллина или теобромина добавляют аммиак и фиксированный избыток титрованного раствора нитрата серебра; образуется нерастворимая серебряная соль. Осадок отфильтровывают и в фильтрате определяют избыток нитрата серебра титрованием со стандартным раствором роданида аммония (индикатор – железо-аммонийные квасцы).

5). *Йодометрия*. Применяется для определения кофеина в кофеин-бензоате натрия. Метод основан на образовании осадка периодида кофеина в кислой среде ($\text{Coff} \cdot \text{HI} \cdot \text{I}_4$), который отфильтровывают и в фильтрате определяют избыток йода.

6). Метод Кьельдаля (определение азота в органических веществах).
Данным методом по ГФХ определяют дипрофиллин.

7). *Весовой метод*. Метод иногда используют для определения кофеина в лекарственных формах заводского производства (кофеин извлекают из смеси в щелочной среде хлороформом; далее хлороформ отгоняют, остаток высушивают и взвешивают).

8). *Физико-химические методы* (УФ-спектрофотометрия, ГЖХ и ВЭЖХ) применяют для количественного определения препаратов группы пурина в лекарственных формах заводского производства. Метод рефрактометрии применяют для анализа растворов кофеина-бензоата натрия в условиях аптеки.

Тема 17. АНАЛИЗ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ – ПРОИЗВОДНЫХ ПИРИМИДИНО-ТИАЗОЛА, ПТЕРИДИНА, ИЗОАЛЛОКСАЗИНА, ФЕНОТИАЗИНА И БЕНЗОДИАЗЕПИНА

Лекарственные средства, производные изучаемых групп гетероциклических соединений, широко применяются в медицине. Среди них лекарства природного происхождения (витамины) и синтетические (производные фенотиазина и бензодиазепина).

Производные фенотиазина применяются в качестве нейролептических, антигистаминных, коронарорасширяющих и антиаритмических средств, а производные бензодиазепина – в качестве седативных.

1. ПРОИЗВОДНЫЕ ПИРИМИДИНО-ТИАЗОЛА

Термин “*витамин*» (буквально “амин жизни”) предложен Функом, выделившим фракцию из водного экстракта рисовых отрубей, обладающую выраженными основными свойствами (1911-1912 г). В 1934 г. Вильямс из 1 тонны рисовых отрубей выделил несколько граммов витамина **B₁**, а в 1936 г. доказал его строение.

Организм животных и человека нуждается в поступлении витамина **B₁** (тиамина) извне с продуктами питания. Тиамин содержится в отрубях хлебных злаков (особенно, в рисовых отрубях), дрожжах.

Тиамин, всасываясь из кишечника, фосфорилируется и превращается в тиамин-пирофосфат (дифосфат). В этой форме он является коферментом декарбоксилаз, участвующих в окислительном декарбоксилировании кетокислот (пировиноградной, α -кетоглутаровой).

Недостаток тиамина ведет к нарушению углеводного обмена, а затем и к другим нарушениям метаболизма (в результате которого в мышечных тканях накапливаются пировиноградная и молочная кислоты), нарушению функции нервной системы (проявляющихся в полиневритах и мышечной слабости), заболеванию “бери-бери”, парезам, параличам, кожным заболеваниям.

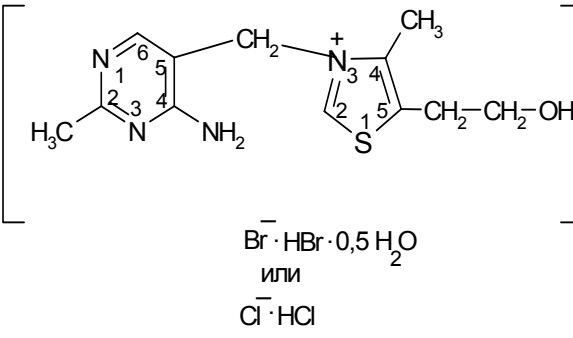
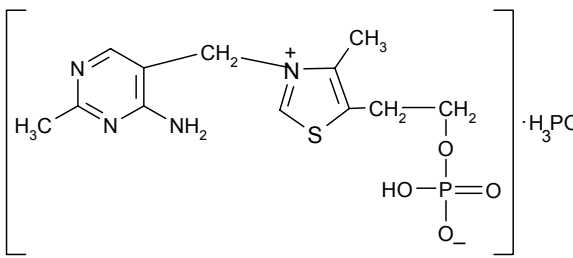
Применяют препараты тиамина при невритах, невралгиях, радикулите, кожных заболеваниях, а также для профилактики и лечения авитаминоза **B₁**.

Потребность человека в тиамине составляет примерно 1 мг в день.

Препараты витамина **B₁**: тиамин бромид (хлорид) и его коферментные формы – кокарбоксилазы гидрохлорид, фосфотиамин и бенфотиамин (см. таблицу 1).

В настоящее время препараты тиамин получают синтетически.

Таблица 1. лекарственные вещества группы пиридино-тиазола

Химическая структура	Описание
	<p>Thiamini bromidum (seu chloridum) Тиамин бромид (или хлорид) 3-[(4-Амино-2-метил-5-пиридинил)метил]-5-(2-оксиэтил)-4-метил-тиазолий бромид гидробромид (или хлорид гидрохлорид).</p> <p>Тиамин бромид – белый или белый со слегка желтоватым оттенком порошок с характерным запахом. Тиамин хлорид – белый кристаллический порошок с характерным запахом. Гигроскопичен. Легко растворимы в воде, трудно растворимы в этиловом спирте, практически нерастворимы в эфире. Лекарственные формы: таблетки, растворы для инъекций.</p>
	<p>Phosphothiaminum. Фосфотиамин. Монофосфорный эфир 4-метил-5-β-оксиэтил-N-(2'-метил-4'-амино-5'-метил-пиридинил)-тиазолия фосфат. Белый кристаллический порошок со слабым характерным запахом. Легко растворим в воде, практически нерастворим в спирте. Лекарственная форма: таблетки.</p>

	<p>Cocarboxylasi hydrochloridum. Кокарбоксилазы гидрохлорид. Дифосфорный эфир 4-метил-5β-оксиэтил-N-(2'-метил-4'-амино-5'-метилпиримидил)-тиазолия гидрохлорида Лиофилизированная сухая пористая масса белого цвета со слабым специфическим запахом. Гигроскопичен. Легко растворим в воде (рН 2,5% водного раствора 1,2 - 1,9). Форма выпуска – в ампулах в сухом виде по 0,05 г вместе с ампулами растворителя.</p>
	<p>Benphothiaminum. Бенфотиамин. 2-Метил-4-амино-5-(1'-фосфат-3'-бензоилтио-4'-метилбут-3'-ен-4'-формаидометил)-пиримидин. Белый кристаллический порошок со слабым характерным запахом. Практически нерастворим в воде и спирте. Лекарственная форма: таблетки.</p>

ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА И АНАЛИЗ КАЧЕСТВА

Общие физико-химические свойства

Тиамин является двухкислотным основанием и поэтому образует два рода солей – хлориды и гидрохлориды (бромиды и гидробромиды). Фосфотиамин и кокарбоксилаза – сложные эфиры тиамин и фосфорной кислоты, т.е. коферменты.

Эти препараты – белые порошки с характерным запахом, хорошо растворимы в воде, имеют кислую реакцию среды (как соли слабых органических оснований с сильными минеральными кислотами).

Бенфотиамин – синтетический лекарственный препарат, близкий по строению к тиамину и его коферментным формам. В отличие от препаратов - предшественников, практически нерастворим в воде.

Стабильность

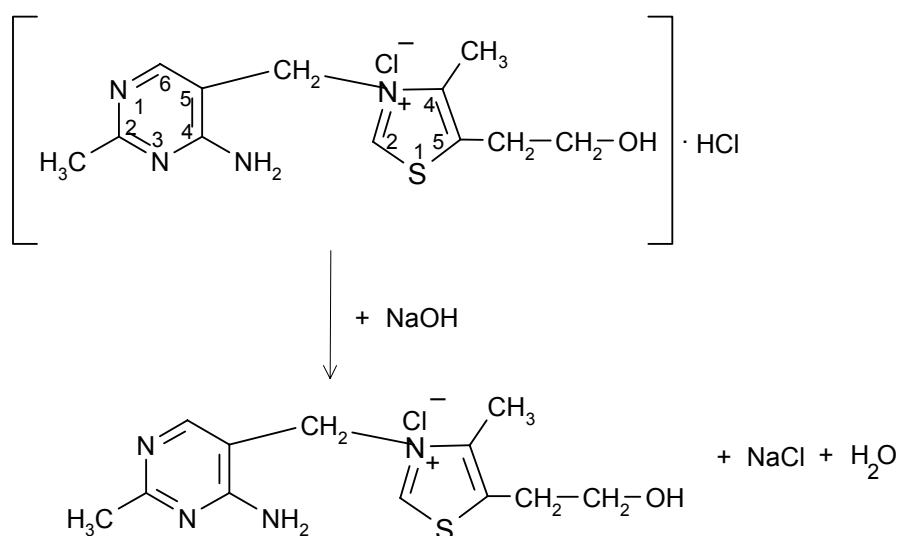
Тиамин и его производные принадлежат к числу очень неустойчивых соединений витаминов. Так тиамин под действием кислорода воздуха превращается в тиохром и тиаминдисульфид.

Разрушение тиамин вызывает также восстановители, сильно кислая или щелочная среда, свет (особенно ультрафиолетовый), повышение температуры. В растворах тиамин значение pH не должно превышать 4. За пределами оптимальной области pH повышение температуры больше способствует разложению препарата, чем присутствие кислорода.

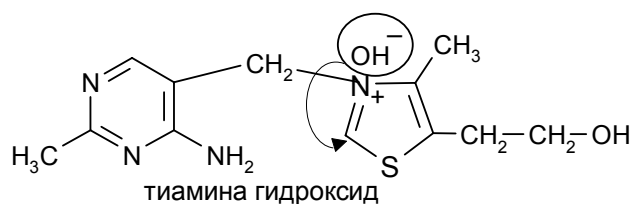
Реакции подлинности

Специфическая общегрупповая реакция подлинности тиамин и его препаратов – образование тиохрома. Сущность испытания заключается в постепенном окислении тиамин в щелочной среде (всего затрачивается три эквивалента щелочи) с образованием трициклического производного тиамин (тиохрома), способного давать синюю флуоресценцию в среде бутанола или изоамилового спирта при УФ - освещении.

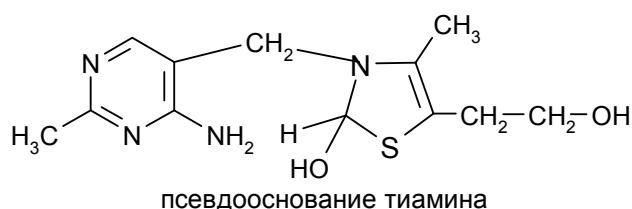
Реакция идет в несколько стадий. На первой стадии происходит частичная нейтрализация препарата, как соли галогеноводородной кислоты (первый эквивалент щелочи):



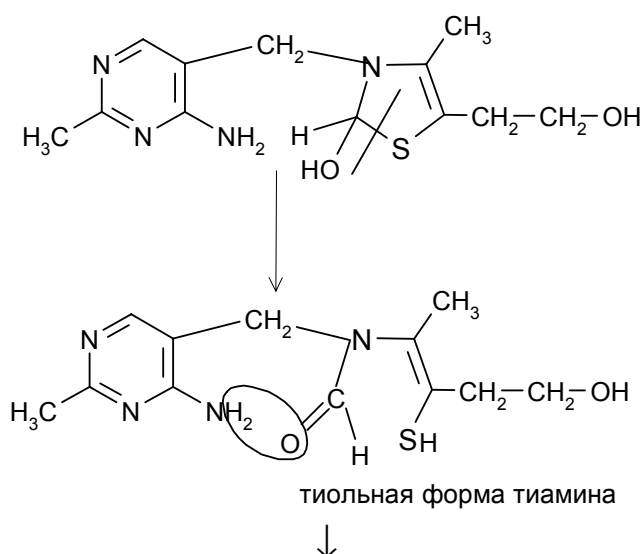
На второй стадии образовавшийся тиамин хлорид нейтрализуется (вторым эквивалентом щелочи) как соль четвертичного аммониевого основания до тиамин гидроксида:

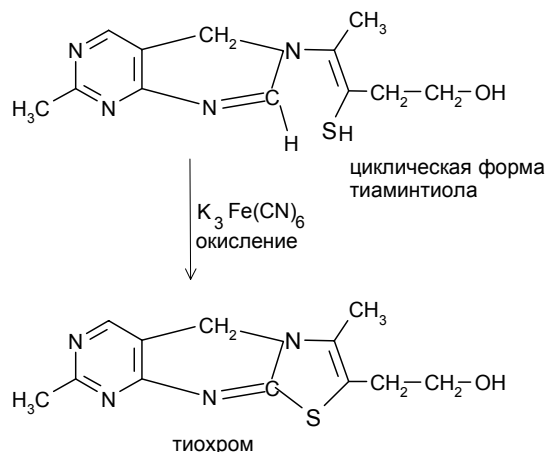


Образовавшийся тиамин гидроксида изомеризуется в псевдооснование тиамин:



При действии третьего эквивалента щелочи происходит раскрытие тиазолового кольца с образованием тиольной формы тиамин, которая при дегидратации превращается в циклическую форму тиаминтиола. Окисление последнего приводит к образованию тиохрома:





Тиохром образуют также фосфотиамин и кокарбоксилаза, но не бенфотиамин.

Как соли азотистых оснований, препараты тиамин взаимодействуют с общеалкалоидными осадительными реактивами (реактивы Вагнера, Драгендорфа, Майера, гетерополикислотами – кремневольфрамовой, пикриновой, танином и др.) с образованием характерно окрашенных осадков.

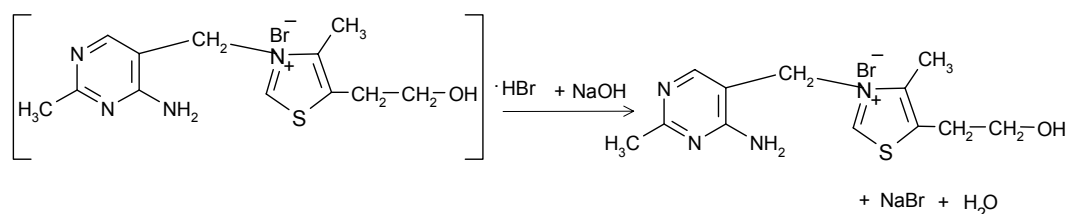
Методы количественного определения

Химическая структура лекарственных веществ производных витамина В₁ позволяет применить различные методы их химического и физико-химического количественного определения:

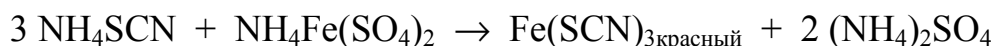
1. Кислотно-основное титрование (в водной и неводной средах);
2. Осадительное титрование (аргентометрия);
3. Физико-химические методики (спектрофотометрические, фотоэлектродиметрические, нефелометрические);
4. Гравиметрия.

По ГФ X тиамин бромид количественно определяют гравиметрически в виде комплекса препарата с кремневольфрамовой кислотой.

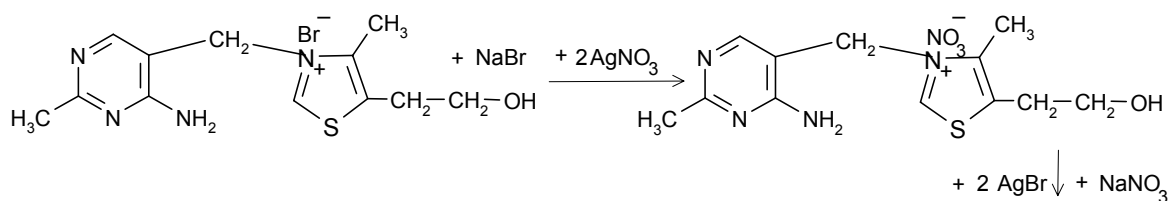
Для количественного определения тиамин бромид применяют также аргентометрическую методику. Определение проводят в четыре стадии. На 1-й стадии проводят нейтрализацию тиамин бромид как NH- кислоты 0,1 М раствором натрия гидроксида:



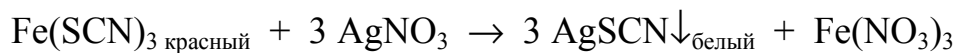
Далее (2-я стадия) готовят индикатор – железа (III) тиоцианат. Для этого к определенному объему 0,1М раствора аммония тиоцианата добавляют раствор железоаммониевых квасцов:



На третьей стадии сумму бромидов оттитровывают 0,1М раствором серебра нитрата:

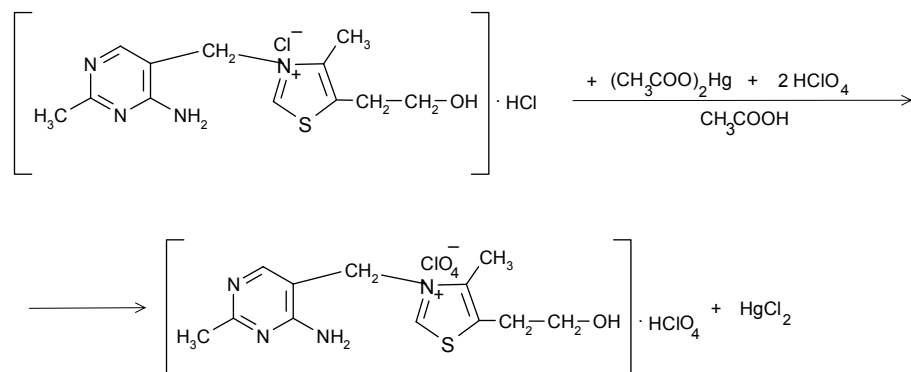


На заключительной (четвертой) стадии оттитровывают полученный на 2-й стадии железа (III) тиоцианат 0,1 М раствором серебра нитрата:

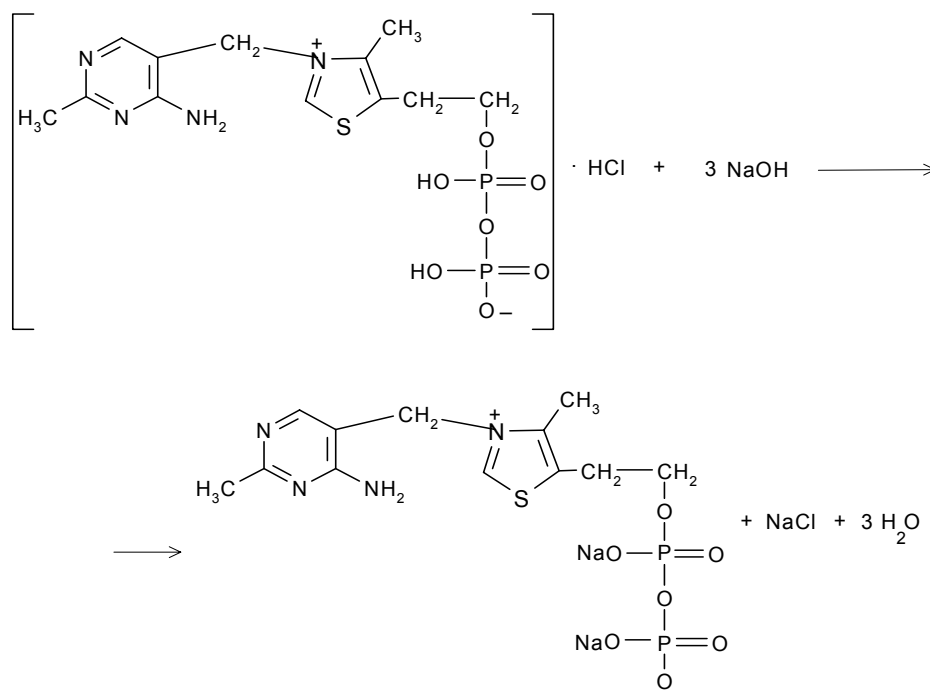


Объем 0,1 М раствора серебра нитрата, пошедшего на титрование непосредственно тиамин бромид рассчитывают по разнице между общим объемом титранта и объемами растворов натрия гидроксида и аммония тиоцианата.

Количественное определение тиамин хлорида по ГФ Х проводят методом кислотно-основного титрования в среде ледяной уксусной кислоты как соли двухкислотного основания. Для связывания галогенид-иона добавляют ртути (II) ацетат:

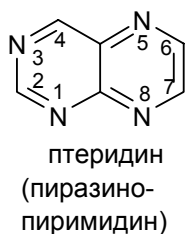


Кокарбоксилазы гидрохлорид количественно определяют алкалиметрически (титрант – 0,1 М раствор натрия гидроксида):



2. ПРОИЗВОДНЫЕ ПТЕРИДИНА

Производными птеридина являются витамины группы фолиевой кислоты и синтетические авитамины (аминоптерин, аметоптерин, метотрексат). В основе химической структуры данных соединений лежит птеридиновое ядро, представляющее собой бициклическую конденсированную систему пиримидинового и пиазинового колец.

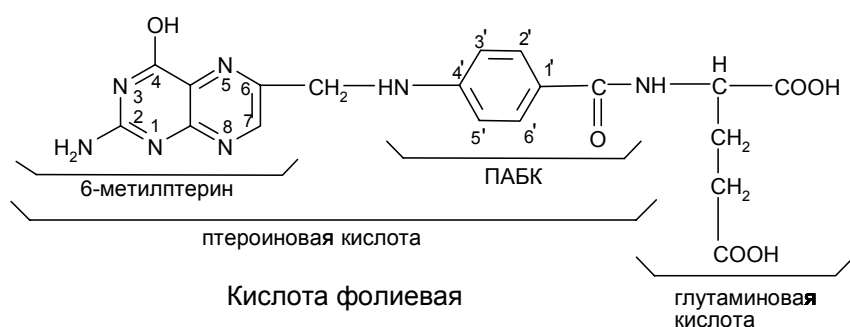


Птеридин – светло-желтый кристаллический порошок хорошо растворимый в воде и органических растворителях. Введение гидроксильных или аминогрупп резко понижает растворимость из-за наличия внутри- и межмолекулярных водородных связей, возникающих между атомами водорода функциональных групп и гетероатомами азота.

Большинство природных птеридиновых соединений являются производными 2-амино-4-оксиптеридина или птерина.

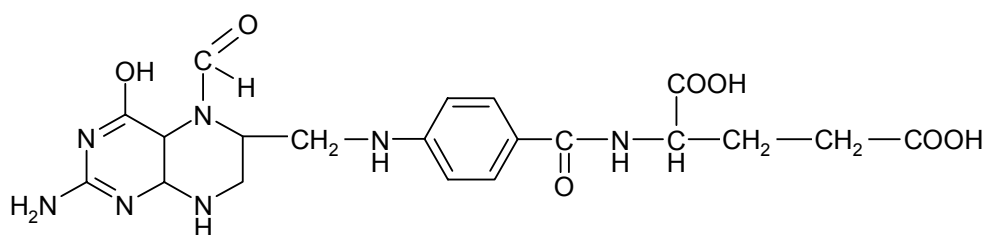
Птеридины широко распространены в природе. Их наличием обусловлена окраска крыльев и глаз у насекомых, а также окраска кожи амфибий.

К этой же химической группе принадлежат и птериновые витамины, главным представителем которых является кислота фолиевая:



Кислота фолиевая – N-{п-[(2-амино-4-гидроксиокси-6-птеридинил)метил]-амино}бензоил-L глутаминовая кислота – содержит фрагменты птеридина, п-аминобензойной кислоты и глутаминовой кислоты. К птероильной части молекулы может быть присоединено несколько остатков глутаминовой кислоты (до семи). Наиболее активны коферментные формы:

- 1) 5,6,7,8- тетрагидрофолиевая кислота;
- 2) фолиновая кислота – 5-формил-5,6,7,8-тетрагидрофолиевая кислота:



Недостаток фолиевой кислоты приводит к тяжелым нарушениям функций кроветворения, анемиям.

Потребность организма взрослого человека в фолиевой кислоте составляет 500 – 700 мкг в сутки. Основные естественные источники фолиевой кислоты аналогичны другим витаминам группы **В** (дрожжи, печень, капуста, морковь, шпинат и др.).

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА И АНАЛИЗ КАЧЕСТВА

Физические свойства

Кислота фолиевая – кристаллический порошок желтого или желто-оранжевого цвета (за счет птеридиновой системы) без запаха. На свету разлагается, гигроскопична. Практически нерастворима в воде. Мало растворима в разведенной хлороводородной кислоте, легко растворима в растворах щелочей, аммиака, карбонатов. Разрушается под действием кислот, окислителей, восстановителей, света.

Имеет характерные спектры поглощения в УФ-, видимой и ИК-областях. В качестве одного из испытаний подлинности кислоты фолиевой ГФ регламентирует регистрацию спектра поглощения 0,001% раствора препарата в 0,1 М растворе натрия гидроксида в УФ-области (максимумы поглощения при 256, 283, 365 нм).

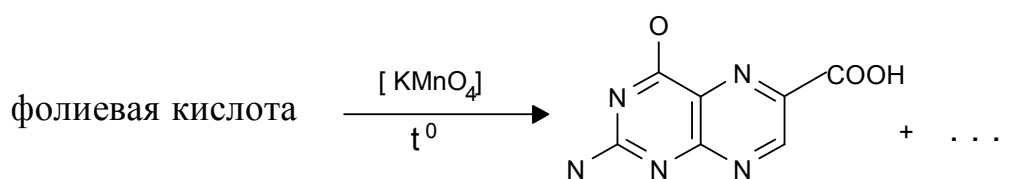
Плавится при $t^{\circ} = 360^{\circ} \text{C}$ с разложением.

Кислотно-основные свойства

Кислота фолиевая является амфолитом с преобладанием кислотных свойств. Обладая несколькими кислотными центрами, кислота фолиевая образует моно-, ди- и тризамещенные растворимые соли со щелочами, карбонатами, гидрокарбонатами и аммиаком, а также нерастворимые комплексные соединения с солями тяжелых металлов.

Гидролитическое расщепление и окисление

Кислота фолиевая легко гидролизуется и окисляется. Эти процессы могут идти одновременно. По методике ГФ навеску препарата растворяют в 0,1 М растворе натрия гидроксида, добавляют эквивалентное количество 0,1 М раствора кислоты хлороводородной, определенное количество раствора калия перманганата и нагревают. После охлаждения добавляют раствор водорода пероксида и фильтруют.



Образовавшаяся в результате гидролиза и окисления птерин-6-карбоновая кислота имеет голубую флуоресценцию в ультрафиолетовом свете.

Кислота фолиевая способна также в определенных условиях к реакции образования азокрасителя. Одна из методик лежит в основе фотоэлектроколориметрического количественного определения вещества.

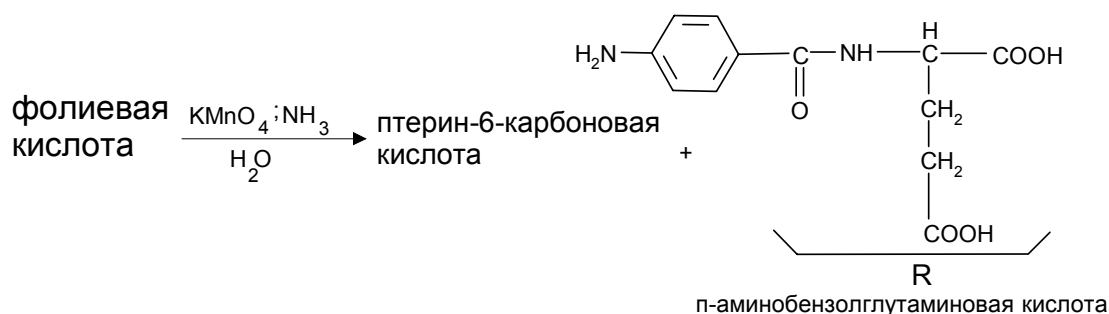
Методы количественного определения

ГФ X приводит две методики количественного определения:

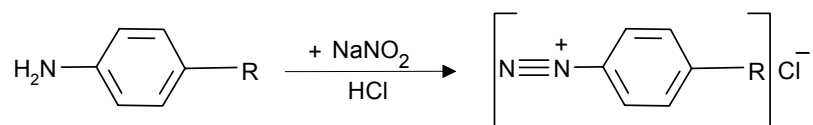
1. фотоэлектроколориметрическую;
2. полярографическую.

Фотоэлектроколориметрическое определение.

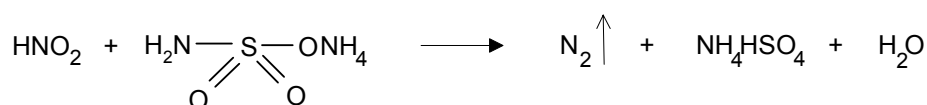
На первой стадии навеску лекарственного вещества в растворе аммиака концентрированного обрабатывают раствором калия перманганата для окислительного гидролиза с образованием птерин-6-карбоновой кислоты и *n*-аминобензоилглутаминовой кислоты:



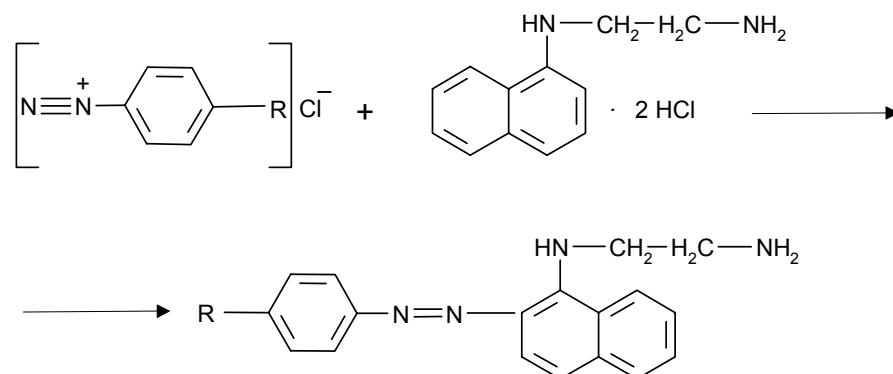
Затем добавляют 1% раствор натрия нитрита для образования соли диазония:



Образовавшийся избыток азотистой кислоты удаляют сульфаматом аммония:



Далее соль диазония сочетают с N-(1-нафтил)-этилендиамином и измеряют оптическую плотность образовавшегося азокрасителя:



Для количественного определения применяют алкалиметрию, УФ-спектрофотометрию, флуориметрию.

Лекарственная форма кислоты фолиевой – таблетки по 0,001 г.

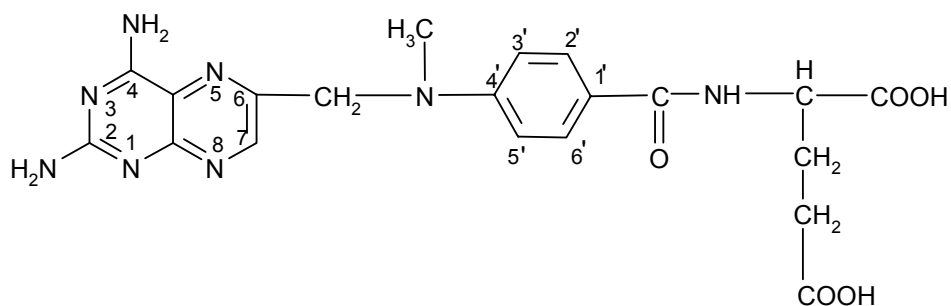
Антивитамины кислоты фолиевой

Химическая структура кислоты фолиевой специфична для проявления антианемического биологического действия. Незначительные изменения в структуре приводят к исчезновению витаминной активности или приобретению антивитаминного эффекта.

Один из метаболитов кислоты фолиевой – метотрексат – применяют в качестве противоопухолевого средства.

Препарат представляет собой смесь 4-дезоксигидрометилфолиевой кислоты и простых птеринового соединения:

Methotrexatum. Метотрексат.



Физико-химические свойства и анализ качества

Метотрексат – желтый или желто-оранжевый порошок. Практически нерастворим в воде, 95% спирте, легко растворим в растворах щелочей и карбонатов щелочных металлов.

По химическим свойствам близок к кислоте фолиевой.

В качестве первого испытания подлинности ФС регламентирует регистрацию спектра поглощения в УФ- области 0,001% раствора препарата в 0,1 М растворе натрия гидроксида (λ_{\max} при 258, 303 и 370 нм).

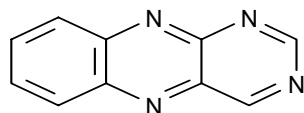
Второе испытание подлинности проводят с помощью метода хроматографии на бумаге, используя в качестве вещества-свидетеля фолиевую кислоту (R_s метотрексата по отношению к фолиевой кислоте находится в пределах 1,8 – 2,1).

Количественное определение метотрексата проводят методом хроматоспектрофотометрии. Сначала проводят хроматографию препарата на бумаге, используя в качестве подвижной фазы фосфатный буферный раствор. Затем зоны с метотрексатом и фолиевой кислотой, детектированные с помощью УФ-облучения хроматограммы, вырезают, экстрагируют 0,1М раствором натрия гидроксида и измеряют оптическую плотность фолиевой кислоты при 256 нм и метотрексата при 258 нм. Содержание метотрексата должно быть не менее 85%.

Лекарственные формы метотрексата: таблетки покрытые оболочкой по 0,0025 г., ампулы с лиофилизированным порошком по 0,005 г.

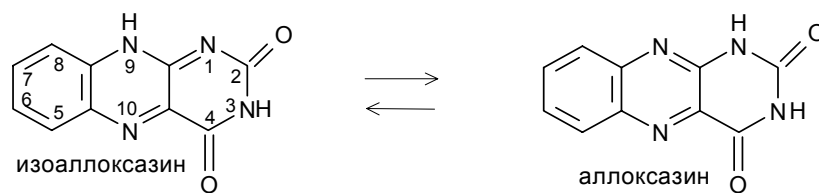
3. ПРОИЗВОДНЫЕ ИЗОАЛЛОКСАЗИНА

К данной группе относятся вещества природного происхождения с B_2 – витаминной активностью. В основе их химической структуры лежит конденсированная гетероциклическая система бензптеридина:

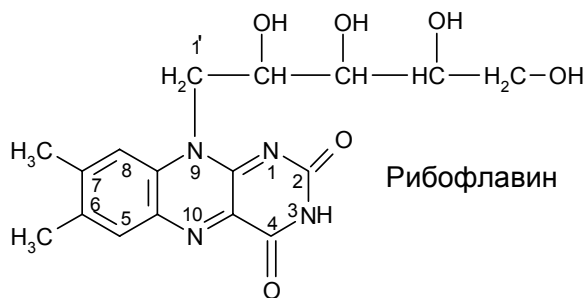


Бензптеридин

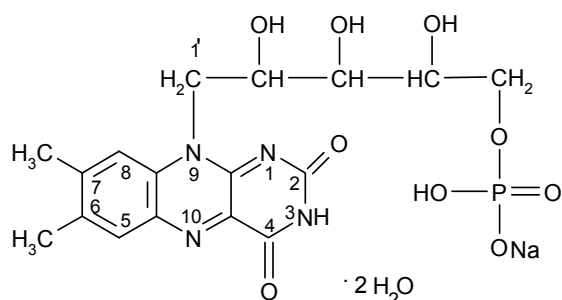
Аллоксазин и изоаллоксазин являются таутомерами кислородсодержащих производных бензптеридина:



Витамин **B₂** (рибофлавин) представляет собой 6,7-диметил-9-(D-1'-рибитил)-изоаллоксазин:



Кроме рибофлавина в медицинской практике применяют его ко-ферментную форму – рибофлавина-моноклеотид:



Riboflavinum – mononucleotidum

Рибофлавин – моноклеотид

7,8-Диметил-10-(1-D-рибитил)-изо-аллоксазин-5'-фосфат натрия, или рибофлавин-5'-монофосфат натрия

Физические свойства

Рибофлавин и рибофлавина-моноклеотид – желто-оранжевые кристаллические порошки со слабым специфическим запахом. Мало растворимы в воде, практически нерастворимы в спирте, эфире, хлороформе, растворимы в растворах щелочей. Водные растворы препаратов имеют желтовато-оранжевый цвет с интенсивной флуоресценцией в ультрафиолетовом свете.

Являются лабильными химическими веществами, легко разлагающимися на свету.

Рибофлавин и его производные обладают характерными спектрами поглощения в ультрафиолетовой области и оптической активностью в щелочной или слабо щелочной среде (в кислой и нейтральной средах оптически неактивен). При определении оптической активности рибофлавина в присутствии 0,1 М спиртового раствора калия гидроксида величина удельного вращения регламентируется в пределах от -110° до -130° . В среде 0,1 М раствора натрия гидроксида величина удельного вращения составляет -170° . Если к щелочному раствору препарата добавить раствор кислоты борной в количестве, необходимом для нейтрализации щелочи, то поменяется направление оптической активности, а величина удельного вращения возрастет и составит $+370^\circ$.

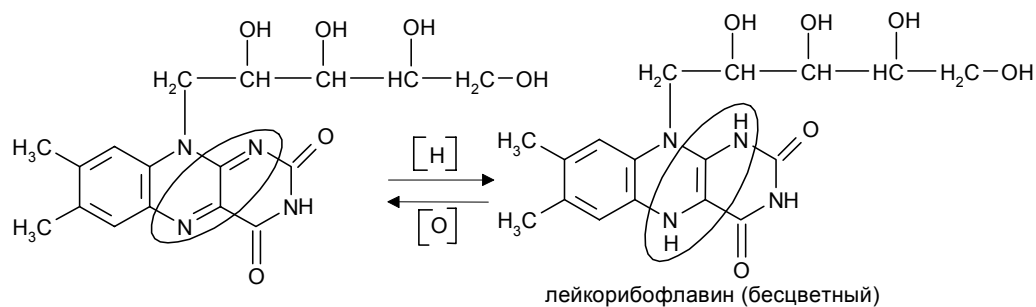
Химические свойства и анализ качества

Как полифункциональные вещества, рибофлавин и его производные обладают определенными кислотно-основными и восстановительными свойствами, а также способностью к гидролитическому расщеплению.

Рибофлавин и его производные – амфотерные соединения. Кислотные свойства связаны главным образом с наличием имидной группы. Очень слабыми кислотными свойствами обладают и спиртовые гидроксильные группы рибитильного остатка. За счет амидного фрагмента молекулы рибофлавина получают комплексные нерастворимые соединения с солями Ag^+ , Co^{2+} , Hg^{2+} и с солями других тяжелых металлов.

Основные свойства у рибофлавина выражены слабее кислотных, так как электронные пары у атомов N_9 и N_{10} делокализованы. Как основание рибофлавин растворяется в ледяной уксусной кислоте и минеральных кислотах, образует осадки с общеалкалоидными осадительными реактивами.

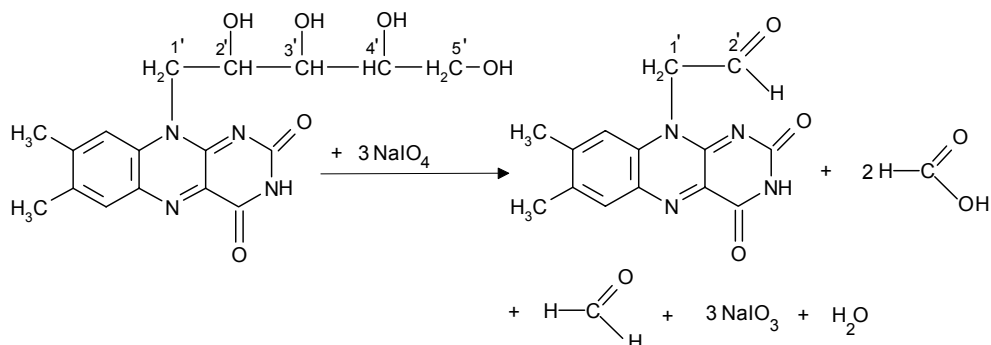
Окислительно-восстановительные свойства рибофлавина и его производных связаны с наличием сопряженной изоаллоксазиновой системы. Восстановление рибофлавина приводит к образованию бесцветного лейкорибофлавина, который, в свою очередь, может окисляться до характерно окрашенного рибофлавина:



Химическое строение рибофлавина обуславливает различные типы окисления в зависимости от условий проведения процесса. Рибофлавин окисляется при действии различных окислителей (калия перманганат, калия дихромат и др.).

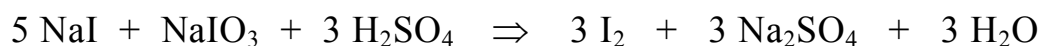
При окислении препарата концентрированной серной кислотой образуется продукт красного цвета.

При действии на препарат раствора периодата натрия окисляется рибитильный фрагмент молекулы (реакция Малапрада). Данная реакция лежит в основе одной из методик количественного определения лекарственного вещества:



Далее выделившуюся в результате реакции кислоту муравьиную оттитровывают (потенциометрически или в присутствии индикатора) стандартным раствором натрия гидроксида.

По другой методике после действия периодатом к раствору прибавляют натрия иодид и кислоту серную:



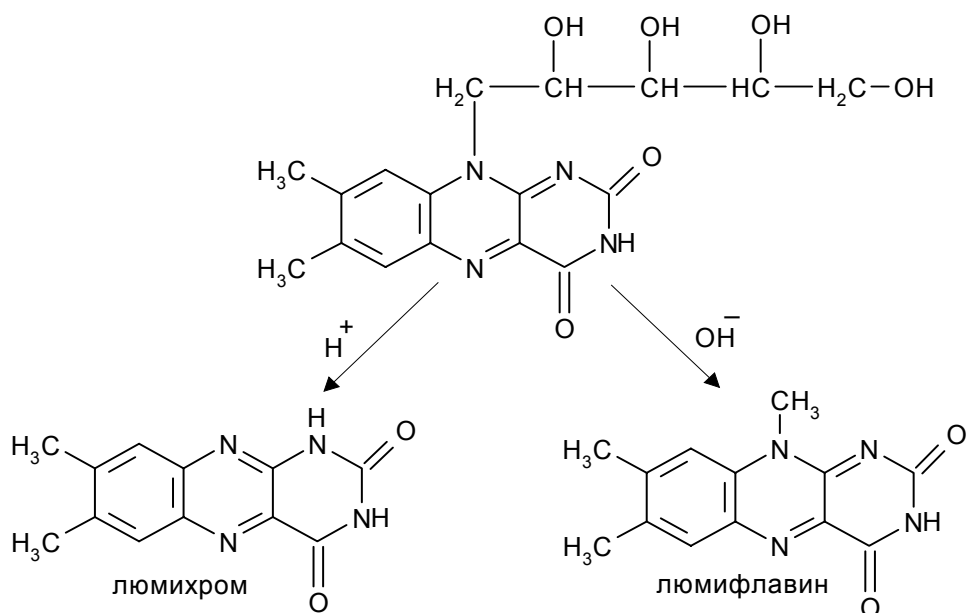
Выделившийся в результате реакции иод оттитровывают стандартным раствором натрия тиосульфата.

Другие свойства

1. Флуоресценция

Разбавленный раствор рибофлавина в воде имеет яркую зеленую флуоресценцию при подсвечивании в ультрафиолетовом свете, исчезающую при добавлении как раствора кислоты, так и раствора щелочи. Добавление гидросульфита натрия приводит к исчезновению и флуоресценции, и окрашивания.

При действии кислоты и УФ- света образуется люмихром (производный изоаллоксазина), а при действии щелочи – люмифлавин (производный изоаллоксазина):



Количественное определение

Химическая структура рибофлавина позволяет применять для его количественного определения различные методики химического и физико-химического анализа:

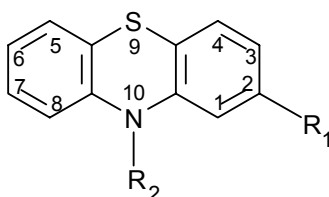
1. УФ-спектрофотометрия ($\lambda_{\max} = 267 \text{ нм}$),
2. Спектрофотометрия в видимой области ($\lambda_{\max} = 444 \text{ нм}$),
3. Флуориметрические методики,
4. Периодатное окисление (реакция Малапрада),
5. Метод ацетилирования.

4. ПРОИЗВОДНЫЕ ФЕНОТИАЗИНА

В основе химического строения лекарственных веществ данной группы лежит гетероциклическая система фенотиазина (дибензтиазина), включающая гетероатомы азота и серы.

По фармакологическому действию препараты группы фенотиазина делят на антипсихотические, или нейролептики (к ним относятся 10-алкилпроизводные) и антиаритмические (10-ацилпроизводные).

Лекарственные вещества данной группы отвечают общей формуле:



Антипсихотические средства

Лекарственные вещества фенотиазинового ряда, обладающие антипсихотическим (нейролептическим) действием, применяют в клинике около 50 лет для лечения шизофрении, психозов и других ажитированных состояний. Фармакологический эффект производных фенотиазина связан с блокадой дофаминовых рецепторов.

По структуре заместителя при N₁₀ нейролептики ряда фенотиазина подразделяют на содержащие:

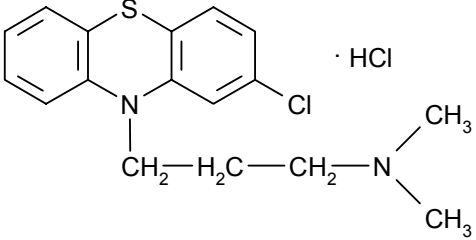
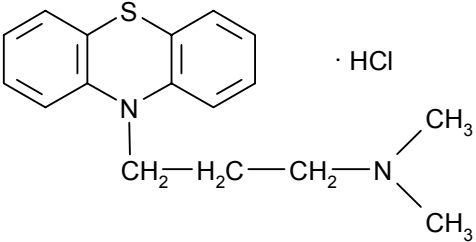
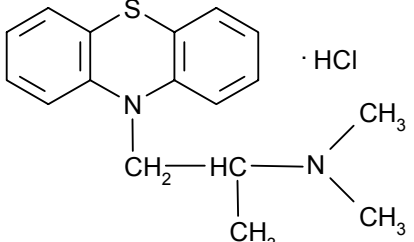
- алифатический радикал (аминазин, пропазин, тизерцин и др.);
- пиперидиновый фрагмент (неулептил, сонапакс и др.);
- содержащие пиперазиновый фрагмент (трифтазин, фторфеназин, этаперазин и др.).

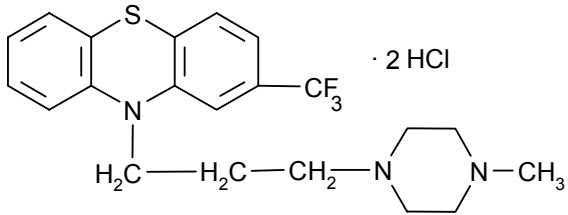
Характер заместителя при N₁₀ влияет также и на фармакологический эффект.

В мировой медицинской практике применяют около 40 нейролептиков ряда фенотиазина из синтезированных более 5000 соединений. Поиск новых лекарств этого ряда продолжается.

Свойства лекарственных веществ группы N₁₀-алкилпроизводных фенотиазина представлены в таблице 2.

Таблица 2. Свойства N₁₀-алкилпроизводных фенотиазина

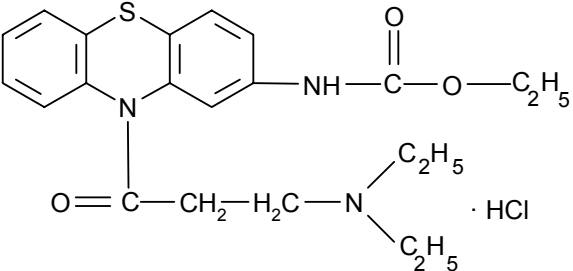
Химическая структура	Описание
	<p>Aminazinum. Аминазин. 2-Хлор-10-(3-диметиламинопропил)-фенотиазина гидрохлорид Белый или белый со слабым кремовым оттенком мелкокристаллический порошок. Слегка гигроскопичен, темнеет на свету. Очень легко растворим в воде, легко растворим в спирте и хлороформе, практически нерастворим в эфире и бензоле. Лекарственные формы: драже, растворы для инъекций.</p>
	<p>Propazinum. Пропазин. 10-(3-диметиламинопропил)-фенотиазина гидрохлорид. Белый или белый со слабым желтоватым оттенком кристаллический порошок без запаха. При стоянии на свету препарат и его растворы приобретают синевато-зеленую окраску. Гигроскопичен. Лекарственные формы: драже, таблетки, растворы для инъекций.</p>
	<p>Diprazinum. Дипразин. 10-(2-Диметиламинопропил)-фенотиазина гидрохлорид. Белый кристаллический порошок. Очень легко растворим в воде, легко растворим в спирте и хлороформе, практически нерастворим в эфире. Лекарственные формы: таблетки покрытые оболочкой, раствор для инъекций.</p>

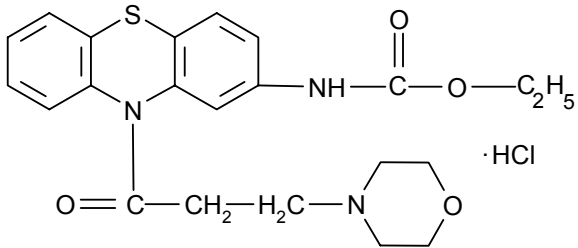
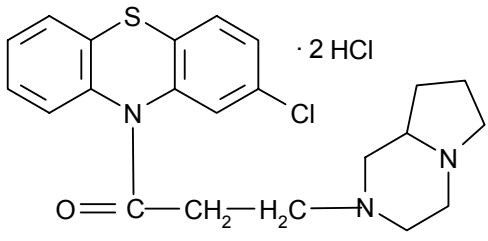
	<p>Triphthazinum. Трифтазин. 2-Трифторметил-10-[3-(1-метилпипера-зинил-4)-пропил]-фенотиазина дигидрохлорид. Белый или слегка зеленовато-желтоватый кристаллический порошок без запаха. Легко растворим в воде, растворим в спирте, практически нерастворим в эфире и бензоле. На свету темнеет. Лекарственные формы: таблетки покрытые оболочкой, раствор для инъекций.</p>
---	---

Антиаритмические средства

Антиаритмические лекарственные средства группы фенотиазина (этмозин, этацизин, нонахлазин) являются N₁₀-ацилпроизводными. Этмозин и этацизин содержат также карбамидную (в составе уретановой) группу.

Таблица 3. Свойства лекарственных веществ производных 10-ацилфенотиазина.

Химическая структура	Описание
	<p>Aethacizinum. Этацизин. 10-(3-Диэтиламинопропионил)-2-(эток-сикарбониламино)фенотиазина гидрохлорид. Белый кристаллический порошок. Медленно растворим в воде, растворим в спирте. Лекарственные формы: таблетки, раствор для инъекций.</p>

	<p>Aethmozinum. Этмозин. 2-Карбоэтоксиамино-10-(3-морфолил-пропионил)фенотиазина гидрохлорид. Белый или белый с кремовым оттенком кристаллический порошок. Растворим в воде, трудно растворим в спирте. На свету темнеет. Лекарственные формы: таблетки покрытые оболочкой, раствор для инъекций.</p>
	<p>Nonachlazinum. Нонахлазин. 2-Хлор-10-[β-(1,4-диазабицикло(4,3,0)нонанил-4)пропионил]-фенотиазина гидрохлорид. Серовато-желтоватый кристаллический порошок. Хорошо растворим в воде. Лекарственные формы: таблетки, капли.</p>

Связь между химическим строением и фармакологическим действием

Наряду с психотропным и антиаритмическим фармакологическим эффектом, лекарственные препараты группы фенотиазина обладают и другими видами активности: антигистаминной, холинолитической, гипотермальной и др.

Фармакологический эффект зависит, главным образом, от строения радикала при N₁₀. Так нейролептики (аминазин, пропазин, трифтазин и др.) содержат три углеродных атома в главной цепи алифатического фрагмента; обладающий антигистаминным действием дипразин – два углеродных атома; у антиаритмических препаратов (этмозин, этацизин,

нонахлазин) при N₁₀ находится карбамидная группа. Радикалы при C₂ потенцируют фармакологическую активность.

Общие физические свойства

По внешнему виду препараты ряда фенотиазина представляют собой белые кристаллические порошки с оттенками, без запаха, растворимы в воде, некоторые препараты растворимы и в хлороформе; значения рН водных растворов находятся в пределах 3 – 4 (алкилпроизводные) и 4 – 6 (ацилпроизводные).

Характерную температуру плавления имеют непосредственно препараты (большинство из них – гидрохлориды), их основания и пикраты оснований.

Все препараты имеют определенные УФ- и ИК-спектры поглощения. В анализе препаратов данной группы используют и другие физико-химические методы (ЯМР-спектроскопия, ВЭЖХ, ТСХ и др.).

Химические свойства и анализ качества

Кислотно-основные свойства

Большинство лекарственных веществ группы фенотиазина являются солями сильных минеральных кислот и органических азотистых оснований. Основания выделяются из растворов препаратов действием разбавленных растворов щелочей, карбонатов, аммиака.

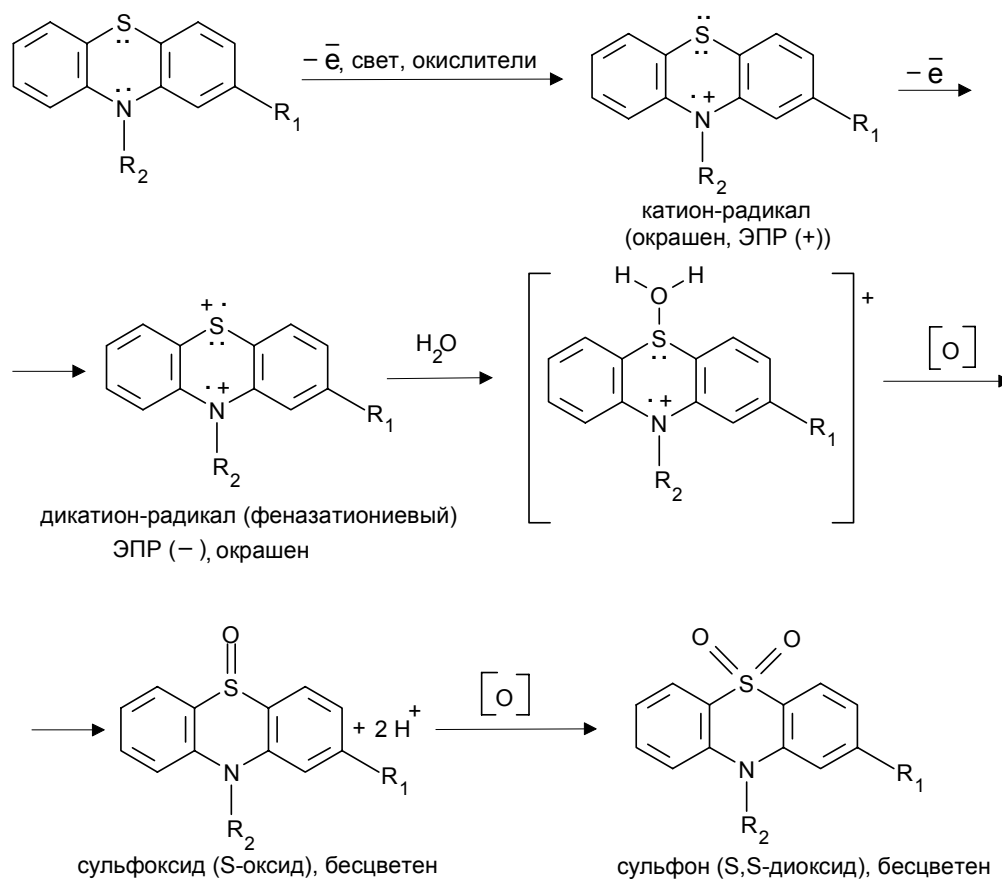
Как соли азотистых оснований, взаимодействуют с общеалкалоидными осадительными реактивами (Майера, Драгендорфа, Бушарда, Вагнера, танином, пикриновой кислотой и др.). Некоторые из осадков хорошо кристаллизуются и имеют определенную температуру плавления. Так как основания препаратов группы фенотиазина не кристаллические, а аморфные или маслообразные, то определение температуры плавления комплексов с общеалкалоидными реактивами имеет определенное значение в анализе их качества. ГФ рекомендует определение t° пл. пикрата трифтазина.

Некоторые комплексные соединения препаратов данной группы с реактивом Драгендорфа имеют характерную форму кристаллов, что используют в токсикологической химии.

С палладия хлоридом (II) изучаемые препараты образуют комплексы синего цвета, используемые и для количественного определения лекарственных форм методом фотоэлектроколориметрии.

Восстановительные свойства

Наиболее важным свойством препаратов группы фенотиазина, определяющим анализ их качества, является чрезвычайно легкая способность к окислению. Процессы окисления сложны. Протекают *in vitro* и *in vivo* по следующей схеме:



Окрашивание зависит от характера радикала при C_2 и не зависит от характера окислителя. В качестве окислителей национальные фармакопеи используют различные реактивы: бромная вода раствор калия бромата в кислой среде (ФС), серная кислота концентрированная (Британская фармакопея), железа (III) хлорид в кислой среде и церия (IV) сульфат (Японская фармакопея) и др.

Другие реакции

В препаратах гидрохлоридах определяют хлорид-ион. При этом на раствор препарата действуют раствором щелочи для осаждения основания, а в фильтрате, подкисленном азотной кислотой, определяют хлорид-ион реакцией с серебра нитратом. Непосредственно на препарат действовать серебра нитратом нельзя, так как последний будет окислять систему фенотиазина, и некоторые нитраты (например, аминазина) нерастворимы в воде.

Этмозин и этацизин, содержащие уретановую группировку, подвергаются гидролитическому разложению. По этанольному остатку уретана можно провести иодоформную пробу. Амидная группировка этих же препаратов при N_{10} позволяет провести гидроксамовую пробу, а также гидролиз с последующим определением его продуктов.

Методы количественного определения

Нормативным методом количественного определения индивидуальных препаратов является кислотно-основное титрование в неводной среде.

Кроме того возможны и другие способы количественного определения:

- алкалиметрия по остатку связанной соляной кислоты;
- гравиметрия (весовой формой может быть основание препарата, или продукт взаимодействия с общеалкалоидными осадительными реактивами);
- метод Кьельдаля;
- нефелометрия (по взаимодействию с общеалкалоидными осадительными реактивами);
- экстракционная фотометрия (по взаимодействию препаратов как слабых оснований с кислотными индикаторами, например, метиловым оранжевым, бромтимоловым синим, бромфеноловым синим и др.);
- другие физико-химические методы (спектрофотометрия, ВЭЖХ)

Количественное определение препаратов в лекарственных формах (драже, таблетках, растворах для инъекций) осуществляют с помощью различных физико-химических методов (УФ-спектрофотометрия, фотоэлектроколориметрия), а также методом Кьельдаля и цериметрически.

Стабильность

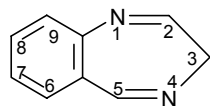
Чувствительность препаратов группы фенотиазина к окислению обуславливает хранение их герметично закрытыми в склянках темного стекла в защищенном от света сухом месте.

Растворы для инъекций стабилизируют добавлением антиоксидантов (смесь натрия сульфита, натрия метабисульфита, кислоты аскорбиновой).

5. ПРОИЗВОДНЫЕ 1,4-БЕНЗОДИАЗЕПИНА

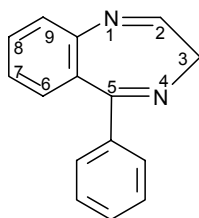
По фармакологическому действию препараты этой группы относятся к седативным средствам, т.е. обладающим успокаивающим эффектом при минимальном воздействии на двигательные и мыслительные функции. В отличие от нейролептиков, не обладают антипсихотической активностью. В медицинской практике бензодиазепины применяются с начала 60-х годов.

В основе их химического строения лежит бициклическая система 1,4-бензодиазепина:

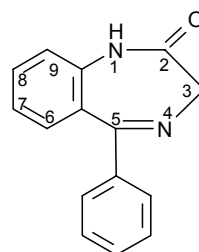


3H-1,4-бензодиазепин

Лекарственные вещества этой группы содержат фенильный радикал при С₅ и являются производными 5-фенил-3H-1,4-бензодиазепина (хлозепид) и 1,2-дигидро-3H-1,4-бензодиазепин-2-она (сибазон, нитразепам, нозепам, феназепам и др.):



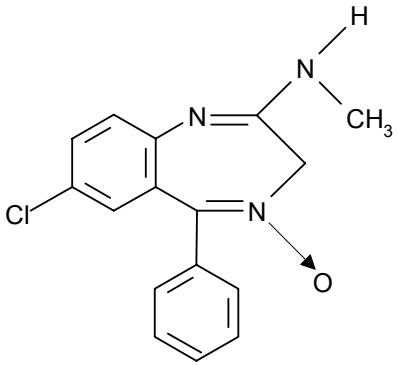
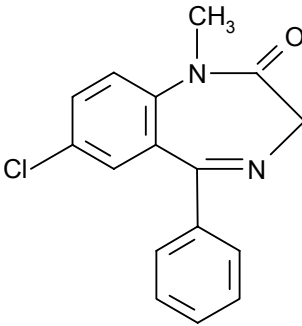
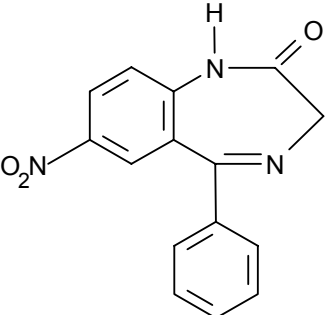
5-фенил-3H-1,4-бензодиазепин

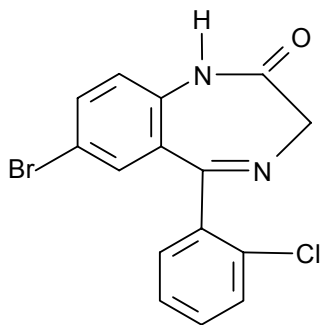


1,2-дигидро-3H-1,4-бензодиазепин-2-он

Общие физико-химические свойства лекарственных веществ группы бензодиазепина представлены в таблице 4.

Таблица 4. Производные бензодиазепина

Химическая структура	Описание
	<p>Хлозепид. Chlozepidum. 2-Метиламино-5-фенил-7-хлор-3Н-1,4-бензодиазепин-4-оксид. Белый или светло-желтый мелкокристаллический порошок без запаха. Практически нерастворим в воде, умеренно растворим в спирте. Лекарственные формы: таблетки, драже.</p>
	<p>Sibazonum. Сибазон. 7-Хлор-2,3-дигидро-1-метил-5-фенил-1Н-1,4-бензодиазепинон-2. Белый или белый со слабым желтоватым оттенком мелкокристаллический порошок без запаха. Практически нерастворим в воде, умеренно растворим в эфире, спирте, легко растворим в хлороформе. Лекарственные формы: драже, таблетки, раствор для инъекций.</p>
	<p>Nitrazepamum. Нитразепам. 1,3-Дигидро-7-нитро-5-фенил-2Н-1,4-бензодиазепин-2-он. Светло-желтый или светло-желтый с зеленоватым оттенком кристаллический порошок без запаха. Практически нерастворим в воде, мало растворим в спирте и эфире, умеренно растворим в хлороформе. Лекарственная форма: таблетки</p>



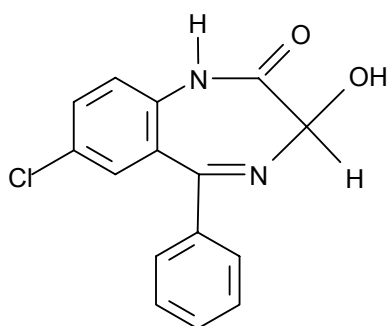
Phenazepamum. Феназепам.

7-Бром-5-(*орто*-хлорфенил)-2,3-дигидро-1-Н-1,4-бензодиазепин-2-он.

Белый или белый с кремоватым оттенком кристаллический порошок.

Нерастворим в воде, мало растворим в спирте.

Лекарственные формы: таблетки, раствор для инъекций в специальном растворителе.



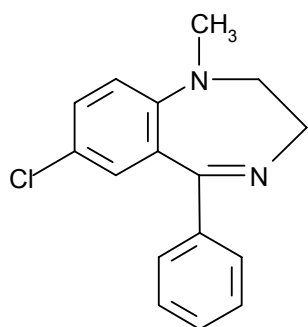
Nozepamum. Нозепам. (Газепам)

7-Хлор-2,3-дигидро-3-гидрокси-5-фенил -2Н-1,4-бензодиазепин-2-он.

Кристаллический порошок от белого до светло-желтого цвета без запаха.

Практически нерастворим в воде, мало растворим в спирте, хлороформе, эфире.

Лекарственная форма: таблетки.



Mezepamum. Мезепам. (Рудотель)

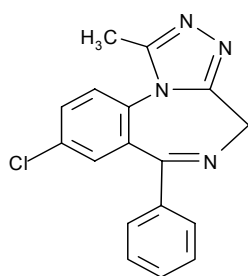
7-Хлор-2,3-дигидро-1-метил-5-фенил-1Н-1,4-бензодиазепин.

Светло-желтый или светло-желтый с зеленоватым оттенком кристаллический порошок без запаха.

Практически нерастворим в воде, легко растворим в спирте, эфире и хлороформе.

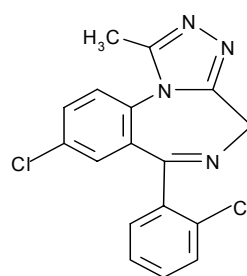
Лекарственная форма: таблетки.

В мировой медицинской практике применяют около двадцати препаратов группы 1,4-бензодиазепина, незначительно отличающихся по структуре и фармакологическому действию. Продолжается поиск и внедрение новых лекарств этой группы. Примером могут служить два сравнительно новых препарата – алпрозолам и триазолам, имеющих трициклическую структуру, включающую бензодиазепиновый фрагмент.



Алпрозолам

8-Хлор-1-метил-6-фенил-4Н-[1,2,4]триазоло[4,3а]-1,4-бензодиазепин



Триазолам

8-Хлор-6-(2-хлорфенил)-1-метил-4Н-[1,2,4]триазоло[4,3а]-1,4-бензодиазепин

Общие физические свойства

Все препараты данной группы имеют окрашивание от слабого желтого до лимонно-желтого. Все препараты плохо или практически не растворимы в воде. Плохая растворимость связана с тем, что бензодиазепины, содержащие в молекуле азометиновый фрагмент, являются внутренними основаниями Шиффа, для которых характерна гидрофобность.

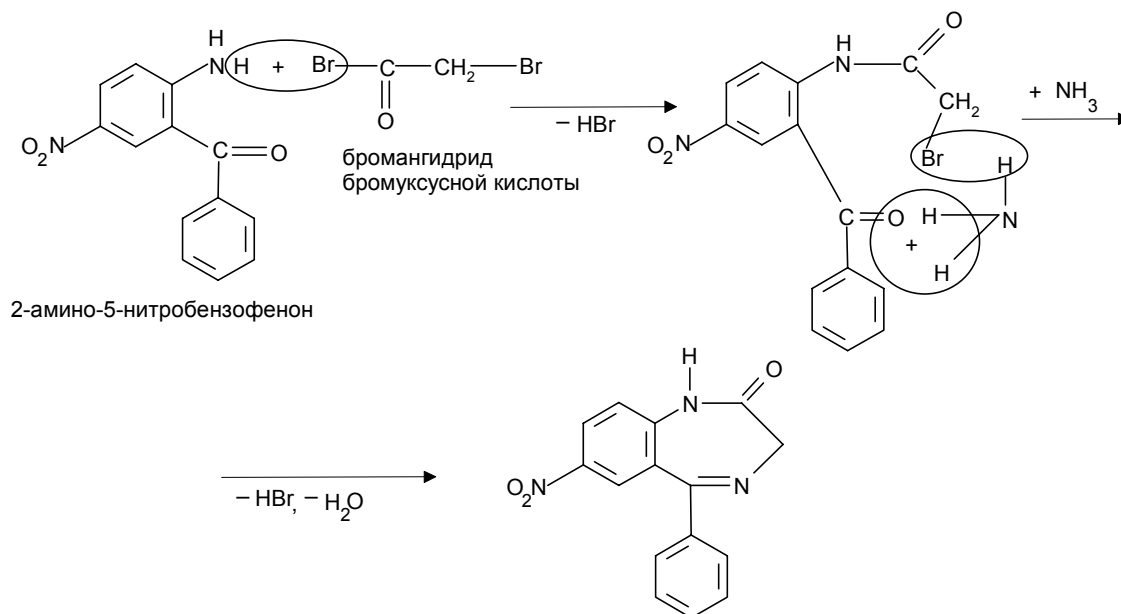
Все препараты имеют определенную температуру плавления.

Общий бензодиазепиновый цикл в сочетании с фенильным радикалом, карбонильной группой и заместителями обуславливает характерность поглощения света в ИК- и УФ- областях спектра.

Указанные выше свойства используют для определения подлинности препаратов группы бензодиазепина.

Получение

Методы синтеза препаратов группы 1,4-бензодиазепина разнообразны. Более простой и часто применяемый метод – применение в качестве исходных веществ соответствующих аминокбензофенонов. примером может служить синтез нитразепама:



Химические свойства и анализ качества

Особенности химического строения лекарственных веществ группы 1,4-бензодиазепина позволяют классифицировать их свойства и реакции следующим образом:

1. Кисотно-основные свойства;
2. Реакции окисления;
3. Гидролитическое расщепление с последующим определением продуктов гидролиза;
4. Доказательство ковалентно связанного атома галогена;
5. Частные реакции.

Кисотно-основные свойства

Хлосепид и мезапам обладают выраженными основными свойствами. Нитразепам, феназепам, нозепам являются амфолитами. Основные свойства им придает азометиновый фрагмент, а кислотные – способность к лактим-лактамной и кето-енольной таутомерии, обусловленной подвижностью атома водорода метиленовой группы. Кислотные свойства данных препаратов обуславливают их растворение в щелочах и образование нерастворимых комплексных соединений с солями тяжелых металлов, например, Co^{2+} .

Благодаря азометиновой группе, как центру основности, все препараты группы бензодиазепина растворяются в разбавленных кислотах, образуют осадки с общеалкалоидными реактивами. Некоторые осадки (например, с реактивами Драгендорфа и Майера) имеют характерные формы кристаллов.

Реакции окисления

Частично гидрированный бензодиазепиновый цикл молекул препаратов данной группы объясняет их легкую способность к окислению в различных условиях. В качестве окислителей используют реактив Марки, калия перманганат и др. реактивы.

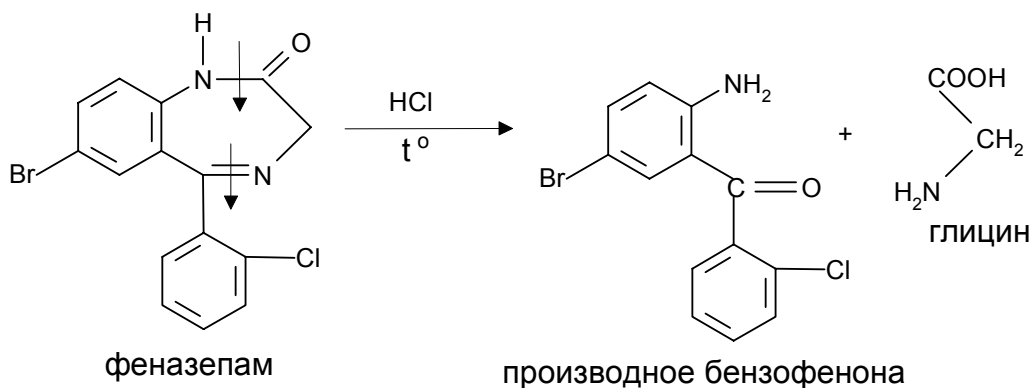
Феназепам при нагревании с раствором кислоты хлорной образует продукт окисления желто-зеленого цвета с зеленой флуоресценцией. Аккуратное плавление феназепама приводит образованию окрашенного в красно-фиолетовый цвет плава.

Гидролитическое расщепление

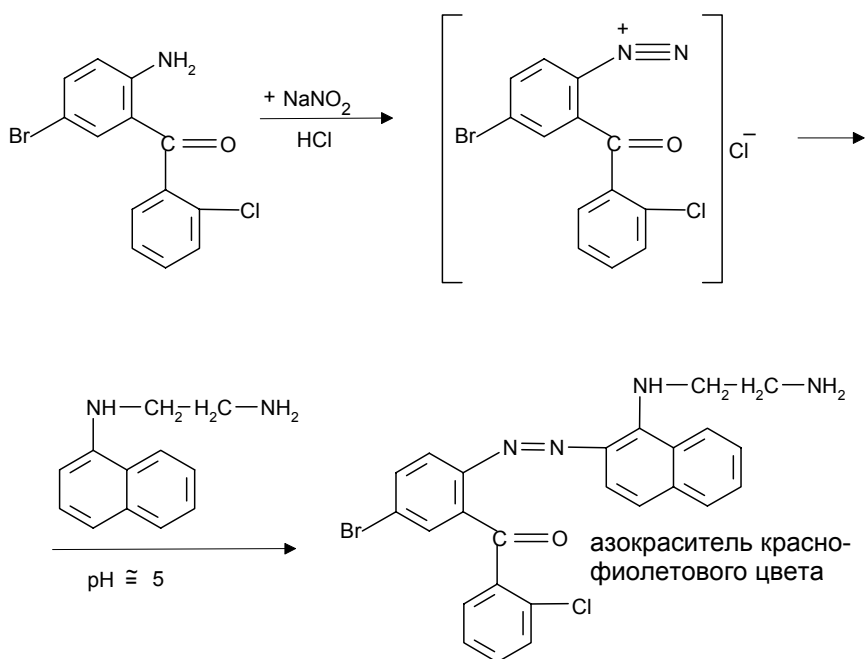
Реакции гидролитического расщепления и определение продуктов гидролиза используют для определения подлинности и количественного определения препаратов группы бензодиазепина.

Жесткое расщепление препаратов при нагревании с кристаллическим гидроксидом натрия в открытом тигле приводит к выделению аммиака (или соответствующего амина). Некоторые препараты (нозепам, феназепам) образуют при таком взаимодействии со щелочью и окрашенные плавы из-за проходящего параллельно расщеплению окислению.

При кислотном гидролизе разрыву подвергаются и амидная, и азометиновая группы. Образующиеся при этом производные бензофенона окрашены в желтоватый цвет, лучше поглощают в УФ- области спектра. При гидролизе деблокируется первичная ароматическая аминогруппа и далее можно проводить реакцию образования азокрасителя (испытание подлинности или фотоэлектроколориметрия), или нитритометрическое количественное определение:



Далее проводят диазотирование раствором натрия нитрита в среде кислоты хлороводородной и азосочетание с β -нафтолом в щелочной среде или N-(1-нафтил)этилендиамином в умеренно кислой среде с образованием азокрасителя:



Нитразепам способен также к образованию азокрасителя после восстановления нитрогруппы (подобно левомецетину, нитроксолину).

Определение ковалентно связанных атомов галогенов

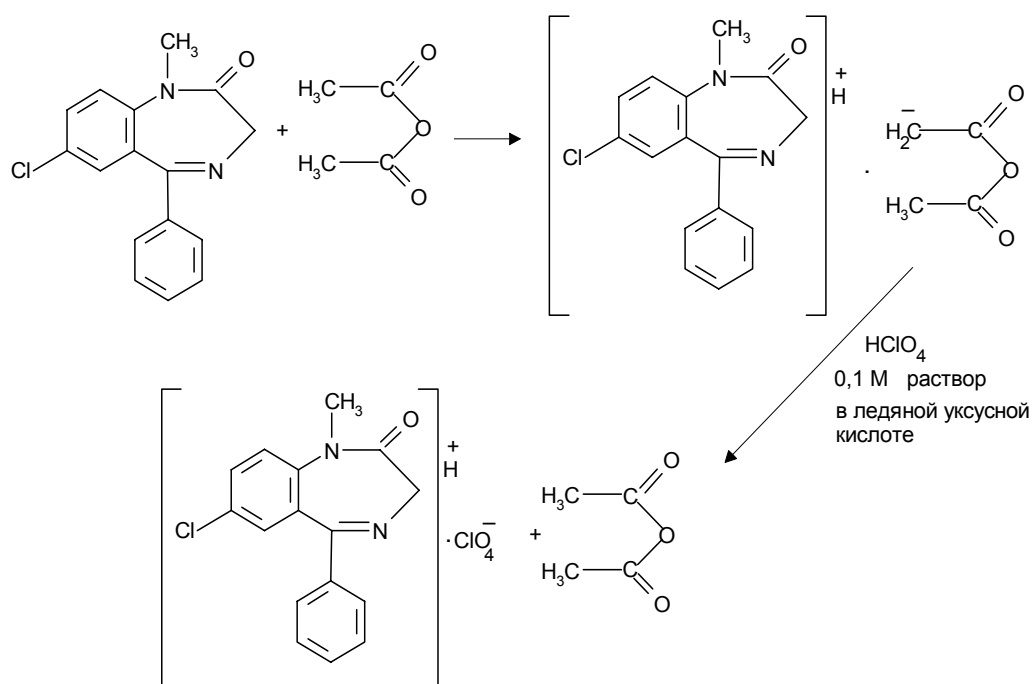
Определение органически связанных атомов галогенов проводят после минерализации в виде галогенид-ионов реакцией с серебра нитратом. Минерализацию проводят различными способами:

1. сжигание в колбе с кислородом;
2. нагревание с растворами щелочей в присутствии цинка;
3. другие методики.

Открыть ковалентно связанный атом галогена можно и пробой Бельштейна. При этом несколько кристалликов препарата на медной проволоке вносят в пламя, которое окрашивается яркий светло-зеленый цвет.

Методы количественного определения

Индивидуальные лекарственные вещества группы бензодиазепина количественно определяют методом кислотно-основного титрования в среде уксусного ангидрида или ледяной уксусной кислоты как однокислотные основания:



Количественное определение препаратов группы бензодиазепина можно провести методами нитритометрии, Кьельдаля, аргентометрии после минерализации атомов галогенов и сжиганием в колбе с кислородом. Однако перечисленные способы уступают кислотно-основному титрованию по точности и трудоемкости и, поэтому, применяются редко.

Количественное определение препаратов данной группы в лекарственных формах проводят с помощью различных физико-химических методов (УФ- спектрофотометрия, фотоэлектроколориметрия, флуориметрия, ВЭЖХ).

Чистота

Специфическими примесями препаратов группы бензодиазепина являются соответствующие аминобензофеноны, как исходные вещества при синтезе или продукты разложения. Определяют их с помощью хроматографии в тонком слое, УФ- спектрофотометрии и других физико-химических методов.

Тема 18. АНАЛИЗ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СМЕСЕЙ В УСЛОВИЯХ АПТЕК

Лекарственная форма – сложная динамическая система. В её состав входят лекарственные вещества, различающиеся химическим строением. Разнообразие химических и физических свойств лекарственных веществ, с одной стороны, позволяет использовать для их определения многочисленные реакции на катионы и анионы, на определенные функциональные группы и элементы структуры.

С другой стороны – взаимовлияние функциональных групп лекарственных веществ при анализе их в смесях (без разделения) бывает значительным вследствие побочных или индуцированных реакций. Иногда анализ затрудняется и тем, что лекарственное вещество в смеси содержится в малом количестве, в связи с чем, для его определения невозможно применить общепринятые (например, титриметрические) методы.

Поэтому при исследовании многокомпонентной смеси необходимо всесторонне учитывать физические и химические свойства всех входящих (а не только анализируемых) ингредиентов. В этой связи различают два методологических подхода к анализу ингредиентов многокомпонентных лекарственных смесей:

1) когда лекарственные вещества, входящие в состав смеси, характеризуются сходными физическими и химическими свойствами (кисотно-основными, окислительно-восстановительными и др.), что делает необходимым разделение смеси на составляющие компоненты в нейтральной, кислой или щелочной среде (классический аналитический метод);

2) когда лекарственные вещества, входящие в состав смеси, не обладают близкими физическими и химическими свойствами, что дает возможность их анализа без разделения смеси на составляющие компоненты.

Для разделения смесей на отдельные компоненты используют несколько принципиальных схем, в основе которых лежат различия в кислотно-основных свойствах веществ, их растворимости в воде и органических растворителях.

Анализ лекарственных смесей без разделения составляющих их ингредиентов является более предпочтительным, так как при этом сокращаются потери анализируемых веществ, уменьшаются число операций, время анализа и расход реагентов.

В связи с тем, что номенклатура фармацевтических препаратов чрезвычайно многообразна и постоянно пополняется новыми лекарственными веще-

ствами, при разработке схемы анализа и ее практическом выполнении необходимо всесторонне учитывать особенности поведения каждого ингредиента данной прописи.

1. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПОДЛИННОСТИ ВЕЩЕСТВ В ЛЕКАРСТВЕННЫХ СМЕСЯХ

Обнаружение лекарственных веществ неорганической природы

Многие лекарственные вещества неорганического происхождения являются электролитами, поэтому анализ их водных растворов сводится не к идентификации растворенного вещества в целом, а к определению ионов (катионов или анионов, на которые оно диссоциирует).

Идентификация ингредиентов не обладающих близкими физическими и химическими свойствами

Пропись 1 иллюстрирует данный пример.

ПРОПИСЬ 1 *Кислоты карболовой 0,05*
 Натрия хлорида 0,18
 Воды для инъекций до 20 мл

При разработке схемы анализа смеси целесообразно привести реакции подлинности на каждый ингредиент в отдельности:

Na^+	Cl^-	Карболовая кислота (фенол)
1) Окраска пламени (желтый цвет) 2) С цинк-уранил ацетатом (желтый кристаллический осадок)	1) С серебра нитратом (белый творожистый осадок)	1) С FeCl_3 (синее окрашивание) 2) С реактивом Марки (красное окрашивание) 3) С бромной водой 4) Образование азокрасителя 5) Образование индофенольного красителя

После этого надо выбрать для анализа конкретного лекарственного вещества или иона те реакции, в которые не вступают другие компоненты анализируемой смеси. В данном примере ингредиенты смеси открывают независимыми реакциями, так как вещества не мешают идентификации друг друга.

Подлинность. Натрия хлорид. 1) Графитовую палочку смачивают анализируемым раствором и вносят в бесцветное пламя. Пламя окрашивается в желтый цвет.

2) К 5 каплям раствора прибавляют 5 капель разведенной уксусной кислоты и 6-8 капель раствора цинк-уранил ацетата. Постепенно образуется желтый кристаллический осадок.

3) К 2 мл раствора прибавляют по 3 капли воды, кислоты азотной разведенной и раствора серебра нитрата. Образуется белый творожистый осадок.

Кислота карболовая (фенол). К 3-5 каплям раствора прибавляют 1-2 капли раствора железа (III) хлорида. Появляется сине-фиолетовое окрашивание.

Для идентификации фенола можно применить и другие реакции приведенные в схеме.

Идентификация ингредиентов многокомпонентных смесей с близкими физическими и химическими свойствами.

Многие лекарственные смеси содержат вещества со сходными физическими и химическими свойствами. Примером может служить жидкость Поло-сухина (пропись 2).

ПРОПИСЬ 2 *Натрия хлорида 25*
 Натрия тиосульфата 0,5
 Кальция хлорида 1,5
 Воды дистиллированной до 500 мл

Определение катионов Na^+ и Ca^{2+} при совместном присутствии затруднено, поэтому возможно два варианта анализа. По первому – сначала определяют Ca^{2+} по реакции с аммония оксалатом (образуется белый осадок), а затем в фильтрате открывают Na^+ по окраске пламени. По второму варианту вначале определяют Na^+ по реакции с цинк-уранил ацетатом (выпадает желтый кристаллический осадок), а затем в фильтрате открывают Ca^{2+} по окраске пламени.

Так как анионы Cl^- и $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ образуют осадки с раствором серебра нитрата, поэтому в одной навеске $\text{S}_2\text{O}_3^{2-}$ открывают реакцией с раствором кислоты хлороводородной (при этом ощущается запах SO_2 и образуется муть вследствие выпадения мелкодисперсной серы), а в другой навеске открывают Cl^- с раствором серебра нитрата в присутствии кислоты азотной.

Подлинность. Кальций-ион. К 1 мл раствора прибавляют 0,5 мл кислоты уксусной разведенной и 3-5 капель раствора аммония оксалата. Образуется белый осадок, не растворимый в растворе аммиака, но растворимый в разведенных минеральных кислотах.

Натрий-ион. Графитовую палочку опускают в надосадочную жидкость и вносят в бесцветное пламя. Пламя окрашивается в желтый цвет.

Тиосульфат-ион. К 2 мл раствора прибавляют 10 капель раствора кислоты хлороводородной разведенной. Образуется муть и ощущается запах оксида серы (IV).

Хлорид-ион. См. пропись 1.

ПРОПИСЬ 3 *Калия хлорида*
 Аммония хлорида по 4
 Кальция хлорида 2
 Воды очищенной по 200 мл

Идентификация иона калия в присутствии солей аммония основана на способности последних разлагаться при прокаливании. Поэтому перед определением часть лекарственной смеси помещают в тигель и прокаливают, затем определяют ион калия.

При обнаружении иона калия, в присутствии катионов кальция или магния нельзя использовать реакцию образования осадка с кислотой винно-каменной, так как соли кальция (магния) также образуют осадок с реактивом.

Нецелесообразным является открытие катионов кальция и калия при совместном присутствии на пламени горелки из-за наложения цветов, образуемых каждым катионом. Поэтому на калий-ион следует провести реакцию образования двойной соли гексанитрокобальтата (III) калия-натрия с раствором натрия гексанитрокобальтата (III).

Подлинность. Аммоний-ион. К 0,5 мл раствора прибавляют 1-2 мл раствора натрия гидроксида и нагревают. Ощущается запах аммиака; смоченная водой красная лакмусовая бумага окрашивается в синий цвет.

Калий-ион. В фарфоровой чашечке прокаливают 10-15 капель раствора, охлаждают, к остатку прибавляют 0,5 мл воды и по 2-3 капли кислоты уксус-

ной разведенной и раствора натрия гексанитрокобальтата (III); появляется золотисто-желтый осадок.

Кальций-ион. См. пропись 2 (с аммония оксалатом).

Хлорид-ион. См. пропись 1.

Обнаружение лекарственных веществ органической природы

Большинство лекарственных веществ органической природы не электролиты, поэтому для их анализа не применимы реакции ионного типа. Химические свойства этих соединений в основном определяются наличием функциональных групп.

При анализе лекарственных веществ в смесях используют специфические реакции обнаружения, позволяющие открыть один ингредиент в присутствии другого, или разделяют вещества и далее анализируют каждое из них в отдельности.

Чтобы ингредиенты смеси не мешали обнаружению друг друга, при идентификации большинства лекарственных веществ подбирают реакции на те или иные функциональные группы или структурный элемент, исключая влияние сопутствующих ингредиентов. Например, анальгин не следует обнаруживать по реакции с железом (III) хлоридом в присутствии натрия салицилата. Анальгин следует открывать с помощью серебра нитрата или натрия нитрита, а натрия салицилат – реакцией образования ауринового красителя.

При совместном присутствии двух производных фенолов – кислоты салициловой и резорцина – реакция на фенольный гидроксил с железом (III) хлоридом характерна для обоих лекарственных веществ. Поэтому в данном сочетании кислоту салициловую следует обнаруживать по реакции с солями меди (возникает зеленое окрашивание), а резорцин – по реакции образования ауринового красителя, но не с формальдегидом, а с хлороформом. В этом случае резорцин дает продукт ярко-красного цвета. Продукт же взаимодействия кислоты салициловой с хлороформом имеет зеленовато-синюю окраску и практически не мешает определению.

Если ингредиенты смеси мешают идентификации анализируемого лекарственного вещества, используют различные приемы. Так, при обнаружении алкалоидов в многокомпонентных смесях не рекомендуется (за редким исключением) применять общеалкалоидные осадительные реактивы. Подобные реакции могут давать и другие вещества (не алкалоиды), проявляющие основные свойства.

Из общеалкалоидных осадочных реакций при обнаружении дибазола в смесях используют реакцию образования полийодида красно-бурого цвета с характерным перламутровым блеском. Многие другие соединения также образуют полийодиды, поэтому их предварительно экстрагируют раствором кислоты хлороводородной разведенной (антипирин, димедрол, новокаин и др.) или сам дибазол изолируют от сопутствующих веществ путем его экстракции хлороформом. В экспресс-анализе допускается идентификация дибазола по полийодиду без его отделения, поскольку он имеет отличительное характерное окрашивание.

Способность альдегидов окисляться до кислот и восстанавливать соли тяжелых металлов используют для определения их в смесях. Но если в лекарственной форме присутствуют вещества, также способные легко окисляться данными реактивами (кислота аскорбиновая, бензилпенициллина калиевая или натриевая соли, изониазид, хлоралгидрат и др.), идентификация затрудняется. Поэтому глюкозу в присутствии кислоты аскорбиновой определяют по реакции конденсации с тимолом. С реактивом Фелинга ее можно определить лишь после окисления кислоты аскорбиновой раствором водорода пероксида.

При анализе барбитуратов в лекарственных смесях в большинстве случаев определение следует проводить лишь после извлечения лекарственного вещества эфиром из подкисленного раствора. Экстракция барбитуратов особенно необходима, если лекарственная форма представляет собой настой либо содержит галеновые препараты (экстракт боярышника, настойки валерианы, ландыша, пустырника и др.) или вещества, образующие осадки с солями кобальта (эуфиллин, норсульфазол и др.).

Разделение смеси следует проводить в том случае, когда она содержит вещества, дающие одинаковые реакции. Например, амидопирин не мешает обнаружению анальгина по реакции его взаимодействия с раствором кислоты хлороводородной (анальгин разлагается с выделением оксида серы (IV) и формальдегида). Но анальгин, являясь, как и амидопирин, производным пиразолона, легко окисляется и дает продукты, по цвету сходные с продуктами окисления амидопирина. Поэтому при обнаружении амидопирина используют его способность растворяться в эфире или хлороформе, и извлекаться из водных или подщелоченных растворов этими растворителями.

При анализе жидких лекарственных форм, содержащих растительные препараты, алкалоиды, как правило, извлекают хлороформом из щелочного раствора. Для подщелачивания применяют растворы натрия гидроксида или аммиака. Но если основание алкалоида содержит сложную эфирную группу

(атропин, кокаин, скополамин) или фенольный гидроксил (морфин), нельзя применять растворы щелочей (следует использовать раствор аммиака).

При проведении мурексидной пробы на производные пурина (кофеин, теобромин, теofilлин, эуфиллин) в присутствии различных восстановителей (производные пиразолона, йодиды, кислота аскорбиновая и др.) алкалоиды лучше предварительно извлечь. Если же продукты окисления летучи или не имеют окраски, можно проводить реакцию образования мурексида без разделения смеси.

Иногда сопутствующие вещества могут вступать в реакцию с реактивом, не образуя при этом окрашенные соединения. Например, обнаружению антипирина по реакции с натрия нитритом в кислой среде не мешают производные первичных ароматических аминов, так как они образуют соли диазония, имеющие бледно-желтую или бесцветную окраску (в большинстве случаев).

При одновременном присутствии дибазола и кислоты аскорбиновой полийодид дибазола не образуется до тех пор, пока полностью не окислится кислота аскорбиновая, что требует избыточного количества прибавляемого реактива.

Для идентификации некоторых лекарственных веществ в смесях можно использовать реакции с одними и теми же реактивами, если учесть все особенности их проведения. Например, и левомецетин, и глицерин образуют с меди сульфатом в щелочной среде комплекс интенсивного синего цвета. Но окраску такого комплекса с левомецетином можно обнаружить лишь после отделения осадка меди гидроксида, который образуется как побочный продукт, тогда как глицерин взаимодействует именно с меди гидроксидом с образованием растворимого комплексного соединения.

Обнаружение нескольких лекарственных веществ в одной пробе

В целях экономного расходования реактивов, лекарственной формы и времени проведения исследования в экспресс-анализе смесей известного состава можно использовать приемы, позволяющие в одной пробе открывать 2 – 3 вещества. При выборе способов идентификации учитывают особенности протекания химических реакций, что можно проиллюстрировать примерами использования реактивов, которые одновременно открывают 2 – 3 лекарственных вещества, давая с ними различные видимые изменения.

Сочетание гидрокарбонат-иона и лекарственного вещества, содержащего открытый или блокированный (в виде простого или сложного эфира) фенольный гидроксил целесообразно открывать с помощью реактива Марки. При

добавлении реактива Марки (раствор формальдегида в кислоте серной концентрированной) к пробе, взятой для анализа, сначала наблюдается бурное выделение пузырьков оксида углерода (IV) (гидрокарбонат-ион), а затем образуется сине-фиолетовое окрашивание за счет фенольного фрагмента (см. пропись 4)

ПРОПИСЬ 4 *Кодеина фосфата 0,015*
Натрия гидрокарбоната 0,3

Так как содержание фосфат-иона в данной смеси незначительно, его открывают по реакции образования «бензидиновой сини».

При взаимодействии аммония молибдата с каким-либо фосфатом образуется аммония фосфомолибдат, обладающий более высоким окислительным потенциалом, чем аммония молибдат, вследствие чего происходит окисление бензидина (сам аммония молибдат бензидин не окисляет). Синее окрашивание связано с появлением продуктов окисления бензидина («бензидиновая синь») и восстановления молибдена («молибденовая синь»).

При достаточном содержании фосфат-иона можно провести реакцию с серебром нитратом.

Подлинность. *Натрий-ион.* См. пропись 1.

Гидрокарбонат-ион и кодеин. К 0,01 г порошка прибавляют 2 – 3 капли реактива Марки; выделяются пузырьки газа (гидрокарбонат-ион) и появляется сине-фиолетовое окрашивание (кодеин).

Фосфат-ион. На фильтровальную бумагу наносят по одной капле растворов лекарственной смеси, аммония молибдата, бензидина и насыщенного раствора натрия ацетата. Появляется синее окрашивание.

Пропись 5 является примером смеси, где находится лекарственное вещество, содержащее фенольный гидроксил (натрия салицилат) и соединение, образующее при кислотном гидролизе формальдегид (гексаметилентетрамин). Такое сочетание позволяет открыть оба вещества одним реактивом (серная кислота концентрированная) по реакции образования *ауринового красителя*.

ПРОПИСЬ 5 *Гексаметилентетрамина*
Натрия салицилата по 2
Воды очищенной 100 мл

Подлинность. *Натрий-ион.* См. пропись 1

Гексаметилентерамин и натрия салицилат. 2 – 3 капли микстуры выпаривают досуха, прибавляют 3 – 4 капли кислоты серной концентрированной и слегка нагревают; появляется малиново-красное окрашивание.

Если в прописи одновременно содержатся лекарственные вещества из групп ароматических аминов и фенолов, то возможно их определение по реакции образования *азокрасителя*.

ПРОПИСЬ 6 *Новокаина 0,05*
Резорцина 0,1
Кислоты борной 0,2
Воды для инъекций до 10 мл

Подлинность. *Новокаин и резорцин.* К 5 каплям раствора прибавляют по 2 – 3 капли кислоты хлороводородной разведенной и 1% раствора натрия нитрита, а затем 10 капель раствора натрия гидроксида. Появляется вишнево-красное окрашивание.

Кислота борная. 1) Выпаривают 5 – 6 капель раствора на водяной бане. К сухому остатку прибавляют 1 – 2 мл спирта этилового 95% и поджигают. Спиртовой раствор горит пламенем с зеленой каймой.

2) К 2 – 5 каплям раствора прибавляют 1 – 2 капли раствора фенолфталеина и 4 – 6 капель 0,1 М раствора натрия гидроксида. Появляется ярко-розовое окрашивание, исчезающее после добавления 0,5 – 1 мл глицерина.

Хлорид-ион. См. пропись 1

Проводя реакцию с натрия нитритом, одновременно с первичными ароматическими аминами можно открыть также анальгин (быстро исчезающее сине-фиолетовое окрашивание) и антипирин (зеленое окрашивание).

ПРОПИСЬ 7 *Дибазола 0,03*
Анальгина
Анестезина по 0,3

Подлинность. *Анальгин и анестезин.* К 0,01 г смеси прибавляют по 0,5 мл воды, раствора кислоты хлороводородной разведенной и 2 – 3 капли 1% раствора натрия нитрита. Появляется быстро исчезающее синее окрашивание (анальгин). Затем 0,1 мл полученной смеси вливают в 1 мл щелочного раствора β-нафтола. Появляется красно-оранжевое окрашивание (анестезин).

Дибазол. 0,01 г смеси растворяют в 2 – 3 мл буферного раствора (рН 6,5), прибавляют 2 – 3 мл хлороформа, взбалтывают в течение 2 – 3 мин и хлороформное извлечение, содержащее анестезин и анальгин, отбрасывают (повторяют дважды), а к водному остатку добавляют 2 – 3 капли раствора кислоты хлороводородной разведенной, 3 – 5 капель раствора йода и взбалтывают. Образуется красно-бурый осадок с характерным перламутровым блеском.

Лекарственные вещества группы ароматических аминов можно определять также по реакции образования *оснований Шиффа*. При взаимодействии в кислой среде с алифатическими или ароматическими альдегидами (*n*-диметиламинобензальдегид, ванилин и др.) первичные ароматические амины образуют окрашенные в желтый цвет основания Шиффа (азометины). Ингредиенты прописи 8 иллюстрируют этот пример.

ПРОПИСЬ 8 *Стрептоцида*

Гексаметилентетрамина по 0,25

Подлинность. *Стрептоцид и гексаметилентетрамин.* К 0,01 г смеси прибавляют 2 – 3 капли раствора кислоты серной разведенной и нагревают. Появляется желто-оранжевое окрашивание.

В прописи 9 новокаин взаимодействует с альдегидными группами углеводов, составляющих лигнин бумаги. При этом также образуется окрашенное основание Шиффа.

ПРОПИСЬ 9 *Раствор новокаина 2%*

Состав: Новокаина 2

Раствора кислоты хлороводородной
разведенной 0,9 мл

Воды для инъекций до 100 мл

Подлинность. *Новокаин.* 2 – 3 капли раствора помещают на бумажную капсулу (из простой бумаги) или полоску газетной бумаги и прибавляют 1 – 2 капли раствора кислоты хлороводородной разведенной. Появляется пятно желто-оранжевого цвета.

Кислота хлороводородная. К 1 мл раствора прибавляют 1 каплю раствора метилового красного. Раствор окрашивается в красный цвет.

Некоторые лекарственные смеси содержат *бромиды* и вещества ароматического ряда, содержащие заместители I рода (фенолы, ароматические амины) с незамещенными орто- или пара- положениями. В подобных случаях не-

возможно проводить идентификацию бромид-иона по реакции окисления их до свободного брома, окрашивающего хлороформный слой в желто-бурый цвет, так как идет бромирование ароматического ядра и бром в хлороформном слое практически не обнаруживается. Бромид ион в таких смесях следует открывать по реакции образования бурого осадка меди (I) бромида в присутствии кислоты серной концентрированной.

ПРОПИСЬ 10 *Кофеина-бензоата натрия*
Гексаметилентетрамина
Натрия салицилата по 1
Натрия бромида 0,5
Воды очищенной до 100 мл

Подлинность. *Натрий-ион.* См. пропись 1

Бромид-ион. К 2 каплям раствора прибавляют 1 каплю раствора меди (II) сульфата и 3 – 4 капли кислоты серной концентрированной. Появляется бурый осадок.

Гексаметилентетрамин и натрия салицилат. См. пропись 5

Салицилат-ион и бензоат-ион. См. пропись 11.

Пропись 11 иллюстрирует пример обнаружения лекарственных веществ с использованием различной растворимости продуктов реакции в воде и органических растворителях.

Для обнаружения анионов кислот используют реакцию образования медных солей, которые отличаются по цвету и растворимости в различных растворителях.

ПРОПИСЬ 11 *Натрия салицилата*
Натрия бензоата по 2
Воды очищенной 100 мл

Подлинность. *Натрий-ион.* См. пропись 1

Салицилат-ион и бензоат-ион. В пробирку вносят 1 – 2 мл смеси, прибавляют 3 – 4 капли раствора меди (II) сульфата, 1 мл хлороформа или эфира и встряхивают. Водный слой окрашивается в зеленый цвет (салицилат-ион), а слой органического растворителя – в голубой (бензоат-ион).

Салицилат- и бензоат-ионы при совместном присутствии можно определить и на импрегнированной фильтровальной бумаге. На фильтровальную бумагу наносят каплю раствора железа (III) хлорида, после чего в центр по-

лученного пятна помещают каплю анализируемой смеси. Образуется пятно розовато-желтого цвета (бензоат-ион), окаймленное кольцом фиолетового цвета (салицилат-ион).

Также на принципе различной растворимости комплексных соединений с меди (II) сульфатом в различных растворителях основано обнаружение эфедрина и эуфиллина в смеси.

ПРОПИСЬ 12 *Димедрола 0,005*
Эфедрина гидрохлорида 0,002
Эуфиллина 0,005
Глюкозы 0,1

Подлинность. *Эфедрин и теофиллин.* 0,05 г порошка растворяют в 1 мл воды при нагревании, охлаждают, прибавляют 0,5 мл 0,1 М раствора натрия гидроксида, 2 мл 0,01 М (0,25%) раствора меди (II) сульфата, 2 мл хлороформа и встряхивают. После разделения слоев наблюдают зеленоватое окрашивание хлороформного слоя (эфедрин и теофиллин) и фиолетовое окрашивание водного слоя (этилендиамин).

Димедрол. К 0,01 г порошка прибавляют 5 – 6 капель кислоты серной концентрированной. Появляется ярко-желтое окрашивание, переходящее в кирпично-красное (оксониевая соль димедрола), исчезающее при добавлении нескольких капель воды (разрушение оксониевой соли).

Глюкоза. К 0,02 г порошка прибавляют по 1 мл воды, реактива Фелинга и нагревают до кипения. Образуется кирпично-красный осадок.

Для определения *хлоридов* в присутствии *бромидов* возможно использование различной растворимости их серебряных солей в растворе аммиака.

ПРОПИСЬ 13 *Натрия хлорида*
Натрия бромида по 3
Воды очищенной 200 мл

Подлинность. *Натрий-ион.* См. пропись 1

Хлорид- и бромид-ионы. К 1 – 2 каплям раствора прибавляют 1 – 2 капли раствора серебра нитрата. Образуется бело-желтый осадок (хлорид- и бромид-ионы). Затем добавляют 1 – 2 капли раствора аммиака и осадок отфильтровывают (в осадке – серебра бромид). К прозрачному фильтрату добавляют

2 – 3 капли раствора кислоты азотной разведенной; образуется белый осадок серебра хлорида.

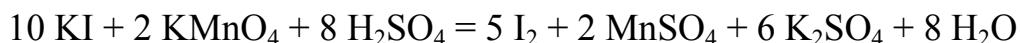
Обнаружение лекарственных веществ возможно и с использованием их различий в *окислительных* или *восстановительных* свойствах.

ПРОПИСЬ 14 *Кальция хлорида 5*
Каля йодида
Каля бромида по 2
Воды очищенной до 100 мл

Для обнаружения хлоридов, бромидов и йодидов при совместном присутствии целесообразно использовать их способность окисляться до свободных галогенов.

Чтобы определить каждый из перечисленных галогенидов, реакцию необходимо проводить поэтапно, поскольку у них разные величины окислительно-восстановительных потенциалов ($E^0 \text{Cl}_2/2\text{Cl}^- = 1,359 \text{ V}$; $E^0 \text{Br}_2/2\text{Br}^- = 1,087 \text{ V}$; $E^0 \text{I}_2/2\text{I}^- = 0,536 \text{ V}$).

В качестве окислителя используют калия перманганат (строго определенное количество), который в среде кислоты серной в первую очередь вступает в реакцию с йодидом (наиболее сильным восстановителем среди галогенидов) и окисляет его до свободного йода, окрашивающего хлороформный слой в красно-фиолетовый цвет:



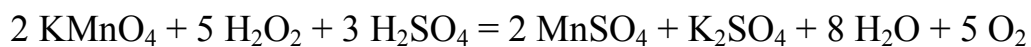
При дальнейшем прибавлении калия перманганата идет более глубокое окисление йода до бесцветного йодат-иона:



Затем в реакцию вступает бромид-ион, и вследствие образования молекулярного брома хлороформный слой окрашивается в желто-бурый цвет:



После полного окисления бромидов избыток калия перманганата разрушают прибавлением по каплям раствора водорода пероксида:



Хлорид-ион, как самый слабый восстановитель в ряду анализируемых галогенидов, в данных условиях не взаимодействует (или не полностью взаимодействует) с калия перманганатом и может быть обнаружен в водном слое по реакции с серебра нитратом.

Подлинность. *Хлорид-, бромид- и йодид- ионы.* К 2 каплям раствора прибавляют по 10 капель воды и кислоты серной разведенной, 1 каплю 0,1% раствора калия перманганата и встряхивают. Хлороформный слой окрашивается в фиолетовый цвет (йодиды). Затем продолжают прибавлять раствор калия перманганата (при встряхивании) до перехода фиолетового окрашивания хлороформного слоя в желто-бурое (бромиды).

После окрашивания водного слоя в устойчивый розовый цвет его сливают в другую пробирку и прибавляют к нему 10 капель хлороформа. Последний не должен окрашиваться. Если же хлороформный слой окрашивается в желтый цвет, добавляют по каплям раствор калия перманганата. После полного окисления бромидов избыток калия перманганата разрушают прибавлением по каплям раствора водорода пероксида и далее прибавляют 2 капли раствора серебра нитрата. Образуется белый творожистый осадок (хлориды), растворимый при добавлении раствора аммиака.

Сочетание глюкозы и кислоты аскорбиновой относится к часто встречающимся прописям в экстемпоральной рецептуре. Однако обнаружение глюкозы в присутствии аскорбиновой кислоты затруднительно, так как оба вещества проявляют восстановительные свойства. Кислота аскорбиновая является более сильным восстановителем, чем глюкоза, поэтому обнаружение последней возможно только после полного окисления кислоты аскорбиновой в мягких условиях. Кислоту аскорбиновую окисляют раствором водорода пероксида в присутствии раствора аммиака при нагревании, а затем проводят обнаружение глюкозы с реактивом Фелинга или аммиачным раствором серебра нитрата.

ПРОПИСЬ 15 *Кислоты аскорбиновой 0,1*
Глюкозы 0,5

Подлинность. *Кислота аскорбиновая.* 0,05 – 0,1 г смеси растворяют в 1 – 2 мл воды, прибавляют 1 – 2 капли аммиачного раствора серебра нитрата. Выпадает темный осадок.

Глюкоза. 0,05 – 0,1 г смеси растворяют в 1 – 2 мл воды, прибавляют по 2 – 3 капли пергидроля и раствора аммиака и кипятят 2 – 3 мин. После охлаждения добавляют 1 мл реактива Фелинга и снова нагревают. Образуется кирпично-красный осадок.

2. КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ В СМЕСЯХ

В экспресс-анализе для количественного определения ингредиентов смесей применяются титриметрические и физико-химические методы.

Из титриметрических методов для указанных целей применяется большинство известных способов титрования (см. таблицу 1). Из физико-химических методов наиболее часто используется рефрактометрия, реже – спектрофотометрия в УФ- и видимой областях.

Несмотря на большое разнообразие в химическом строении лекарственных веществ, многие соединения, имеющие одинаковые функциональные группы или элементы структуры, можно определить одними и теми же методами.

При количественном анализе нужно не только выбрать наиболее точный и удобный метод, исходя из индивидуальных свойств анализируемого вещества, но и учесть вид лекарственной формы, установить, позволят ли сопутствующие ингредиенты обеспечить необходимую точность, учесть реакцию среды, наличие электролитов, веществ, анализируемых аналогично, и т.д. Поэтому знание альтернативных вариантов определения различными титриметрическими методами, особенностей взаимодействия индикаторов, титрованных растворов при анализе смесей приобретает особое значение.

При анализе многокомпонентных лекарственных форм используют различные варианты титрования: прямое, обратное, заместительное, с контрольным опытом и др. (см. табл. 1).

Для самостоятельного составления схемы количественного анализа, а также в целях обеспечения точности определения и экономного расходования реактивов провизору-аналитику необходимо уметь производить предварительные расчеты массы (объема) лекарственной формы, необходимой для анализа, величины разведения, среднего ориентировочного титра, коэффициентов пересчета, теоретического объема титранта, оценивать результаты анализа и делать выводы.

Таблица 1. Титриметрические методы, наиболее часто используемые при анализе ингредиентов в лекарственных смесях

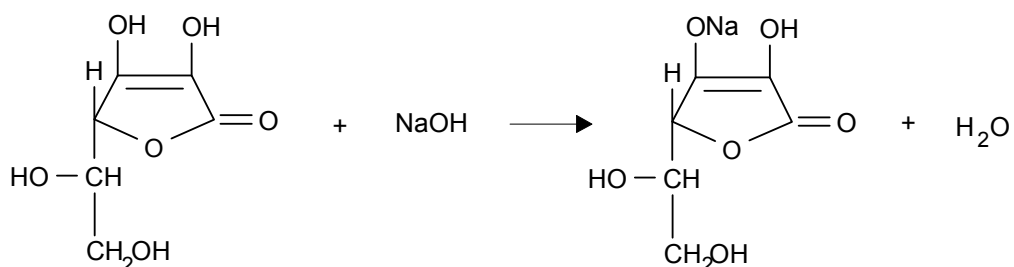
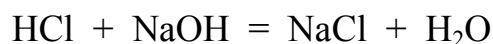
Метод	Анализируемые соединения	Титранты
<p>Кислотно-основное титрование</p> <p>1) Ацидиметрия</p> <p>2) Алкалиметрия</p>	<p>Основные оксиды, соли слабых неорганических и органических кислот и сильных оснований, основания.</p> <p>Неорганические кислоты, карбоновые кислоты, енолы, NH-кислоты.</p>	<p>0,1 н. и 0,02 н. раствор HCl;</p> <p>0,1 н., 0,02 н. раствор H₂SO₄</p> <p>1 н., 0,5 н., 0,1 н. и 0,02 н. раствор NaOH</p>
<p>Окислительно-восстановительные методы (пеманганометрия, йодометрия, броматометрия, йодатометрия, йодхлорметрия)</p>	<p>Лекарственные вещества с восстановительными свойствами; ароматические вещества, способные к реакциям электрофильного замещения.</p>	<p>0,1 н. раствор KMnO₄, 0,1 н. раствор KBrO₃, 0,1 н., 0,01 н. и 0,02 н. растворы I₂; 0,1 н., 0,01 н. и 0,02 н. растворы Na₂S₂O₃; 0,1 н. раствор KIO₃; 0,1 н. и 0,01 н. растворы ICl</p>
<p>4. Методы осаждения (аргентометрия, меркуриметрия)</p>	<p>Неорганические галогениды, соли органических оснований и галогеноводородных кислот</p>	<p>0,1 н. и 0,02 н. растворы AgNO₃; 0,1 н. и 0,02 н. растворы NH₄CNS; 0,1 н. раствор Hg(NO₃)₂</p>
<p>5. Комплексиметрия</p>	<p>Соли двух- и трехвалентных металлов</p>	<p>0,05 М и 0,01 М растворы ЭДТА</p>
<p>6. Нитритометрия</p>	<p>Ароматические амины</p>	<p>0,1 М и 0,02 М растворы NaNO₂</p>

Способы расчета концентраций определяемого ингредиента зависят от вида лекарственной формы, величин эквивалентов (особенно при определении по разности) и т.д.

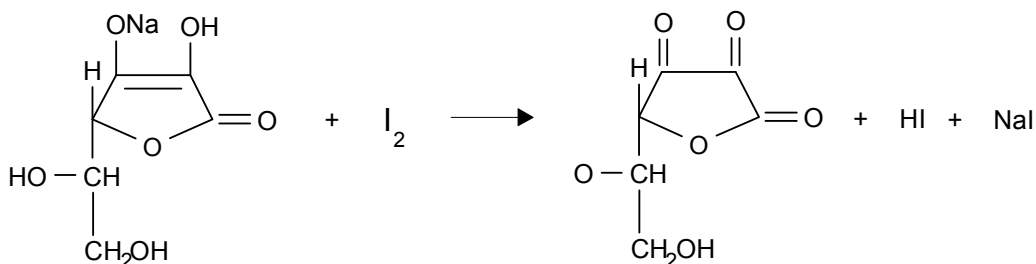
Если при титровании разными методами эквиваленты анализируемых веществ меняются, важно правильно рассчитать количества титрантов (см. пропись 16).

ПРОПИСЬ 16 *Раствора кислоты хлористоводородной 1% - 200,0 мл
Кислоты аскорбиновой 1,0*

Вначале определяют сумму кислот титрованием 0,1 н. раствором натрия гидроксида. При этом значение величины «z» при расчете молярной массы эквивалента $M(1/z)$ для каждого вещества равно 1:



Количество натрия гидроксида эквивалентно сумме кислоты хлористоводородной и кислоты аскорбиновой. Далее для определения кислоты аскорбиновой полученный аскорбинат натрия титруют 0,1 н. раствором йода:



При титровании кислоты аскорбиновой 0,1 н. раствором йода значение величины «z» при расчете $M(1/z)$ равно 2, а это означает, что на одну и ту же аликвотную долю смеси будет расходоваться 0,1 н. раствора йода в два раза больше, чем 0,1 н. раствора натрия гидроксида. Поэтому при расчете количе-

ства раствора, пошедшего на титрование кислоты хлористоводородной, из общего объема 0,1 н. раствора гидроксида натрия следует вычесть 1/2 объема 0,1 н. раствора йода, израсходованного на титрование кислоты аскорбиновой:

$$C_{\text{кислоты хлористовод. (\%)}} = \frac{(V_{\text{NaOH}} \cdot k_{\text{NaOH}} - \frac{V_{\text{I}_2}}{2} \cdot k_{\text{I}_2}) \cdot T_{\text{NaOH/HCl}} \cdot 100\%}{V_{\text{аликв.}}}$$

$$X_{\text{кислоты аскорбиновой(г)}} = \frac{V_{\text{I}_2} \cdot k_{\text{I}_2} \cdot T_{\text{I}_2/\text{к-та аскорб.}} \cdot V_{\text{лек. формы}}}{V_{\text{аликв.}}}$$

Содержание в лекарственных смесях веществ близких по химическому строению и свойствам (соли галогеноводородных кислот, сульфаниламиды и др.) затрудняет их раздельное определение общепринятыми титриметрическими методами.

Как исключение в подобных случаях допускается применять *средний ориентировочный титр* (СОТ) для определения суммы веществ. СОТ – это масса смеси определяемых веществ в граммах, соответствующая 1 мл титранта. Его величина зависит от значений титриметрических факторов пересчета ингредиентов смеси и соотношения этих веществ в лекарственной смеси.

Существует несколько способов расчета СОТ:

➤ Упрощенный вариант:

$$\text{СОТ} = \frac{C_1 \cdot T_1 + C_2 \cdot T_2 + \dots + C_n \cdot T_n}{C_1 + C_2 + \dots + C_n}$$

где $C_1, C_2 \dots C_n$ – концентрации веществ, входящих в лекарственную смесь;

$T_1, T_2 \dots T_n$ – титриметрические факторы пересчета (титры по определяемому веществу) веществ.

➤ При более точных определениях, а также при расчете СОР для лекарственных смесей по авторским прописям:

$$\text{COT} = \frac{T_1 \cdot T_2 (C_1 + C_2)}{C_1 \cdot T_2 + C_2 \cdot T_1}$$

или

$$\text{COT} = \frac{M_1 \left(\frac{1}{Z}\right) \cdot M_2 \left(\frac{1}{Z}\right) \cdot (C_1 + C_2) \cdot C_N}{\left(C_1 \cdot M_2 \left(\frac{1}{Z}\right) + C_2 \cdot M_1 \left(\frac{1}{Z}\right)\right) \cdot 1000}$$

где C_N – концентрация титрованного раствора, используемого для титрования суммы ингредиентов.

➤ С учетом прописанной массы ингредиентов:

$$\text{COT} = \frac{a \cdot T_1 + b \cdot T_2}{a + b}$$

где T_1 – титр по определяемому веществу первого ингредиента;

T_2 – титр по определяемому веществу второго ингредиента;

a – прописанная масса первого ингредиента, в г;

b – прописанная масса второго ингредиента, в г.

➤ С учетом различных количеств ингредиентов:

$$\text{COT} = \frac{a + b}{\frac{a}{T_1} + \frac{b}{T_2}}$$

обозначения – см. выше

Использование в расчетах среднего ориентировочного титра рассматривается на примере раствора Рингера (пропись 17).

ПРОПИСЬ 17 *Раствор Рингера:*

Состав:

Натрия хлорида 0,9

Калия хлорида 0,02

Кальция хлорида 0,02

Натрия гидрокарбоната 0,02

Воды для инъекций до 100,0 мл

Натрия и калия хлориды отдельно определить в данной прописи методиками, принятыми в экспресс-анализе, невозможно (кальция хлорид определяют комплексметрически). Сумму хлоридов натрия и калия рассчитывают по формуле:

$$X_{\text{NaCl + KCl (г)}} = \frac{\left(V_{\text{AgNO}_3} \cdot k_{\text{AgNO}_3} - \frac{V_{\text{Тр.Б.}}}{2} \cdot k_{\text{Тр.Б.}} \right) \cdot \text{СОТ}_{\text{AgNO}_3 / \text{NaCl + KCl}} \cdot V_{\text{лек. формы}}}{V_{\text{аликв.}}}$$

где V_{AgNO_3} – объем 0,1 н. раствора серебра нитрата, пошедший на титрование суммы хлоридов натрия, калия и кальция;

$V_{\text{Тр.Б.}}$ – объем трилона Б, пошедший на титрование кальция хлорида;

$T_{\text{AgNO}_3/\text{NaCl+KCl}}$ – средний ориентировочный титр (СОТ) при титровании натрия и калия хлоридов 0,1 н. раствором серебра нитрата.

Значение СОТ 0,1 н. раствора серебра нитрата для суммы натрия и калия хлоридов рассчитывают следующим образом:

$$\text{СОТ}_{\text{AgNO}_3 / \text{NaCl + KCl}} = \frac{0,9 + 0,02}{\frac{0,9}{0,005844} + \frac{0,02}{0,007456}} = 0,005872 \text{ г/мл}$$

Условный титр. Некоторые лекарственные вещества представляют собой комплексные соединения, состоящие из двух веществ (кофеин-бензоат натрия, эуфиллин, темисал и др.). Такие соединения в лекарственных смесях можно определять по входящим в них компонентам, содержание которых согласно требованиям ГФ и др. НД должно быть в строго определенных преде-

лах. Например, кофеин-бензоат натрия в экспресс-анализе чаще анализируют по бензоату натрия, которого в препарате должно быть 58 – 62%. Если пользоваться титром 0,01441 г/мл, исходя из М.м. натрия бензоата (144,1 г/моль) и титрантом – 0,1 н. раствором кислоты хлороводородной, то в результате получим содержание натрия бензоата в лекарственной форме. Для пересчета на кофеин-бензоат натрия полученный результат нужно дополнительно поделить на фактическое содержание (массовую долю) натрия бензоата в кофеине-бензоате натрия.

Чтобы не делать громоздких расчетов, можно использовать так называемый условный титр, пересчитанный на препарат. Для кофеина-бензоата натрия его определяют по формуле:

$$T_{\text{условн. коф.-бенз.натрия}} = \frac{0,01441 \cdot 100\%}{a}$$

где a – содержание натрия бензоата в данном образце кофеина-бензоата натрия (в %);

0,01441 – масса натрия бензоата (в г), соответствующая 1 мл 0,1 н. раствора кислоты хлороводородной.

Величина $T_{\text{условн.}}$ Может значительно колебаться. При содержании в кофеине-бензоате натрия 58% натрия бензоата $T_{\text{условн.}} = 0,02484$, а при 62% $T_{\text{условн.}} = 0,02324$. Поэтому для определения $T_{\text{условн.}}$ Необходимо знать содержание натрия бензоата в препарате.

Если таких данных нет, расчеты следует вести по среднему пределу содержания данного компонента в препарате. Так, при титровании 0,1 н. раствором кислоты хлороводородной эуфиллина по этилендиамину (содержание которого в комплексе находится в пределах 14 – 18%) $T_{\text{условн.}}$ Равен:

$$T_{\text{условн. эуфилл.}} = \frac{0,003005 \cdot 100\%}{16\%} = 0,01878 \text{ г/мл}$$

где 0,003005 – масса этилендиамина (в г), соответствующая 1 мл 0,1 н. раствора кислоты хлороводородной.

Коэффициент пересчета. При анализе комплексных соединений, состоящих из двух веществ, чаще пользуются коэффициентом пересчета на оп-

ределяемое вещество. Коэффициент пересчета – частное от деления массы (или 100%) всего комплексного соединения на массу (или массовую долю) определяемого вещества, являющегося компонентом комплекса. Например, если определять эуфиллин титрованием по теофиллину (содержание в препарате составляет 80 – 85%), то коэффициент пересчета составит 1,212 (100 : 82,5). При расчете количественного содержания эуфиллина в лекарственной смеси полученный результат нужно умножить на данный коэффициент, а при количественном определении препарата по этилендиамину коэффициент пересчета на эуфиллин (при содержании этилендиамина 16%) составит 6,25 (100 : 16).

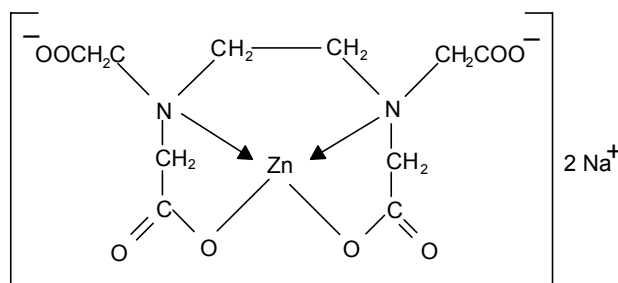
Анализ смесей лекарственных веществ без разделения компонентов

Если в состав смеси входят лекарственные вещества, близкие по химическим свойствам или растворимости, то их можно анализировать без предварительного разделения, прибегая к различным дополнительным приемам.

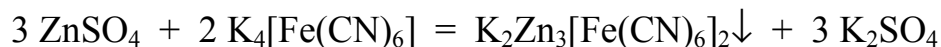
В случае анализа жидких лекарственных форм, содержащих соли неорганических соединений, протекают реакции гидролиза, мешающие кислотно-основному титрованию других компонентов смеси. Для получения точных результатов соль неорганической природы удаляют из реакционной среды путем осаждения. Этот прием лежит в основе количественного определения кислоты борной в сочетании с цинка сульфатом (пропись 18).

ПРОПИСЬ 18 *Раствора цинка сульфата 0,25% – 10,0 мл*
Кислоты борной 0,2

Для количественного определения цинка сульфата используют метод комплексонометрии. Ионы Zn^{2+} с комплексоном – трилоном Б – три хелатных цикла:



Кислоту борную определяют методом алкалиметрии. Однако в результате гидролиза цинка сульфата реакция среды становится кислой, что мешает определению кислоты борной. Поэтому цинка сульфат предварительно осаждают калия гексацианоферратом (II):



Затем кислоту борную титруют 0,1 н. раствором натрия гидроксида в присутствии глицерина (химизм см. пропись 25)

Методика. Цинка сульфат. К 1 мл раствора прибавляют 5 мл раствора 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 ZnSO_4 .

$$C_{\text{ZnSO}_4} = \frac{(V_{\text{Тр.Б О.О.}} - V_{\text{Тр.Б К.О.}}) \cdot k_{\text{Тр.Б}} \cdot T_{\text{Тр.Б/ZnSO}_4} \cdot 100\%}{1,0}$$

Кислота борная. К 0,5 мл раствора прибавляют 2 мл свежепрокипяченной охлажденной воды, 8 капель раствора калия гексацианоферрата (II), 5 – 6 мл нейтрализованного по фенолфталеину глицерина и титруют 0,1 н. раствором натрия гидроксида до розового окрашивания.

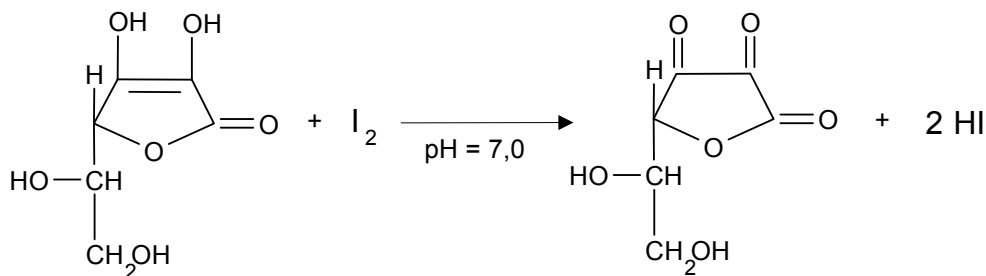
1 мл 0,1 н. раствора натрия гидроксида соответствует 0,006183 г H_3BO_3 .

$$X_{\text{H}_3\text{BO}_3(\text{г})} = \frac{V_{\text{NaOH}} \cdot k_{\text{NaOH}} \cdot T_{\text{NaOH/H}_3\text{BO}_3} \cdot 10,0}{0,5}$$

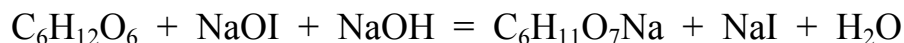
Пропись 15 содержит лекарственные вещества, проявляющие восстановительные свойства (аскорбиновая кислота – 0,1 г и глюкоза – 0,5 г), определяемые титрованием стандартным раствором йода. Однако изменение рН среды делает возможным их последовательное определение в одной навеске.

Кислота аскорбиновая, как более сильный восстановитель окисляется йодом в нейтральной среде до кислоты дегидроаскорбиновой.

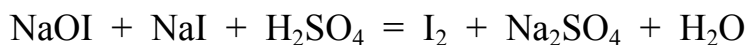
Оттитрованную жидкость используют для дальнейшего определения глюкозы методом обратной йодометрии. В полученный раствор добавляют щелочь и избыток стандартного раствора йода:



Образовавшийся натрия гипойодит окисляет глюкозу до натриевой соли кислоты глюконовой:

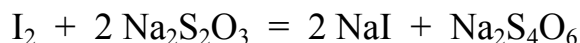


После добавления избытка раствора кислоты серной выделяется йод.



Следует учесть, что в данной реакции участвуют и йодид-ионы, полученные ранее при окислении кислоты аскорбиновой в эквивалентном к ней количестве. Это обстоятельство находит отражение в формуле последующего расчета содержания глюкозы.

Выделившийся йод оттитровывают стандартным раствором натрия тиосульфата:



Методика. Кислота аскорбиновая. Растворяют 0,2 г порошка в 3 – 5 мл воды и титруют 0,1 н. раствором йода до появления исчезающего желтого окрашивания (раствор сохраняют для дальнейшего определения глюкозы).

1 мл 0,1 н. раствора йода соответствует 0,008806 г кислоты аскорбиновой.

$$X_{\text{кислоты аскорб. (г)}} = \frac{V_{I_2} \cdot k_{I_2} \cdot T_{I_2/\text{к-та аскорб.}} \cdot 0,6}{0,2}$$

где 0,6 – масса одного порошка по прописи, в г;

0,2 – навеска порошка, в г.

Глюкоза. Оттитрованную жидкость количественно переносят в мерную колбу емкостью 25 мл, обмывая колбу для титрования водой. Объем доводят водой до метки и перемешивают. В склянку с притертой пробкой вносят 5 мл полученного раствора, 10 мл 0,1 н. раствора йода, 10 капель раствора натрия гидроксида. Склянку закрывают пробкой, перемешивают и ставят в темное место. Через 5 минут прибавляют 5 мл кислоты серной разведенной и выделившийся йод титруют 0,1 н. раствором натрия тиосульфата до исчезновения синего окрашивания (индикатор – крахмал).

$$X_{\text{глюкоза (г)}} = \frac{(10 - V_{Na_2S_2O_3} \cdot k_{Na_2S_2O_3} - \frac{5 \cdot V_{I_2}}{25} \cdot k_{I_2}) \cdot T_{I_2/\text{глюкоза}} \cdot 25 \cdot 0,6}{0,2 \cdot 5}$$

где 10 – объем 0,1 н. раствора йода, взятого в избытке, в мл;

$V_{Na_2S_2O_3}$ - объем 0,1 н. раствора натрия тиосульфата, пошедшего на титрование избытка раствора йода, в мл;

$\frac{5 \cdot V_{I_2}}{25}$ - объем 0,1 н. раствора йода, пошедшего на титрование кислоты аскорбиновой с учетом разбавления, в мл;

$T_{I_2/\text{глюкоза}}$ – титр 0,1 н. раствора йода по глюкозе равный 0,009909 г/мл;

25 – объем мерной колбы, в мл;

5 – объем аликвотной доли, в мл.

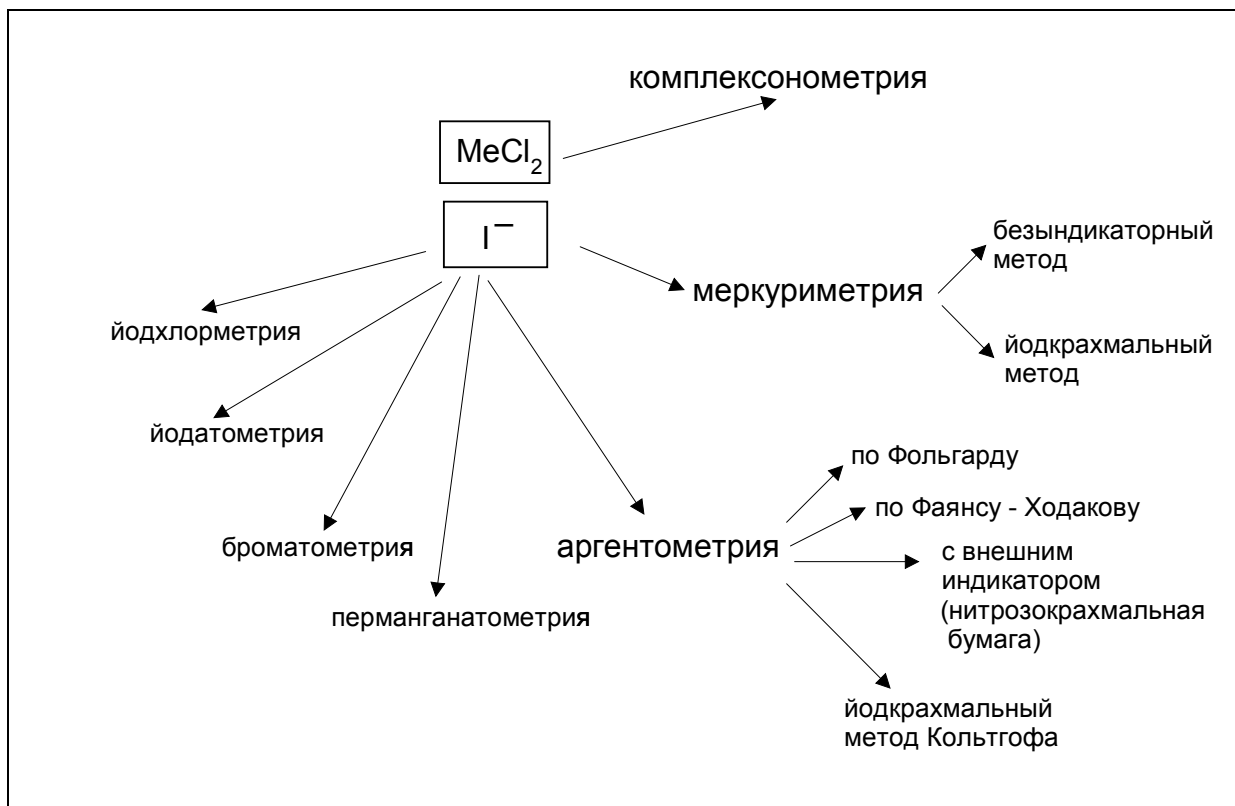
Определение галогенидов при совместном присутствии

Для определения йодидов в присутствии хлоридов (если хлориды находятся в виде соли с двухвалентным металлом, например кальция хлорид)

можно использовать три способа титрования в различных комбинациях. Это комплексонометрия, методы осаждения и окислительно-восстановительного титрования. На схеме представлены различные варианты количественного определения йодидов в присутствии хлоридов кальция или др. двухвалентных металлов.

Схема 1

Способы определения хлоридов и йодидов при совместном присутствии



Расчет содержания лекарственных веществ проводят по разности (в случае суммарного титрования йодидов и хлоридов), или по формуле прямого титрования (если йодиды и хлориды определяют отдельно).

В экспресс-анализе для количественного определения йодидов и хлоридов часто используют сочетание приведенных титриметрических методов с рефрактометрией.

Рассмотрим приведенную схему титрования на примере прописи 19.

ПРОПИСЬ 21 *Кальция хлорида 3,0*
Каля йодида 2,0
Воды очищенной 100,0 мл

Вариант I. Кальция хлорид определяют трилонометрически, а калия йодид – по методу Фаянса с индикатором эозинатом натрия (хлорид-ионы не мешают титрованию с индикатором эозинатом натрия).

Методика. Кальция хлорид. К 2 мл микстуры прибавляют 4 – 5 мл аммиачного буферного раствора, 0,1 г индикаторной смеси или 5 – 7 капель раствора кислотного хром темно-синего и титруют 0,05 М раствором трилона Б до сине-фиолетового окрашивания.

1 мл 0,05М раствора трилона Б соответствует 0,01095 г $\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$

$$X_{\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}(\text{г})} = \frac{V_{\text{Тр.Б}} \cdot k_{\text{Тр.Б}} \cdot T_{\text{Тр.Б}/\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}} \cdot 100}{2,0}$$

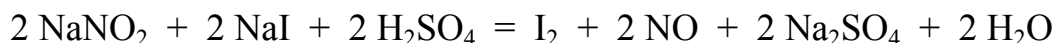
Калия йодид. К 2 мл микстуры прибавляют 1 мл разведенной кислоты уксусной, 3 – 5 капель раствора натрия эозината и титруют 0,1 н. раствором серебра нитрата до ярко-розового окрашивания осадка.

1 мл 0,1 н. раствора серебра нитрата соответствует 0,01660 г KI

$$X_{\text{KI}(\text{г})} = \frac{V_{\text{AgNO}_3} \cdot k_{\text{AgNO}_3} \cdot T_{\text{AgNO}_3/\text{KI}} \cdot 100}{2,0}$$

Аргентометрическое титрование йодидов можно проводить с применением внешнего индикатора – нитрозо-крахмальной бумаги.

Вариант II. Кальция хлорид определяют трилонометрически, а калия йодид – методом аргетометрии с применением внешнего индикатора. Определение конечной точки титрования основано на реакции йодидов с нитритом натрия в кислой среде:



Титрование стандартным 0,1 н. раствором серебра нитрата проводят до тех пор, пока капля реакционной среды, нанесенная на нитрозо-крахмальную бумагу, не будет вызывать ее посинения вследствие выделения йода.

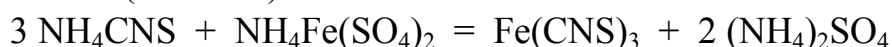
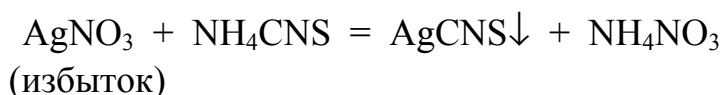
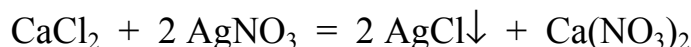
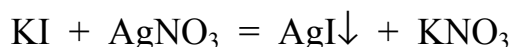
Для получения более точных результатов необходимо предварительно рассчитать объем 0,1 н. титрованного раствора серебра нитрата, который должен пойти на титрование взятой навески. Можно также провести вначале ориентировочное титрование.

В данном случае $V_{\text{теорет.}} 0,1$ н. раствора серебра нитрата, необходимый для титрования 1 мл микстуры с содержанием 0,02 г калия йодида, рассчитывают по формуле:

$$V_{\text{теорет. AgNO}_3} = \frac{m_{\text{KI}}}{T_{\text{AgNO}_3 / \text{KI}}} = \frac{0,02}{0,01660} = 1,20 \text{ мл}$$

Следует отметить, что определению йодидов по реакции с натрия нитритом не мешают хлориды и бромиды.

Кроме приведенных вариантов аргентометрического титрования, возможно определять сумму калия йодида и кальция хлорида по методу Фольгарда или Фаянса (с индикатором бромфеноловым синим), а затем содержание калия йодида рассчитывать по разности между объемом титрованного раствора, израсходованным на титрование суммы галогенидов, и объемом трилона Б, пошедшим на титрование кальция хлорида:



$$X_{\text{KI(r)}} = \frac{(V_{\text{AgNO}_3} \cdot k_{\text{AgNO}_3} - V_{\text{NH}_4\text{CNS}} \cdot k_{\text{NH}_4\text{CNS}} - \frac{V_{\text{Тр.Б}} \cdot k_{\text{Тр.Б}}}{2}) \cdot T_{\text{AgNO}_3} \cdot V_{\text{лек. формы}}}{V_{\text{аликв.}}}$$

Определение $\text{CaCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ проводят трилонометрически (расчет – см. вариант I).

Вариант III. Йодкрахмальным методом Кольтгофа используют для определения йодидов в присутствии хлоридов и бромидов. В реакционную смесь, содержащую йодиды, прибавляют 1 каплю 0,1 н. раствора калия йодата, раствор крахмала и раствор серной кислоты разведенной. В результате реакции образуется йод, окрашивающий крахмал в синий цвет:



Окрашивание йодкрахмального комплекса устойчиво лишь в присутствии йодид-ионов. Если их связать серебра нитратом, синяя окраска раствора исчезает. На резкость изменения окраски влияет количество прибавленной воды. В экспресс-анализе объем раствора должен быть около 15 мл. Метод дает хорошие результаты при титровании йодидов в присутствии хлоридов, если концентрация последних не превышает концентрацию йодидов более чем в три раза.

Метод также удобен при определении йодидов в присутствии алкалоидов пуринового ряда и других оснований, барбитуратов, оснований. Однако его нельзя применять для анализа, содержащих лекарственные вещества, с которыми может взаимодействовать йод (кислота аскорбиновая, натрия салицилат и др.).

В присутствии бромидов титрование затруднено, а переход окраски от синей через серую до желтой наступает не резко. Поэтому до прибавления раствора кислоты серной к реакционной смеси приливают 5 мл 10% раствора аммония карбоната.

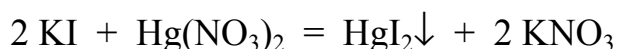
Методика. Калия йодид. К 2 мл микстуры прибавляют 10 – 15 мл воды, 1 каплю 0,1 н. раствора калия йодата, 2 мл свежеприготовленного раствора крахмала и по каплям серную кислоту разведенную до появления синего окрашивания жидкости. Далее титруют 0,1 н. раствором серебра нитрата до перехода синего окрашивания в желтое.

1 мл 0,1 н. раствора серебра нитрата соответствует 0,0166 г KI.

Расчеты содержания калия йодида и кальция хлорида шестиводного – см. вариант I.

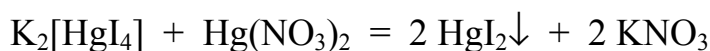
Вариант IV. Количественное определение обоих компонентов можно провести методом меркуриметрии в одной навеске.

Калия йодид определяют безындикаторным методом Кольтгофа, основанным на растворении оранжевого осадка ртути дийодида в избытке калия йодида с образованием бесцветного комплекса:



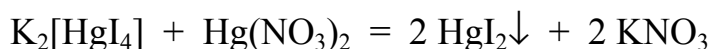
После того как все свободные йодиды перейдут в комплекс тетраидомеркурата калия, избыточная капля титрованного раствора ртути (II)

нитрата, вступая во взаимодействие с частью комплексного иона, вновь образует нерастворимый оранжевый осадок ртути дийодида, свидетельствующий о конце титрования:

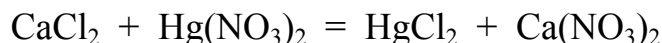


При определении без индикатора йодид-ионы взаимодействуют фактически до комплексного соединения $\text{K}_2[\text{HgI}_4]$, поэтому в данном случае $z = 2$.

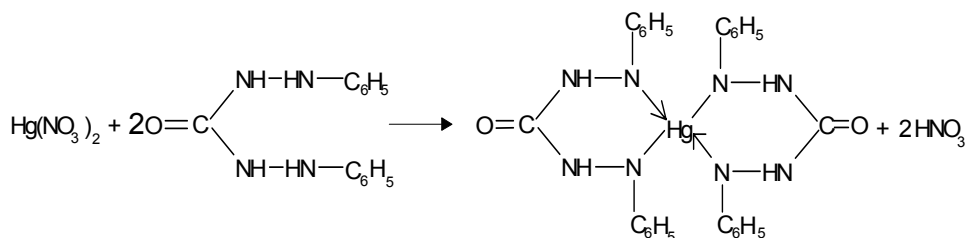
Для определения кальция хлорида к оттитрованной жидкости прибавляют в качестве индикатора раствор дифенилкарбазона и титруют стандартным раствором ртути(II) нитрата до фиолетового окрашивания. При этом ртути (II) нитрат сначала разрушает полученное ранее комплексное соединение:



Затем взаимодействует с кальция хлоридом:



Избыточная капля ртути (II) нитрата реагирует с дифенилкарбазоном, образуя комплекс фиолетового цвета:



Методика. Калия йодид. 2 мл микстуры титруют 0,1 н. раствором ртути (II) нитрата до появления не исчезающей красно-оранжевой мути.

1 мл 0,1 н. раствора ртути (II) нитрата соответствует 0,03320 г KI

$$X_{\text{KI}(r)} = \frac{V_{\text{Hg}(\text{NO}_3)_2} \cdot k_{\text{Hg}(\text{NO}_3)_2} \cdot T_{\text{Hg}(\text{NO}_3)_2 / \text{KI}} \cdot 100,0}{2,0}$$

где $V_{\text{Hg}(\text{NO}_3)_2}$ – объем 0,1 н. раствора ртути (II) нитрата, пошедший на титрование калия йодида (в мл).

Кальция хлорид. К оттитрованной жидкости прибавляют 5 – 7 капель раствора дифенилкарбазона, 1 – 2 капли раствора кислоты азотной разведенной и титруют 0,1 н. раствором ртути (II) нитрата до фиолетового окрашивания.

1 мл 0,1 н. раствора ртути (II) нитрата соответствует 0,01095 г $\text{CaCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$

$$X_{\text{CaCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O} (\text{г})} = \frac{(V_{1 \text{Hg}(\text{NO}_3)_2} - V_{\text{Hg}(\text{NO}_3)_2}) \cdot k_{\text{Hg}(\text{NO}_3)_2} \cdot T_{\text{Hg}(\text{NO}_3)_2 / \text{CaCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}} \cdot 100,0}{2,0}$$

где $V_{\text{Hg}(\text{NO}_3)_2}$ – объем 0,1 н. раствора ртути (II) нитрата, пошедший на титрование калия йодида, в мл;

$V_{1 \text{Hg}(\text{NO}_3)_2}$ – объем 0,1 н. раствора ртути (II) нитрата, пошедший на титрование суммы калия йодида и кальция хлорида, в мл

Титрование указанных галогенидов солями Hg^{2+} протекает легко, но если в состав смеси входят соли алкалоидов или других азотистых оснований, содержащих третичный или четвертичный атом азота, то образующийся при титровании комплекс $\text{K}_2[\text{HgI}_4]$ действует по типу общеалкалоидного реактива Майера и, следовательно, может давать осадки.

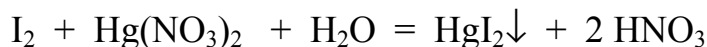
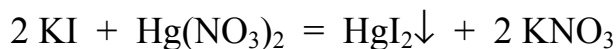
Барбитураты и сульфаниламиды также образуют осадки с солями Hg^{2+} , но при подкислении раствором кислоты азотной (по бромфеноловому синему) титрование возможно в их присутствии (лучше с добавлением эфира).

Соли Hg^{2+} способны восстанавливаться до металлической ртути ($E^0_{\text{Hg}^{2+}/\text{Hg}} = +0,854 \text{ v}$), если в лекарственную смесь входят сильные восстановители (кислота аскорбиновая, натрия тиосульфат и др.), поэтому меркуриметрическое титрование в их присутствии общепринятыми методиками невозможно. Влияние кислоты аскорбиновой можно исключить прибавлением эквивалентного количества титрованного раствора церия (IV) сульфата до появления исчезающего желтого окрашивания.

Вариант V. Кальция хлорид определяют трилонометрически, а калия йодид – йодкрахмальным методом (с применением в качестве титрованного раствора ртути (II) нитрата).

Механизм реакции аналогичен титрованию йодидов по методу Кольтгофа с применением в качестве титранта раствора серебра нитрата. Точку экви-

валентности устанавливают по исчезновению окраски йодкрахмального комплекса, синяя окраска которого изменяется через буроватую до чистой розовато-оранжевой:



Титрованию калия йодида не мешают кислота борная, рибофлавин, эуфиллин, натрия бензоат, натрия гидрокарбонат, прозерин.

Методика. Калия йодид. К 2 мл микстуры прибавляют 2 мл воды, 1 каплю 0,1 н. раствора калия йодата, 0,5 мл раствора крахмала растворимого, по каплям серную кислоту разведенную до появления устойчивого синего окрашивания и титруют 0,1 н. раствором ртути (II) нитрата до перехода синего окрашивания (через бурое) в яркое розово-оранжевое.

1 мл 0,1 н. раствора ртути (II) нитрата соответствует 0,01660 г KI

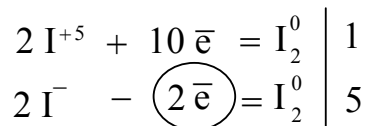
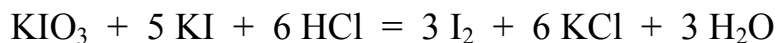
Расчет содержания $\text{CaCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ – см. вариант I.

Расчет содержания KI см. – вариант IV.

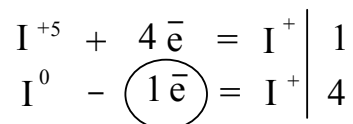
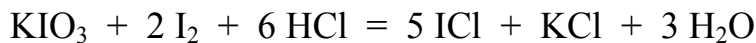
Помимо приведенных методик определения калия йодида методами осадительного титрования в экспресс-анализе широко применяются окислительно-восстановительные способы титрования.

Вариант VI. Кальция хлорид определяют трилонометрически, а калия йодид – методом йодатометрии.

Йодид-ионы окисляются калия йодатом в среде кислоты хлороводородной сначала до йода:



Затем выделившийся йод титруют до йодмоноклорида:



При расчете молярной массы эквивалента – $M(1/z)$, $z = 3$.

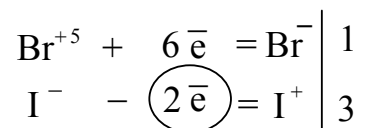
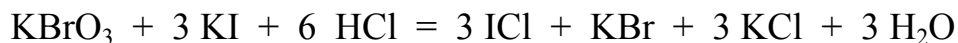
Методика. К 1 мл смеси добавляют 5 мл раствора кислоты хлороводородной 1 : 1 (готовится из 37% раствора кислоты хлороводородной), 1 мл раствора крахмала растворимого и быстро титруют 0,1 н. раствором калия йодата до появления светло бурой окраски. Затем титрование проводят медленно, по каплям, до перехода окраски в лимонно-желтую.

1 мл 0,1 н. раствора калия йодата соответствует 0,005533 г KI.

$$X_{\text{KI}(r)} = \frac{V_{\text{KIO}_3} \cdot k_{\text{KIO}_3} \cdot T_{\text{KIO}_3 / \text{KI}} \cdot 100,0}{1,0}$$

Расчет содержания $\text{CaCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ – см. вариант I.

Вариант VII. Кальция хлорид определяют трилометрически, калия йодид – броматометрически. Йодид-ионы окисляются калия броматом в среде кислоты хлороводородной до йодмоноклорида:



При расчете молярной массы эквивалента – $M(1/z)$, $z = 2$.

Методика. К 1 мл микстуры прибавляют 5 мл раствора кислоты хлороводородной 1 : 1 (готовится из 37% раствора кислоты хлороводородной), 1 мл раствора крахмала и титруют 0,1 н. раствором калия бромата до перехода бурой окраски раствора в лимонно-желтую.

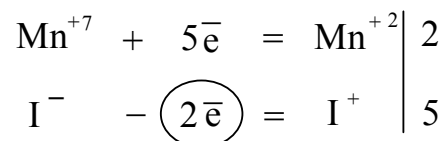
1 мл 0,1 н. раствора калия бромата соответствует 0,0083005 г KI.

$$X_{\text{KI}(r)} = \frac{V_{\text{KBrO}_3} \cdot k_{\text{KBrO}_3} \cdot T_{\text{KBrO}_3 / \text{KI}} \cdot 100,0}{1,0}$$

Расчет содержания $\text{CaCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ – см. вариант I.

Вариант VIII. Кальция хлорид определяют трилонометрически, калия йодид – методом перманганатометрии.

Йодид-ионы окисляются калия перманганатом в среде кислоты хлороводородной разведенной:



При расчете молярной массы эквивалента – $M(1/z)$, $z = 2$.

Определению йодидов не мешает присутствие в лекарственных смесях других галогенидов, сульфатов, фосфатов, рибофлавина, тиамин бромид, глутаминовой кислоты, теофиллина, эуфиллина, кофеина-бензоата натрия, эфедрина гидрохлорида.

Мешают титрованию сильные восстановители: кислота аскорбиновая, натрия тиосульфат, цистеин, ароматические амины, фенолы и их производные и другие лекарственные вещества, которые могут реагировать с калия перманганатом или образующимся при титровании йодмоноклоридом.

Методика. К 1 мл микстуры прибавляют 5 мл раствора кислоты хлороводородной 1 : 1 (готовится из 37% раствора хлороводорода) и титруют 0,1 н. раствором калия перманганата до появления светло-бурой окраски раствора. Затем прибавляют 1 мл раствора крахмала растворимого и снова титруют по каплям до перехода окраски в лимонно-желтую.

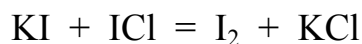
1 мл 0,1 н. раствора калия перманганата соответствует 0,0083005 г KI.

$$X_{\text{KI}(r)} = \frac{V_{\text{KMnO}_4} \cdot k_{\text{KMnO}_4} \cdot T_{\text{KMnO}_4/\text{KI}} \cdot 100,0}{1,0}$$

Расчет содержания $\text{CaCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ см. вариант I.

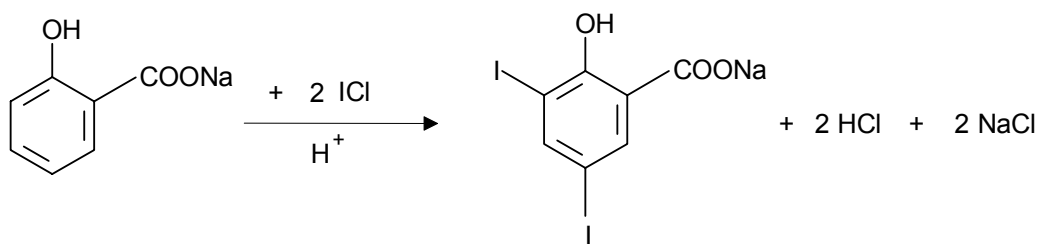
Вариант IX. Кальция хлорид определяют трилонометрически, калия йодид – методом йодхлорметрии.

Сущность метода заключается в следующем: к аликвотной части смеси, содержащей калия йодид, прибавляют избыток 0,1 н. раствора йодмоноклорида. При этом протекает реакция:

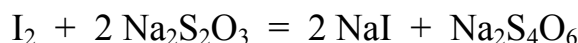


Количество выделившегося йода эквивалентно вступившим в реакцию йодид-ионам, поэтому при расчете молярной массы эквивалента – $M(1/z)$, $z = 1$.

Для связывания избытка йодмоноклорида в реакционную среду прибавляют натрия салицилат:



Через несколько минут выделившийся йод оттитровывают 0,1 н. стандартным раствором натрия тиосульфата:



Йодхлорметрическому определению йодидов не мешают хлориды, но мешают бромиды.

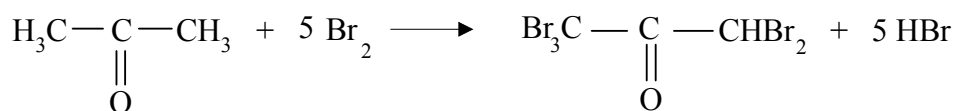
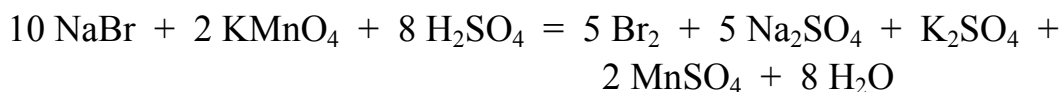
Методика. К 1 мл смеси прибавляют избыток (10 – 20 мл) 0,1 н. раствора йодмоноклорида и взбалтывают. Затем прибавляют 100 мл воды и 5 – 10 мл 1% раствора натрия салицилата. Через 3 – 5 минут выделившийся йод титруют 0,1 н. раствором натрия тиосульфата.

$$X_{\text{KI}(r)} = \frac{(V_{\text{ICl}} \cdot k_{\text{ICl}} - V_{\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3} \cdot k_{\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3}) \cdot T_{\text{ICl/KI}} \cdot 100,0}{1,0}$$

Расчет содержания $\text{CaCl}_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ – см. вариант I.

Вариант X. Анализ можно осуществить с использованием метода рефрактометрии. Вначале проводят трилометрическое определение кальция хлорида шестиводного, а затем определяют показатель преломления лекарственной смеси относительно воды.

Для количественного определения *хлоридов в сочетании с бромидами* в виде солей одновалентных металлов бромид-ионы окисляют калия перманганатом до свободного брома и далее удаляют образовавшийся бром путем превращения его в пентабромацетон:



После этого в растворе остаются только хлорид-ионы, которые определяют по методу Фольгарда.

Для определения бромидов сумму галогенидов титруют по методу Мора или определяют меркуриметрическим методом.

Примером служит анализ прописи 20.

ПРОПИСЬ 20 *Натрия бромида*

Натрия хлорида по 3,0

Воды очищенной до 100,0 мл

Определение натрия хлорида проводят после окисления бромид-ионов калия перманганатом и перевода образовавшегося брома в связанное состояние в виде пентабромацетона. Избыток калия перманганата удаляют водородом пероксидом и проводят определение натрия хлорида по методу Фольгарда.

В другой навеске определяют сумму галогенидов argentометрическим или меркуриметрическими методами и расчет натрия бромида осуществляют по разности количеств титрантов первого и второго титрований.

Методика. Натрия хлорид. К 1 мл микстуры прибавляют 3 – 5 мл воды, по 3 мл серной кислоты разведенной и ацетона и по каплям 5% раствор калия перманганата до устойчивого в течение 10 минут розового окрашива-

ния. Через 10 минут избыток калия перманганата удаляют осторожным прибавлением по каплям 3% раствора водорода пероксида. К обесцвеченному раствору прибавляют 10 мл 0,1 н. серебра нитрата, 15 – 20 капель раствора квасцов железоаммониевых и титруют 0,1 н. раствором аммония роданида до буровато-оранжевого окрашивания раствора над осадком.

1 мл 0,1 н. раствора серебра нитрата соответствует 0,005844 г NaCl.

$$X_{\text{NaCl (г)}} = \frac{(10,0 \cdot k_{\text{AgNO}_3} - V_{\text{NH}_4\text{CNS}} \cdot k_{\text{NH}_4\text{CNS}}) \cdot T_{\text{AgNO}_3 / \text{NaCl}} \cdot 100,0}{1,0}$$

Натрия бромид. 1) К 1 мл микстуры прибавляют 5 – 7 капель раствора калия хромата и титруют 0,1 н. раствором серебра нитрата до оранжево-желтого окрашивания.

1 мл 0,1 н. раствора серебра нитрата соответствует 0,01029 г NaBr.

2) К 1 мл микстуры прибавляют 5 – 8 капель раствора дифенилкарбазона, 1 – 2 капли кислоты азотной разведенной и титруют 0,1 н. раствором ртути (II) нитрата до фиолетового окрашивания.

1 мл 0,1 н. раствора ртути (II) нитрата соответствует 0,01029 г NaBr

$$X_{\text{NaBr (г)}} = \frac{[V_1 \cdot k_1 - (10,0 - V_{\text{NH}_4\text{CNS}} \cdot k_{\text{NH}_4\text{CNS}})] \cdot T_{\text{титрант} / \text{NaBr}} \cdot 100,0}{1,0}$$

где V_1 – объем 0,1 н. раствора серебра нитрата или 0,1 н. раствора ртути (II) нитрата, пошедший на титрование суммы галогенидов, в мл;

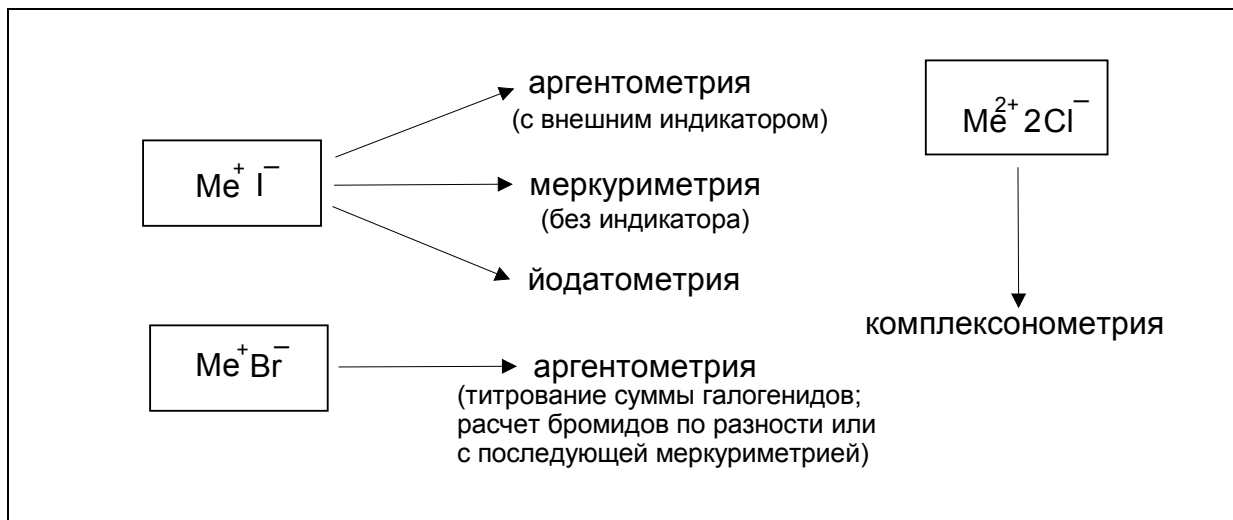
k_1 – поправочный коэффициент к титрованным растворам серебра нитрата или ртути (II) нитрата.

Более сложной задачей является анализ лекарственных смесей, содержащих одновременно йодид-, бромид- и хлорид-ионы. В некоторых из подобных смесей содержат йоды и бромиды в виде солей одновалентных металлов, а хлориды – в виде солей с двухвалентными металлами. Схемы анализа подобных смесей могут быть различными. Особый интерес при этом представ-

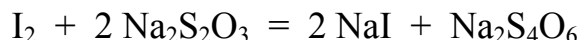
ляет сочетание методов осаждения и окислительно-восстановительных методов (см. схему 2).

Схема 2

Анализ лекарственных смесей суммы галогенидов



Более простой вариант титрования основан на различии окислительно-восстановительных свойств йодидов и бромидов. Йодид как более сильный восстановитель окисляется стандартным раствором натрия нитрита (добавляют избыток титранта) до свободного йода. Затем избыток натрия нитрита удаляют с помощью мочевины. Выделившийся в эквивалентном к йодиду количестве йод оттитровывают стандартным раствором натрия тиосульфата:



Предложенную схему иллюстрирует анализ прописи 21.

ПРОПИСЬ 21 *Каляя йодида*

Каляя бромида по 4,0

Раствора кальция хлорида из 10,0 – 200,0 мл

Кальция хлорид определяют методом трилонометрии.

Калия бромид определяют методом рефрактометрии.

Калия йодид определяют методом йодометрии (заместительное титрование).

Методика. Калия йодид. К 1 мл микстуры прибавляют 5 – 6 капель кислоты серной разведенной, 0,04 г мочевины и медленно по каплям при частом взбалтывании 2 мл 0,1 М раствора натрия нитрита и оставляют на 5 – 10 минут в темном месте в закрытой колбе. 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 крахмала.

1 мл 0,1 М раствора натрия тиосульфата соответствует 0,01660 г KI

$$X_{\text{KI(r)}} = \frac{V_{\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3} \cdot k_{\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3} \cdot T_{\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3 / \text{KI}} \cdot 200,0}{1,0}$$

Кальция хлорид. 1 мл раствора помещают в мерный цилиндр емкостью 10 мл и объем доводят водой до метки. К 2 мл полученного раствора прибавляют 2 мл аммиачного буферного раствора, 0,02 г индикатора кислотного хром темно-синего и титруют 0,05 М раствором трилона Б до синефиолетового окрашивания.

1 мл 0,05 М раствора трилона Б соответствует 0,01095 г CaCl₂ · 6H₂O

$$X_{\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O (r)}} = \frac{V_{\text{Тр.Б}} \cdot k_{\text{Тр.Б}} \cdot T_{\text{Тр.Б}/\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}} \cdot 10,0 \cdot 200,0}{1,0 \cdot 2,0}$$

Калия бромид. Определяют рефрактометрически.

Анализ смесей, содержащих вещества с различными кислотными и окислительно-восстановительными свойствами

Если два ингредиента смеси обладают кислотными свойствами, а один из них является восстановителем, то возможно количественное определение в одной навеске. Примером такой лекарственной смеси является пропись 22.

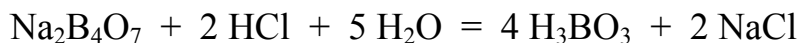
ПРОПИСЬ 24 *Кислоты глутаминовой 0,3*
Кислоты аскорбиновой 0,1

Определение *натрия гидрокарбоната и натрия тетрабората* также можно провести в одной навеске на основании того, что при ацидиметрическом титровании смеси образуется эквивалентное натрия тетраборату количество кислоты борной, которое определяется методом алкалометрии.

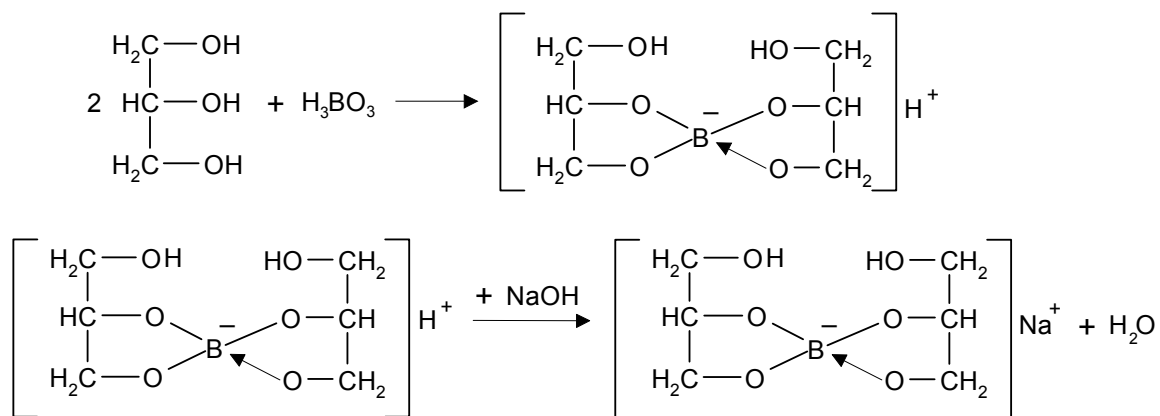
Примером является пропись 23.

ПРОПИСЬ 23 *Натрия хлорида 0,2*
Натрия гидрокарбоната
Натрия тетрабората по 0,4
Воды очищенной до 40,0 мл

Смесь титруют стандартным раствором кислоты хлороводородной, объемом которой соответствует сумме натрия гидрокарбоната и натрия тетрабората:



Выделившуюся борную кислоту в присутствии глицерина титруют стандартным раствором натрия гидроксида:



Количество 0,1 н. раствора натрия гидроксида используют для расчета натрия тетрабората. А натрия гидрокарбонат определяют по разности между объемами стандартных растворов кислоты хлороводородной и натрия гидроксида, учитывая, что объем 0,1 н. раствора натрия

Методика. Натрия хлорид. К 1 мл раствора прибавляют 3 – 4 капли раствора бромфенолового синего и по каплям кислоту уксусную разведенную до

прекращения выделения пузырьков углерода (IV) оксида и появления зелено-вато-желтого окрашивания и титруют 0,1 н. раствором серебра нитрата до окрашивания осадка в фиолетовый цвет.

1 мл 0,1 н. раствора серебра нитрата соответствует 0,005844 г NaCl.

$$X_{\text{NaCl (г)}} = \frac{V_{\text{AgNO}_3} \cdot k_{\text{AgNO}_3} \cdot T_{\text{AgNO}_3/\text{NaCl}} \cdot 40,0}{1,0}$$

Натрия тетраборат и натрия гидрокарбонат. К 1 мл раствора прибавляют 3 мл свежeproкипяченной охлажденной воды, 2 – 3 капли метилового оранжевого и титруют 0,1 н. раствором кислоты хлороводородной до появления розового окрашивания.

Оттитрованный раствор нагревают до кипения (для удаления углекислоты), охлаждают, прибавляют 2 мл нейтрализованного по фенолфталеину глицерина и титруют 0,1 н. раствором натрия гидроксида.

1 мл 0,1 н. раствора натрия гидроксида соответствует 0,009534 г $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10 \text{H}_2\text{O}$.

$$X_{\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10 \text{H}_2\text{O (г)}} = \frac{V_{\text{NaOH}} \cdot k_{\text{NaOH}} \cdot T_{\text{NaOH}/\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10 \text{H}_2\text{O}} \cdot 40,0}{1,0}$$

Содержание натрия гидрокарбоната определяют по формуле:

$$X_{\text{NaHCO}_3 \text{ (г)}} = \frac{(V_{\text{HCl}} \cdot k_{\text{HCl}} - \frac{V_{\text{NaOH}}}{2} \cdot k_{\text{NaOH}}) \cdot T_{\text{HCl}/\text{NaHCO}_3} \cdot 40,0}{1,0}$$

1 мл 0,1 н. раствора кислоты хлороводородной соответствует 0,008400 г NaHCO_3 (натрия гидрокарбоната).

Расчет содержания ингредиентов смеси по разности возможен с использованием двух и более титрованных растворов, как, например, в прописи 24.

ПРОПИСЬ 24 *Кислоты аскорбиновой 0,2*
Пиридоксина гидрохлорида 0,05

Кислоты никотиновой 0,02

Сумму трех кислот – аскорбиновой, никотиновой и хлороводородной (пиридоксина гидрохлорид является солью слабого основания и сильной кислоты) – определяют алкалиметрически с применением 0,1 н. раствора натрия гидроксида.

Кислоту аскорбиновую (как восстановитель) определяют методом йодометрии в отдельной навеске 0,1 н. раствором йода.

Пиридоксина гидрохлорид определяют аргентометрически.

Расчет содержания кислоты никотиновой проводят по разности титрований с учетом эквивалентных объемов титрантов.

Методика. Кислота аскорбиновая, кислота никотиновая, пиридоксина гидрохлорид. Точную навеску, соответствующую массе одного порошка, помещают в мерную колбу емкостью 50 мл, растворяют в 10 мл воды, добавляют 1 – 2 капли нейтрального красного и титруют 0,1 н. раствором натрия гидроксида до желтого окрашивания. Объем оттитрованного раствора доводят водой до метки (раствор А).

Кислота аскорбиновая. К 10 мл раствора А прибавляют 1 мл раствора крахмала и титруют 0,1 н. раствором йода до синего окрашивания.

1 мл 0,1 н. раствора йода соответствует 0,008806 г кислоты аскорбиновой.

$$X_{\text{кислоты аскорб. (г/ 1 порошок)}} = \frac{V_{\frac{1}{2}} \cdot k_{\frac{1}{2}} \cdot T_{\frac{1}{2}/\text{к-та аскорб.}} \cdot 50,0 \cdot 0,27}{10,0 \cdot a}$$

где a – масса навески, в г;

10,0 – объем аликвотной части, в мл;

50,0 – объем разведения, в мл;

0,27 – масса порошка по прописи.

Пиридоксина гидрохлорид. К 10 мл раствора А прибавляют 2-3 капли бромфенолового синего, по каплям кислоту уксусную разведенную до получения зеленовато-желтого окрашивания и титруют 0,1 н. раствором серебра нитрата до сине-фиолетового окрашивания.

1 мл 0,1 н. раствора серебра нитрата соответствует 0,02056 г $C_8H_{11}NO_3 \cdot HCl$ (пиридоксина гидрохлорида).

$$X_{\text{пиридоксин г/х (г/ 1 порошок)}} = \frac{V_{AgNO_3} \cdot k_{AgNO_3} \cdot T_{AgNO_3/\text{пиридоксин г/х}} \cdot 50,0 \cdot 0,27}{10,0 \cdot a}$$

Содержание кислоты никотиновой в граммах на один порошок рассчитывают по формуле:

$$X_{\text{кислоты никотин. (г/ 1 порошок)}} = \frac{\left(\frac{V_{NaOH}}{5} \cdot k_{NaOH} - \frac{V_{I_2}}{2} \cdot k_{I_2} - V_{AgNO_3} \cdot k_{AgNO_3} \right) \cdot T_{NaOH/\text{к-та никот}} \cdot 0,27}{a}$$

где $V_{NaOH}/5$ – объем 0,1 н. раствора натрия гидроксида, пошедший на титрование суммы ингредиентов с учетом последовательного титрования лекарственных веществ, в мл.

1 мл 0,1 н. раствора натрия гидроксида соответствует 0,01231 г $C_6H_5O_2N$ (кислоты никотиновой).

Определение ингредиентов смесей с различными кислотно-основными свойствами

Если в состав смеси входят вещества, отличающиеся по своим кислотным или основным свойствам, то их определение возможно в одной пробе методом нейтрализации путем последовательного титрования с различными индикаторами. Таким образом могут быть определены смеси, содержащие кислоты, основания, а также соли, образованные сильными основаниями и слабыми кислотами или сильными кислотами и слабыми основаниями.

Известно, что при титровании сильных кислот и сильных оснований можно применять любые индикаторы, предназначенные для метода нейтрализации и имеющие интервал перехода окраски от рН 4 до рН 10, так как в результате реакции образуется вода и негидролизующаяся соль и реакция среды раствора становится нейтральной.

При добавлении избытка титрованного раствора концентрация ионов H_3O^+ или OH^- в растворе быстро возрастает, что приводит к резкому изменению цвета индикатора.

При титровании слабых кислот, слабых оснований или солей, подвергающихся гидролизу, следует подбирать индикатор таким образом, чтобы среднее значение рН интервала перехода окраски индикатора совпало с рН среды в конечной точке титрования или находилось вблизи его.

При титровании сильных кислот сильными основаниями (и наоборот) вблизи конца титрования происходит резкий скачок рН. При титровании слабых кислот, слабых оснований или их солей скачок рН значительно меньше. В этих случаях для выбора индикатора рассчитывают значение рН в точке эквивалентности с использованием констант ионизации по следующим формулам:

➤ для титрования слабой кислоты сильным основанием:

$$\text{pH} = 7 + \frac{1}{2} \text{pK}_a + \frac{1}{2} \lg C$$

➤ для титрования слабого основания сильной кислотой:

$$\text{pH} = 7 - \frac{1}{2} \text{pK}_b - \frac{1}{2} \lg C$$

➤ для титрования солей, образованных сильными основаниями и слабыми кислотами:

$$\text{pH} = \frac{\text{pK}_a}{2} - \frac{1}{2} \lg C$$

где pK – отрицательный десятичный логарифм константы ионизации;

C – концентрация соли или кислоты, образующихся в конце титрования, г-моль/л.

Таким образом, при титровании смесей слабых кислот или оснований, или солей возможно последовательное – ступенчатое – титрование с использованием различных индикаторов при наличии двух резких скачков рН. Такое раздельное титрование возможно, если отношение величин констант диссо-

циации компонентов смеси не меньше $10^3 - 10^4$. Если это отношение меньше, ступенчатое титрование невозможно.

При выборе индикаторов для последовательного титрования необходимо учитывать вклад каждого компонента в суммарную величину рН раствора.

Расчет рН в первой точке эквивалентности проводят по формуле:

$$\text{pH}_1 = \frac{\text{pK}_{a_1} + \text{pK}_{a_2}}{2}$$

Для второй точки эквивалентности расчет проводят по формулам 27, 28, 29 с учетом концентрации вещества, образующегося в конце второго титрования.

При кислотно-основном титровании смесей веществ, близких по свойствам, эквивалентную точку лучше устанавливать потенциометрически (индикаторный электрод – стеклянный; электрод сравнения – каломельный или хлор-серебряный).

Установление точки эквивалентности с помощью потенциометра дает возможность с большей точностью и воспроизводимостью, чем индикаторное титрование, анализировать лекарственные вещества в сильно окрашенных жидкостях (например, определять соли алкалоидов и азотистых оснований в присутствии метиленового синего), исключать индикаторную ошибку, особенно при титровании разбавленных растворов.

Кривая потенциометрического титрования, позволяющая судить о ходе изменения рН в процессе титрования, может быть использована и при подборе индикаторов для определения ингредиентов смеси, особенно если в одной пробе проводят титрование по разным индикаторам. Зная величины рН, соответствующие эквивалентным точкам для каждого вещества, легко подобрать кислотно-основной индикатор.

Большие возможности в определении близких по химическим свойствам веществ дает метод кислотно-основного титрования в среде неводных растворителей. С помощью дифференцирующих растворителей (кислота уксусная ледяная, ангидрид уксусный, диметилформамид и их смеси с хлороформом, диоксаном, бензолом) можно добиться значительного различия в кислотно-основных свойствах веществ, титруемых вместе. Изменение величин констант ионизации анализируемых веществ с помощью неводных растворителей позволяет потенциометрически фиксировать конец титрования каждого из веществ без разделения смеси на составные компоненты.

Определение смесей кислот

Большинство лекарственных веществ, относящихся к кислотам, являются слабыми кислотами.

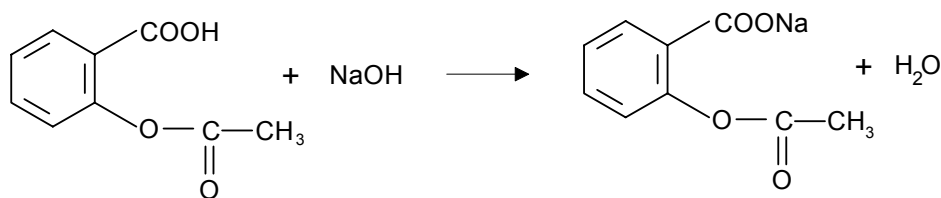
При титровании слабых кислот стандартными растворами щелочей образуются соли, подвергающиеся гидролизу, в результате чего получаются растворы со значением рН больше 7. Выбор индикатора, изменяющего цвет вблизи точки эквивалентности, определяется значением рН раствора соли, образующейся при титровании.

Значения рН растворов солей слабых кислот и сильных оснований вычисляют по формуле 25.

Пропись 25 является примером смеси лекарственных веществ, обладающих в разной степени выраженными кислотными свойствами.

ПРОПИСЬ 25 *Кислоты ацетилсалициловой 0,3 г*
Фенобарбитала 0,05 г

Кислота ацетилсалициловая как вещество, обладающее более сильными кислотными свойствами ($pK_a = 3,48$), титруется раствором щелочи первой (см рис. 1):

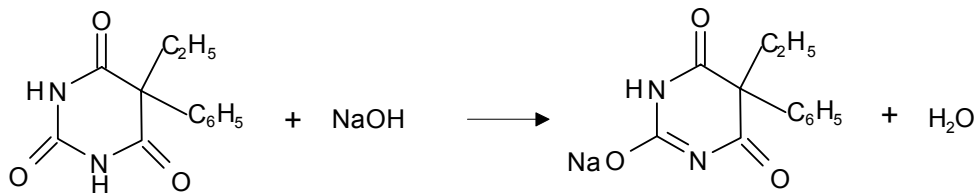


Фенобарбитал имеет значение $pK_a = 7,43$. Значение рН в первой точке эквивалентности вычисляют по формуле:

$$pH_1 = \frac{3,48 + 7,43}{2} = 5,45$$

Этой величине рН соответствует индикатор метиловый красный (интервал изменения окраски 4,2 – 6,3).

Для определения второй точки эквивалентности (соответствующей фенобарбиталу) необходимо рассчитать значение рН раствора натриевой соли фенобарбитала, образующейся в результате второго титрования (см. рис. 1):



Такой расчет возможен только по конкретной методике.

Методика. 0,2 г порошка растворяют в 10 мл нейтрализованного по тимофталейну спирта и титруют 0,1 н. раствором натрия гидроксида и титруют с индикатором метиловым красным до желтого окрашивания.

pH раствора натриевой соли фенобарбитала вычисляют по формуле :

$$pH_2 = 7 + \frac{1}{2} pK_a \text{ фенобарб.} + \frac{1}{2} \lg C_{\text{фенобарбитал-Na}}$$

Для определения концентрации натриевой соли фенобарбитала необходимо сделать дополнительные расчеты:

– определить теоретический объем 0,1 н. раствора натрия гидроксида, эквивалентный количеству кислоты ацетилсалициловой:

0,3 г к-ты ацетилсалиц. содержится в 0,35 г порошка

$$x \quad \text{-----} \quad 0,2 \text{ г} \quad x = 0,17 \text{ г к-ты ацетилсалиц.}$$

М.м. $C_9H_8O_4$ (кислота ацетилсалициловая) 180,16 г/моль

$$T_{\text{NaOH/к-та ацетилсалиц.}} = \frac{0,1 \cdot 180,16}{1000} = 0,01802 \text{ г/мл}$$

$$V_{\text{NaOH (теоретич.)}} = \frac{0,17}{0,01802} = 9,51 \text{ мл}$$

– определить теоретический объем 0,1 н. раствора натрия гидроксида, эквивалентный количеству фенобарбитала:

0,05 г фенобарбитала содержится в 0,35 г порошка

$$y \quad \text{-----} \quad 0,2 \text{ г} \quad y = 0,028 \text{ г фенобарбитала}$$

М.м. $C_{12}H_{12}N_2O_3$ (фенобарбитал) 232,24

$$T_{\text{NaOH/фенобарбитал}} = \frac{0,1 \cdot 232,24}{1000} = 0,02322 \text{ г/мл}$$

$$V_{\text{NaOH (теоретич.)}} = \frac{0,028}{0,02322} = 1,23 \text{ мл}$$

Теоретический расчет показывает, что на связывание кислоты ацетилсалициловой и фенобарбитала должно расходоваться 9,51 мл (на первое титрование) и 1,23 мл (на второе титрование) 0,1 н. раствора натрия гидроксида. Общий объем раствора после титрования составит – 20,74 мл (9,51 + 10 + 1,23 мл). Отсюда молярную концентрацию натриевой соли фенобарбитала рассчитывают следующим образом:

$$n_{\text{фенобарбитал}} = \frac{m}{M} = \frac{0,028}{232,24} = 0,00012 \text{ моль}$$

$$n_{\text{фенобарбитал-натрий}} = n_{\text{фенобарбитал}} = 0,00012 \text{ моль}$$

$$C_{\text{фенобарбитал-натрий}} = \frac{n}{V} = \frac{0,00012}{0,02074} = 0,00581 \text{ моль/л}$$

$$\text{отсюда: } \text{pH}_2 = 7 + \frac{1}{2} \cdot 7,43 + \frac{1}{2} \lg 0,00581 = 9,597$$

Этой величине рН соответствует индикатор тимолфталейн (интервал изменения окраски 9,3 – 10,5).

Методика. Кислота ацетилсалициловая. 0,2 г порошка растворяют в 10 мл 95% спирта, прибавляют 5 – 6 капель раствора метилового красного и титруют 0,1 н. раствором натрия гидроксида до желтого окрашивания.

1 мл 0,1 н. раствора натрия гидроксида соответствует 0,018016 г $C_9H_8O_4$ (кислоты ацетилсалициловой):

$$X_{\text{кислота ацетилсалициловая (г/ 1 порошок)}} = \frac{V_{1\text{NaOH}} \cdot k_{1\text{NaOH}} \cdot T_{\text{NaOH/к-та ацетилсалиц.}} \cdot 0,35}{0,2}$$

где V_1 – объем 0,1 н. раствора натрия гидроксида, пошедший на титрование кислоты ацетилсалициловой по индикатору метиловому красному.

Фенобарбитал. К оттитрованному раствору прибавляют 2 – 3 капли раствора тимолфталеина и титруют 0,1 н. раствором натрия гидроксида до появления синего окрашивания.

1 мл 0,1 н. раствора натрия гидроксида соответствует 0,02322 г $C_{12}H_{12}N_2O_3$ (фенобарбитала).

$$X_{\text{фенобарбитал (г/ 1 порошок)}} = \frac{V_{2\text{NaOH}} \cdot k_{2\text{NaOH}} \cdot T_{\text{NaOH/фенобарбитал}} \cdot 0,35}{0,2}$$

где V_2 – объем 0,1 н. раствора натрия гидроксида, пошедший на титрование фенобарбитала по тимолфталеину.

Определение смесей оснований

Органические основания, применяющиеся в медицине, представляют собой слабые основания. При титровании слабых оснований растворами сильных минеральных кислот образуются гидролизующиеся соли, рН растворов которых меньше 7. Выбор индикатора для фиксирования конечной точки титрования определяется значением рН раствора соли, образующейся при титровании.

При расчете рН следует учесть, что для оснований приводят значение pK_b , которое связано с pK_a соотношением:

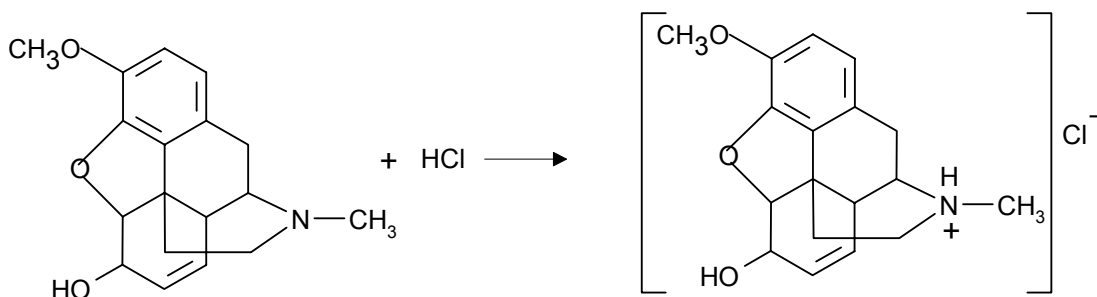
$$pK_a = 14 - pK_b$$

Рассмотрим титрование смеси лекарственных веществ, обладающих основными свойствами, на примере прописи 26, содержащей кодеин и амидопирин.

ПРОПИСЬ 26 *Кодеина 0,015*

Амидопирина 0,25

Кодеин как более сильное основание ($pK_b = 6,05$) титруется стандартным раствором кислоты первым (см. рис. 1):



Значение pH в первой точке эквивалентности рассчитывают по формуле:

$$pH_1 = \frac{(14 - pK_{b_1}) + (14 - pK_{b_2})}{2} = 14 - \frac{pK_{b_1} + pK_{b_2}}{2}$$

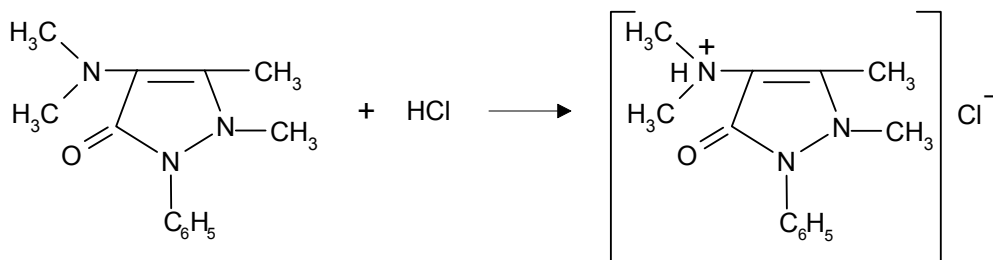
где pK_{b_1} – значение pK_b кодеина, равное 6,05;

pK_{b_2} – значение pK_b амидопирина, равное 9,0

$$pH_1 = 14 - \frac{6,05 + 9,0}{2} = 6,47$$

Этой величине pH соответствует область изменения окраски индикатора бромтимолового синего (6,0 – 7,6).

Для определения второй точки эквивалентности (при титровании амидопирина) необходимо рассчитать pH раствора образующегося гидрохлорида амидопирина по реакции (см. рис. 1):



Определение значения рН проводят на основе методики: 0,05 г порошка растворяют в 1 мл спирта, добавляют 5 мл воды и титруют кодеин 0,01 н., а амидопирин – 0,1 н. раствором кислоты хлороводородной.

рН раствора гидрохлорида амидопирина вычисляют по формуле:

$$pH_2 = 7 - \frac{1}{2} pK_{b \text{ амидопирин} \cdot \text{HCl}} - \frac{1}{2} \lg C_{\text{амидопирин} \cdot \text{HCl}}$$

Для определения концентрации гидрохлорида амидопирина необходимо сделать дополнительные расчеты:

– определить теоретический объем 0,01н. раствора кислоты хлороводородной, эквивалентный количеству кодеина:

0,015 г кодеина содержится в 0,265 г порошка

$$x \quad \text{-----} \quad 0,05 \text{ г} \quad \quad \quad x = 0,0028 \text{ г кодеина}$$

М.м. $C_{18}H_{21}NO_3 \cdot H_2O$ (кодеин) 317,39

$$T_{\text{HCl/кодеин}} = \frac{0,01 \cdot 317,39}{1000} = 0,003173 \text{ г/мл}$$

$$V_{1 \text{ HCl (теоретич.)}} = \frac{0,0028}{0,003173} = 0,88 \text{ мл}$$

– определить теоретический объем 0,1 н. раствора кислоты хлороводородной, эквивалентный количеству амидопирина:

0,25 г амидопирин содержится в 0,265 г порошка

у _____ 0,05 г у = 0,04716 г амидопирин

М.м. $C_{13}H_{17}N_3O$ (амидопирин) 231,30

$$T_{\text{HCl/амидопирин}} = \frac{0,01 \cdot 231,30}{1000} = 0,02313 \text{ г/мл}$$

$$V_2 \text{ HCl (теоретич.)} = \frac{0,04716}{0,02313} = 2,04 \text{ мл}$$

Теоретический расчет показывает, что на титрование кодеина и амидопирин должно быть израсходовано 0,88 мл 0,01н. раствора кислоты хлороводородной и 2,04 мл 0,1 н. раствора кислоты хлороводородной. Общий объем раствора после титрования составит 8,92 мл (0,88 + 2,04 + 1,0 + 5,0). Отсюда молярную концентрацию гидрохлорида амидопирин можно вычислить следующим образом:

$$n_{\text{(амидопирин)}} = \frac{m}{M} = \frac{0,04716}{231,3} = 0,000204 \text{ моль}$$

$$n_{\text{(амидопирин \cdot HCl)}} = n_{\text{(амидопирин)}} = 0,000204 \text{ моль}$$

$$C_{\text{(амидопирин \cdot HCl)}} = \frac{n}{V} = \frac{0,000204}{0,00892} = 0,0228 \text{ моль/л}$$

$$\text{отсюда: } \text{pH}_2 = 7 - \frac{1}{2} \cdot 9,0 - \frac{1}{2} \lg 0,0228 = 3,321$$

Значение pH в точке эквивалентности при титровании амидопирин попадает в интервал перехода окраски индикатора бромфенолового синего (pH 3,0 – 4,6).

Методика. Кодеин. 0,05 г порошка растворяют в 1 мл спирта, прибавляют 1 – 2 капли раствора бромфенолового синего, 5 мл воды до ясного синего окрашивания и титруют 0,01н. раствором кислоты хлороводородной до появления желтого с зеленоватым оттенком окрашивания.

1 мл 0,01н. раствора кислоты хлороводородной соответствует 0,003174 г $C_{18}H_{21}NO_3 \cdot H_2O$ (кодеина).

$$X_{\text{кодеин}} = \frac{V_{\text{HCl}} \cdot k_{\text{HCl}} \cdot T_{\text{HCl/кодеин}} \cdot 0,265}{0,05}$$

(г/1 порошок)

Амидопирин. К оттитрованной жидкости прибавляют 3 – 4 капли раствора бромфенолового синего до фиолетового окрашивания раствора и титруют 0,1 н. раствором кислоты хлороводородной до появления золотисто-желтого окрашивания.

1 мл 0,1 н. раствора кислоты хлороводородной соответствует 0,02313 г $\text{C}_{13}\text{H}_{17}\text{N}_2\text{O}$ (амидопирин).

$$X_{\text{амидопирин}} = \frac{V_{\text{HCl}} \cdot k_{\text{HCl}} \cdot T_{\text{HCl/амидопирин}} \cdot 0,265}{0,05}$$

(г/1 порошок)

Определение смесей солей, образованных сильными основаниями и слабыми кислотами

Соли сильных оснований и слабых кислот в результате гидролиза имеют в водных растворах щелочную реакцию среды. Это позволяет количественно их определять титрованием стандартными растворами кислот.

Для выбора индикатора также необходимо учитывать рН раствора в точках эквивалентности

Примером смеси солей сильных оснований и слабых кислот является пропись 27.

ПРОПИСЬ 27 *Натрия гидрокарбоната*
Натрия бензоата по 4,0
Настоя травы термонсиса из 0,6 – 200,0 мл

Для экспресс-анализа обычно берут навеску, содержащую по 0,1 – 0,15 г натрия гидрокарбоната и натрия бензоата и растворяют в 5 – 10 мл воды. В 5 мл данной жидкой лекарственной формы содержание лекарственных веществ находится в указанных пределах.

Титрование ингредиентов стандартным раствором кислоты хлороводородной осуществляется согласно уравнениям реакций:



Несмотря на то, что отношение константы ионизации кислоты бензойной ($K_a = 6,35 \cdot 10^{-5}$) к константе ионизации кислоты угольной ($K_a = 4,2 \cdot 10^{-7}$) меньше чем 10^{-4} , ступенчатое титрование данной смеси, тем не менее, возможно, благодаря тому, что кислота угольная удаляется из смеси в процессе титрования, разлагаясь с выделением CO_2 .

Значение рН в первой точке эквивалентности составляет:

$$\text{pH}_1 = \frac{6,35 + 4,20}{2} = 5,27$$

Поэтому при определении натрия гидрокарбоната используют в качестве индикатора метиловый красный (интервал перехода окраски при рН 4,2 – 6,3; см. рис. 1).

Для определения значения рН раствора кислоты бензойной, соответствующей второй точке эквивалентности, необходимо рассчитать теоретический расход титранта (объем аликвотной части микстуры – 5 мл):

4,0 г натрия бензоата содержится в 200,0 мл микстуры

$$x \text{ г} \quad \text{-----} \quad 5,0 \text{ мл}$$

$$x = 0,1 \text{ г натрия бензоата}$$

М.м. $\text{C}_7\text{H}_5\text{NaO}_2$ (натрия бензоат) 144,11

$$T_{\text{НСI/натрия бензоат}} = \frac{0,1 \cdot 144,11}{1000} = 0,01441 \text{ г/мл}$$

$$V_{\text{НСI (теоретич)}} = \frac{0,1}{0,01441} = 6,94 \text{ мл}$$

Теоретический объем 0,1 н. раствора кислоты хлороводородной, эквивалентный количеству натрия гидрокарбоната в 5 мл микстуры:

4,0 г натрия гидрокарбоната содержится в 200,0 мл микстуры

у г _____ 5,0 мл

$$y = 0,1 \text{ г натрия гидрокарбоната}$$

М.м. NaHCO_3 (натрия гидрокарбонат) 84,01

$$T_{\text{HCl/натрия гидрокарбонат}} = \frac{0,1 \cdot 84,01}{1000} = 0,0084 \text{ г/мл}$$

$$V_{\text{HCl (теоретич)}} = \frac{0,1}{0,0084} = 11,9 \text{ мл}$$

Общий объем раствора после титрования будет равен 23,85 мл (6,95 + 11,9 + 5,0).

Молярную концентрацию кислоты бензойной в полученном растворе рассчитывают следующим образом:

$$n_{(\text{C}_6\text{H}_5\text{COONa})} = \frac{m}{M} = \frac{0,1}{144,11} = 0,000694 \text{ моль}$$

$$n_{(\text{C}_6\text{H}_5\text{COOH})} = n_{(\text{C}_6\text{H}_5\text{COONa})} = 0,000694 \text{ моль}$$

$$C_{(\text{C}_6\text{H}_5\text{COOH})} = \frac{n}{V} = \frac{0,000694}{0,02385} = 0,0290 \text{ моль/л}$$

$$\text{Отсюда: } \text{pH}_2 = \frac{1}{2} \cdot 4,20 - \frac{1}{2} \lg 0,0290 = 2,868$$

Накопление в растворе кислоты бензойной приводит к изменению цвета индикатора раньше достижения точки эквивалентности. Поэтому в реакционную среду добавляют эфир, в который экстрагируется кислота бензойная.

В качестве индикатора используют метиловый оранжевый, интервал изменения окраски которого наиболее близок для определения кислоты бензойной (pH 3,0 – 4,4). Следует также учесть, что метиловый оранжевый не рас-

творяется в эфире (в отличие от метилового красного) и удобен для фиксирования точки эквивалентности реакции, протекающей в водной фазе.

Методика. Натрия гидрокарбонат. 5 мл микстуры помещают в склянку с притертой пробкой, прибавляют 2 капли раствора метилового красного и титруют 0,1 н. раствором кислоты хлороводородной до ярко-розового окрашивания (V_1).

1 мл 0,1 н. раствора кислоты хлороводородной соответствует 0,0084 г NaHCO_3

$$X_{\text{NaHCO}_3 (\text{г})} = \frac{V_{1 \text{ HCl}} \cdot k_{\text{HCl}} \cdot T_{\text{HCl/NaHCO}_3} \cdot 200,0}{5,0}$$

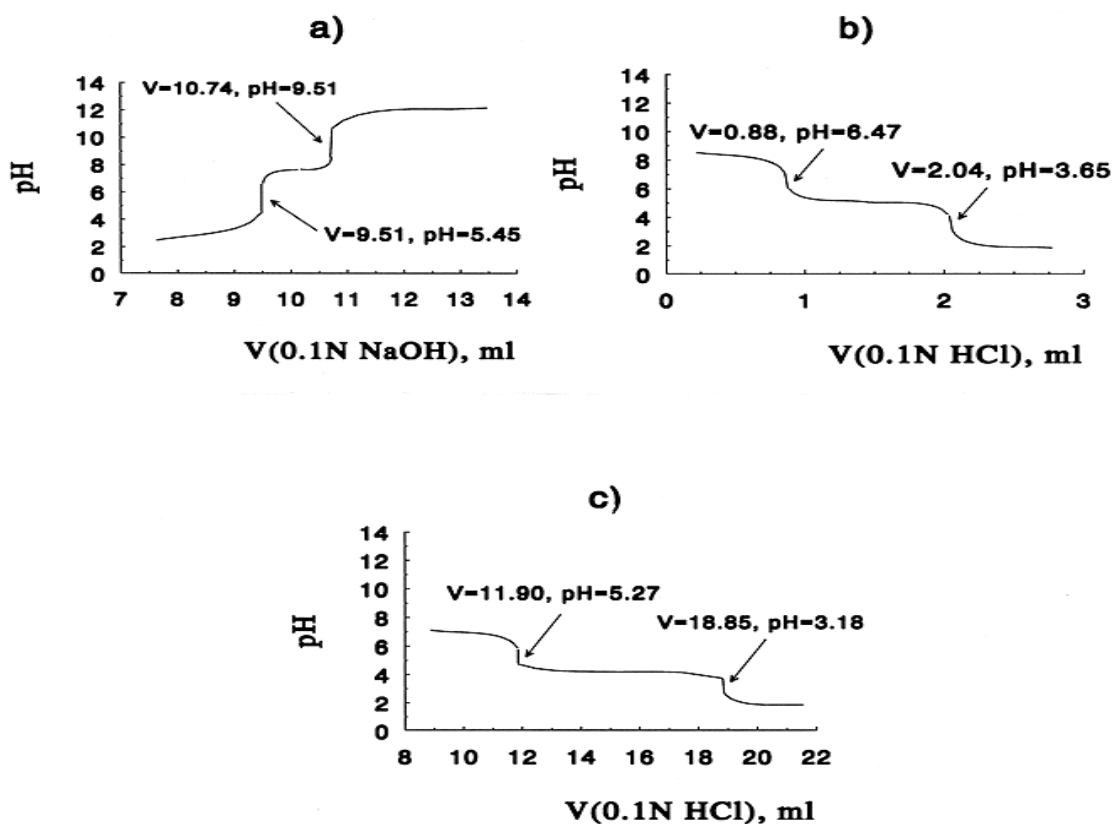


Рисунок 1

Кривые титрования лекарственных смесей: а) кислоты ацетилсалициловой 0,3 г, фенобарбитала 0,05 г; б) кодеина 0,015 г, амидопирина 0,25 г; в) натрия гидрокарбоната и натрия бензоата по 4,0 г, настоя травы термопсиса из 0,6 – 200,0 мл.

Натрия бензоат. К оттитрованному раствору прибавляют 10 – 15 мл эфира, 2 капли раствора метилового оранжевого и титруют 0,1 н. раствором кислоты хлороводородной при энергичном взбалтывании до ярко-розового окрашивания водного слоя (V_2).

1 мл 0,1 н. раствора кислоты хлороводородной соответствует 0,01441 г $C_6H_5NaO_2$ (натрия бензоата).

$$X_{C_6H_5COONa(г)} = \frac{V_{2\text{ HCl}} \cdot K_{\text{HCl}} \cdot T_{\text{HCl}/C_6H_5COONa} \cdot 200,0}{5,0}$$

Анализ лекарственных смесей с разделением на компоненты

Для разделения смесей лекарственных веществ на основе их различной растворимости в воде и органических растворителях используют разнообразные приемы.

Твердые лекарственные формы (порошки, таблетки) для разделения на ингредиенты обрабатывают соответствующим растворителем и фильтруют. В зависимости от дальнейшей методики анализа растворитель удаляют (отгоняют или выпаривают) или проводят определение в полученном растворе.

Примером могут служить смеси фенолсалицилата с гексаметилентетрамином и висмута нитратом основным.

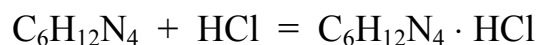
ПРОПИСЬ 28 *Фенолсалицилата*

Гексаметилентетрамина по 0,25

Гексаметилентетрамин легко растворим в воде и спирте, растворим в хлороформе, очень мало растворим в эфире.

Фенолсалицилат практически нерастворим в воде, растворим в спирте и растворах щелочей, легко растворим в хлороформе, очень легко – в эфире.

Для количественного определения компонентов смеси навеску порошка взбалтывают с водой и фильтруют. Остаток промывают водой и определяют гексаметилентетрамин в фильтрате ацидиметрически:



Фенилсалицилат определяют в нерастворившемся остатке по общей методике анализа для сложных эфиров.

ПРОПИСЬ 29 *Висмута нитрата основного*
Фенилсалицилата по 0,25

Висмута нитрат основной практически нерастворим в воде и спирте, легко растворим в кислотах азотной и хлороводородной. Растворимость фенилсалицилата – см. пропись 28.

Так как фенилсалицилат растворим в органических растворителях, смесь разделяют, извлекая его эфиром. После отгонки растворителя фенилсалицилат определяют по сложно-эфирной группе.

После извлечения фенилсалицилата висмута нитрат основной определяют в остатке трилонометрически.

При анализе жидких лекарственных форм разделение веществ проводят методом экстракции органическим растворителем, несмешивающимся с водой (эфир, хлороформ) в нейтральной среде или при других значениях рН. Такой подход к анализу является классическим.

Согласно закону Нернста коэффициентом распределения вещества называется отношение концентраций, в которых определяемое вещество распределяется между двумя несмешивающимися фазами:

$$K_H(X) = \frac{C_\alpha(X)}{C_\beta(X)}$$

где $K_H(X)$ – коэффициент распределения вещества X , не зависящий от концентрации;

$C_\alpha(X)$, C_β – молярные концентрации растворенного вещества в фазах α и β соответственно.

Он зависит от природы вещества и растворителя, величины рН, температуры, но не зависит от исходной концентрации распределяющегося вещества и от наличия сопутствующих соединений.

Однократное извлечение анализируемого вещества органическим растворителем будет более полным, если объем водной фазы взят по возможности меньшим, а органического растворителя – большим. Лучшие результаты дает многократное извлечение относительно малыми порциями органического растворителя.

Для исключения попадания водной фазы в органическую (а вместе с ней и сопутствующих ингредиентов) последнюю обезвоживают высушенным при 120⁰ С натрия сульфатом.

Извлечение органическими растворителями позволяет селективно определять вещества в смеси, близкие по химическим свойствам, определять два, а иногда и три компонента в одной пробе, повышает точность экспресс-анализа веществ, находящихся в смеси в малых количествах.

Способы извлечения веществ зависят от их природы.

Соли алкалоидов и других органических оснований в большинстве своем растворимы в воде и практически нерастворимы в органических растворителях, не смешивающихся с водой. Поэтому с помощью эфира, хлороформа можно отделять растворимые в них соединения (амидопирин, резорцин, фенобарбитал, кислоту ацетилсалициловую, бромкафору и др.).

Некоторые соли алкалоидов и других оснований могут растворяться в органических растворителях. Например, папаверина гидрохлорид растворяется в хлороформе, но практически не растворяется в эфире. Часто сопутствующие ему вещества (амидопирин, фенобарбитал, кислота ацетилсалициловая) растворимы в обоих растворителях. Поэтому для отделения папаверина гидрохлорида от указанных соединений следует применять в качестве экстрагента эфир, а не хлороформ (см. пропись 30)

ПРОПИСЬ 30 Папаверина гидрохлорида 0,03

Фенобарбитала 0,02

Сахара 0,3

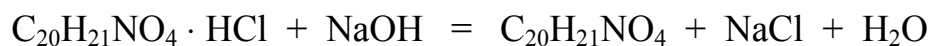
Папаверина гидрохлорид медленно растворим в воде, растворим в хлороформе, нерастворим в эфире.

Фенобарбитал очень мало растворим в холодной воде, трудно растворим в кипящей воде и хлороформе, легко растворим в спирте и в растворах щелочей, растворим в эфире.

Сахар растворим в воде и нерастворим в органических растворителях.

Для определения смеси навеску порошка взбалтывают с эфиром, фильтруют, проверяя полноту извлечения фенобарбитала по отсутствию пятна после испарения части извлечения. Эфир отгоняют, остаток растворяют в спирте и фенобарбитал определяют алкалиметрически (см. пропись 25).

Остаток после извлечения фенобарбитала эфиром растворяют в воде и определяют папаверина гидрохлорид алкалиметрически:



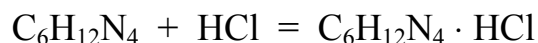
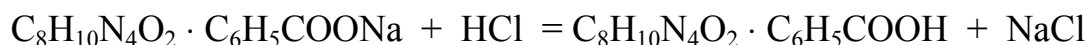
Основания алкалоидов растворимы в органических растворителях и мало растворимы в воде. Исключение составляют эфедрин, пилокарпин, кодеин, кофеин, растворяющиеся в воде. Некоторые органические основания могут растворяться и в воде, и в органических растворителях (амидопирин, антипирин, гексаметилентетрамин), причем растворимость в эфире, хлороформе может быть различной (см. пропись 31).

*ПРОПИСЬ 31 Раствора амидопирина 1% – 100,0 мл
Кофеина-бензоата натрия 0,5
Гексаметилентетрамина 1,0*

Амидопирин растворим в эфире и хлороформе. Кофеин-бензоат натрия и гексаметилентетрамин нерастворимы в эфире.

Данную смесь трех органических оснований можно разделить, экстрагируя амидопирин эфиром (при этом кофеин-бензоат натрия и гексаметилентетрамин из водного раствора не экстрагируются). Амидопирин после отгонки растворителя определяют ацидиметрически (см. пропись 26).

Кофеин-бензоат натрия и гексаметилентетрамин в водном растворе титруют в сумме ацидиметрически (индикатор – метиловый оранжевый) в присутствии эфира:



Далее кислоту бензойную оттитровывают в эфирном слое стандартным раствором натрия гидроксида и объем титранта пересчитывают на содержание кофеина-бензоата натрия. Содержание натрия бензоата в кофеине-бензоате натрия находится в пределах 58 – 62%, поэтому при определении данного лекарственного вещества в лекарственных формах по натрия бензоату титр рассчитывают по содержанию последнего в кофеине-бензоате натрия. Так, при содержании натрия бензоата 62% условный титр рассчитывают следующим образом:

$$T_{\text{условн.}} = \frac{0,01441 \cdot 100\%}{62\%} = 0,0232 \text{ г/мл}$$

где 0,01441 – количество натрия бензоата (г), соответствующее 1 мл 0,1 н. раствора кислоты хлороводородной.

Гексаметилентетрамин рассчитывают по разности объемов стандартных растворов кислоты и щелочи.

Основания алкалоидов чаще извлекают хлороформом из растворов, подщелоченных натрия гидроксидом, натрия карбонатом или аммиаком. При экстракции основания морфина или других оснований, содержащих в структуре фенольный гидроксил, а также теобромина, теофиллина для подщелачивания нельзя применять гидроксиды натрия или калия, так как при этом образуются соли, хорошо растворимые в воде.

Не рекомендуется использовать щелочи и при извлечении оснований, имеющих сложно-эфирную группу, так как последняя может легко гидролизироваться.

Некоторые органические основания (например, кофеин) не образуют с кислотами прочных солей и могут экстрагироваться хлороформом из подкисленных растворов.

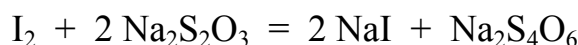
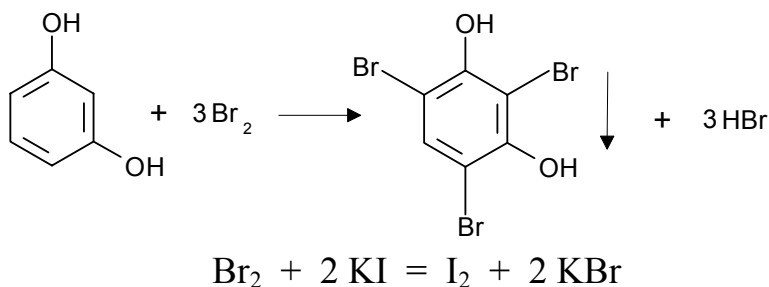
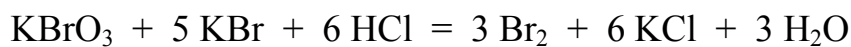
Фенолы, хорошо растворимые в органических растворителях (резорцин, кислота салициловая и др.), в присутствии алкалоидов и их солей следует извлекать из подкисленных растворов. Например, броматометрическое определение резорцина нельзя проводить в присутствии новокаина или дикаина, поэтому необходимо резорцин предварительно извлечь эфиром (см. пропись 6, содержащую новокаина 0,05 г, резорцина 0,1 г, кислоты борной 0,2 г и воды для инъекций до 10,0 мл).

Новокаин очень легко растворим в воде, легко растворим в спирте, мало растворим в хлороформе, практически нерастворим в эфире.

Резорцин очень легко растворим в воде, спирте, легко растворим в эфире, очень мало растворим в хлороформе.

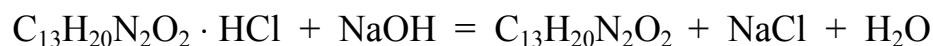
Кислота борная растворима в 25 частях воды, в 4 частях кипящей воды, в 25 частях спирта и медленно в 7 частях глицерина.

Резорцин из подкисленного раствора экстрагируют эфиром и после отгонки последнего определяют броматометрически:



Водный слой используют для определения новокаина и кислоты борной. Новокаин определяют нитритометрически (химизм – см. пропись 16).

Количество кислоты борной рассчитывают по разности объемов стандартных растворов натрия гидроксида и натрия нитрита, так как новокаин (как соль хлороводородной кислоты) также взаимодействует со щелочью:



Химизм реакции между кислотой борной и натрия гидроксидом в присутствии глицерина – см. пропись 23.

Способность фенолов образовывать растворимые в воде феноляты используют при разделении полиалкалоидных смесей. Так, при добавлении натрия гидроксида к водному раствору гидрохлоридов морфина и хинина основание хинина переходит в эфирный (или хлороформный) слой, а натриевая соль морфина (по фенольному гидроксилу) остается в водной фазе.

Соли карбоновых кислот, сульфаниламидов, барбитуратов легко растворимы в воде и при щелочной реакции среды не извлекаются органическими растворителями. Поэтому в их присутствии можно извлекать хлороформом основания алкалоидов или другие органические основания.

Кислотные формы барбитуратов растворимы в эфире и других органических растворителях. При отделении фенобарбитала от сопутствующих веществ в порошках чаще всего используют эфир.

Солевые формы барбитуратов из микстур также экстрагируют эфиром после перевода их в кислотные формы с помощью растворов минеральных кислот.

ПРОПИСЬ 34 *Микстура Равкина:*

Настоя травы пустырника из 12,0 – 200,0 мл

Натрия бромида 3,0

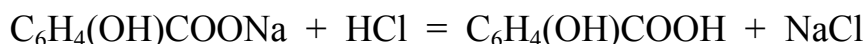
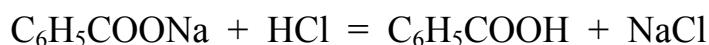
Барбитал-натрия 2,0

Барбитал-натрий экстрагируют эфиром из подкисленного раствора микстуры. Отделяют эфирный слой, пропуская его через безводный натрия сульфат. Эфир отгоняют, остаток растворяют в спирте и проводят алкалиметрическое титрование кислотной формы барбитала (химизм см. пропись 25 на примере фенобарбитала).

Натрия бромид определяют по методу Фольгарда (см. пропись 19 на примере кальция хлорида и калия йодида).

Аналогичным образом можно перевести в эфир карбоновые кислоты, полученные при подкислении их солей. Так, при титровании стандартным раствором кислоты хлороводородной натрия бензоата и натрия салицилата выделяются бензойная и салициловая кислоты, для экстрагирования которых необходимо применять эфир (см. пропись 11, содержащую натрия салицилата и натрия бензоата по 2,0 г и воды очищенной до 100,0 мл).

Сумму натриевых солей ароматических карбоновых кислот титруют 0,1 н. раствором кислоты хлороводородной в присутствии эфира:



Натрия салицилат (как фенол) определяют броматометрически или йодхлорметрически.

Количество натрия бензоата рассчитывают по разности между ацидиметрическим и окислительно-восстановительным титрованием с учетом различных величин молярных масс эквивалентов.

Если в порошках одновременно находятся растворимые и практически не растворимые в воде вещества, в экспресс-анализе для их разделения можно использовать воду. Так отделяют аналгин от анестезина, кислоты ацетилсалициловой, фенацетина и ряда других лекарственных веществ.

Иногда воду, применяемую для разделения, насыщают малорастворимым компонентом («фенацетиновая вода»), чтобы практически исключить его растворение. Фильтр, на котором проводят разделение, должен быть плотным, чтобы не было проскока частиц малорастворимого вещества. При-

ем с использованием «фенацетиновой воды» применяют для разделения фенацетина и кофеина (пропись 33).

ПРОПИСЬ 33 *Кофеина 0,05*
Фенацетина 0,3

Кофеин медленно растворим в воде (1 : 60), легко растворим в горячей воде и хлороформе, трудно растворим в спирте, очень мало растворим в эфире.

Фенацетин очень мало растворим в воде, трудно растворим в кипящей воде, растворим в спирте, мало растворим в эфире, хлороформе.

Навеску смеси обрабатывают водой, насыщенной фенацетином. Насыщенную фенацетином воду следует употреблять только после 24-часового настаивания, после чего в нее добавляют определенное количество натрия бензоата для лучшего растворения кофеина (в виде кофеина-бензоата натрия). Смесь взбалтывают и фильтруют. Остаток на фильтре (фенацетин) растворяют в хлороформе, высушивают и определяют гравиметрическим методом.

Фильтрат подщелачивают раствором натрия гидроксида, экстрагируют из него кофеин хлороформом и определяют гравиметрически.

С помощью воды можно разделять и некоторые неорганические вещества (например, натрия гидрокарбонат и магния оксид). Многие из них также практически нерастворимы в органических растворителях (магния оксид, цинка сульфат, натрия тетраборат, висмута нитрат основной и др.) и при анализе с использованием эфира (хлороформа) остаются на фильтре (см. пропись 34).

ПРОПИСЬ 34 *Магния оксида*
Натрия гидрокарбоната по 0,25

Магния оксид практически нерастворим в воде, свободной от углекислоты, и в спирте. Растворим в разведенных хлороводородной, серной, уксусной кислотах.

Натрия гидрокарбонат растворим в воде, нерастворим в спирте и эфире.

Навеску порошка взбалтывают с водой и фильтруют. Натрия гидрокарбонат количественно определяют в фильтрате ацидиметрически.

Магния оксид переносят с фильтра в колбу, растворяют в 0,1 н. растворе кислоты хлороводородной, добавляют аммиачный буферный раствор и определяют лекарственное вещество комплексонометрически.

Разделение смесей веществ, близких по растворимости, но отличающихся по кислотно-основным свойствам

Для разделения смесей лекарственных 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. С этой целью чаще проводят реакции нейтрализации или гидролиза.

Известно, что органические кислоты и основания при взаимодействии с растворами щелочей или кислот переходят в соответствующие соли, вследствие чего меняется их растворимость в органических растворителях. В связи с этим для разделения лекарственных смесей, содержащих вещества I и III, I и V, III и V групп используют экстракцию органическим растворителем из кислого или щелочного раствора.

Так как для анализа лекарственных веществ I и III групп часто используют методы кислотного титрования, иногда удобно сочетать разделение смесей этих веществ с одновременным титрованием одного из компонентов. Таким образом из смеси веществ, растворенных в органическом растворителе, экстрагируют титрованным раствором кислоты или щелочи вещества основного или кислотного характера в присутствии соответствующего индикатора.

Максимального разделения компонентов можно достигнуть, добавив для подавления гидролиза солей избыток титранта после достижения точки эквивалентности. Для уменьшения ошибок при определении конкретного лекарственного вещества, остающегося в органическом растворителе, необходимо тщательно разделять несмешивающиеся фазы растворителей и органический слой тщательно промывать водой до нейтральной реакции (см. пропись 35).

ПРОПИСЬ 35 *Кислоты ацетилсалициловой 0,025* *Кофеина 0,05*

Для разделения ингредиентов используют извлечение кофеина хлороформом из щелочного раствора, в котором остается натриевая соль кислоты ацетилсалициловой. Предварительное разделение компонентов данной прописи необходимо, так как йодометрическому определению кофеина мешает кислота ацетилсалициловая.

Для определения кислоты ацетилсалициловой навеску смеси помещают в делительную воронку, прибавляют воду, хлороформ, 2 – 3 капли раствора фенолфталеина и быстро титруют, хорошо взбалтывая, 0,1 н. раствором натрия гидроксида. Быстрое титрование необходимо, чтобы предотвратить гидролиз сложно-эфирной группы, а хорошее взбалтывание – для полного перевода кислоты ацетилсалициловой в водную фазу в виде натриевой соли. После достижения точки эквивалентности добавляют несколько избыточных капель титрованного раствора щелочи для предотвращения гидролиза натриевой соли кислоты ацетилсалициловой и хлороформный слой отделяют от водного (химизм реакции кислоты ацетилсалициловой и натрия гидроксида см. пропись 25).

Для определения кофеина хлороформ отгоняют и определяют лекарственное вещество в сухом остатке йодометрически:



Определение кофеина (как азотистого основания) в смеси с лекарственным веществом нейтрального характера (фенацетином) можно рассмотреть на примере прописи 33 (сравните обе методики). Компоненты смеси обладают примерно одинаковой растворимостью в воде и органических растворителях. При этом кофеин является слабым основанием, а фенацетин обладает нейтральным характером. Для разделения компонентов фенацетин подвергают кислотному гидролизу, в результате которого образуется *n*-фенететидин. Последний, обладая основными свойствами, образует соль, растворимую в воде и нерастворимую в органических растворителях.

Для определения кофеина навеску смеси кипятят с раствором кислоты хлороводородной и кофеин извлекают хлороформом. После отгонки растворителя кофеин определяют йодометрически (химизм – см. пропись 35) или ацидиметрически в неводной среде:



Подкисленный водный раствор, оставшийся после извлечения кофеина содержит гидрохлорид *n*-фенетидина, который может быть определен нитритометрически (химизм – см. пропись 16 на примере новокаина).

Разделение лекарственных веществ в мягких лекарственных формах

Для идентификации и количественного определения ингредиентов мягких лекарственных форм в экспресс-анализе используют методы, позволяющие проводить исследование в присутствии основы. В ряде случаев определяемое вещество приходится извлекать подходящим растворителем, чтобы освободиться от основы, мешающей анализу. Основа в зависимости от природы может оказывать активное действие на скорость и полноту высвобождения лекарственного вещества.

Животные жиры (ланолин), растительные масла (масло какао, подсолнечное, персиковое и другие косточковые масла), углеводороды (вазелин, вазелиновое масло) относятся к числу гидрофобных основ. Они не растворяются в воде и этаноле, но хорошо растворяются в неполярных растворителях (хлороформ, эфир, гексан, бензол).

Для достижения полноты отделения лекарственного вещества важно правильно подобрать растворитель, учитывая при этом свойства не только анализируемого вещества, но и основы. Резорцин, калия йодид, кислота борная, димедрол и другие водорастворимые вещества можно извлекать водой, тогда как анестезин, оксиды цинка, магния и другие лучше извлекать кислотой хлороводородной разведенной в виде соответствующих гидрохлоридов. Так поступают при извлечении анестезина и цинка оксида из мягкой лекарственной формы (пропись 36).

ПРОПИСЬ 36 *Анестезина 5,0*

Цинка окиси

Талька по 10,0

Аэросила 5,0

Масла подсолнечного до 100,0

Методика. Анестезин. 0,5 г мази помещают в коническую колбу, добавляют 5 мл кислоты хлороводородной разведенной, 10 мл воды и нагревают на кипящей водяной бане в течение 5 – 7 минут, охлаждают и фильтруют через вату в коническую колбу. К фильтрату добавляют 0,5 г калия бромида, 2 капли раствора тропеолина 00, 1 каплю раствора метиленового синего и титруют 0,1 М раствором натрия нитрита при температуре 18 – 20⁰ С, прибавляя его по 0,3 мл в начале титрования, а в конце титрования (за 0,2 мл до точки эквива-

лентности) – по одной капле до перехода красно-фиолетового окрашивания в голубое (химизм см. пропись 16 на примере новокаина).

Параллельно проводят контрольный опыт на индикаторы.

1 мл 0,1 М раствора натрия нитрита соответствует 0,01652 г $C_9H_{11}NO_2$ (анестезина).

$$X_{\text{анестезин (г)}} = \frac{(V_{\text{NaNO}_2 \text{ о.о}} - V_{\text{NaNO}_2 \text{ к.о}}) \cdot k_{\text{NaNO}_2} \cdot T_{\text{NaNO}_2/\text{анестезин}} \cdot 100,0}{0,5}$$

Цинка окись. 0,5 г мази помещают в коническую колбу, прибавляют 5 мл кислоты хлороводородной разведенной, 10 мл воды, кипятят на водяной бане в течение 10 минут, охлаждают и фильтруют через вату в коническую колбу. Фильтрат нейтрализуют раствором аммиака (индикатор метиловый красный), прибавляют 5 – 7 мл аммиачного буферного раствора, 0,05 г индикаторной смеси кислотного хром-черного специального и титруют 0,05 М раствором трилона Б до появления синего окрашивания.

1 мл 0,05 М раствора трилона Б соответствует 0,004069 г ZnO.

$$X_{\text{ZnO (г)}} = \frac{V_{\text{Тр. Б}} \cdot k_{\text{Тр. Б}} \cdot T_{\text{Тр. Б}/\text{ZnO}} \cdot 100,0}{0,5}$$

При подборе какой-либо кислоты в качестве растворителя следует помнить о свойствах анализируемых веществ. Например, хлористоводородные соли висмута мало растворимы. Поэтому для извлечения ксероформа, висмута нитрата основного, дерматолана необходимо использовать кислоту азотную.

Количественный анализ суппозитория, содержащих новокаин и ксероформ иллюстрирует пропись 37.

ПРОПИСЬ 37 *Экстракта белладонны 0,015*

Новокаина

Ксероформа по 0,12

Масла какао 1,0

Новокаин. К 0,3 г навески суппозитория прибавляют по 0,2 мл хлороформа и кислоты хлороводородной разведенной, 10 мл воды и перемешивают в течение 3 – 5 минут до растворения основы и новокаина. Затем прибавляют 0,2 г калия бромид, 2 капли раствора тропеолина 00, 1 каплю раствора мети-

ленового синего и титруют 0,1 М раствором натрия нитрита при 18 – 20° С, прибавляя его по 0,3 мл в минуту в начале титрования, а в конце титрования (за 0,2 мл до точки эквивалентности) – по одной капле в минуту до перехода красно-фиолетового окрашивания в голубое (химизм – см. пропись 16).

Параллельно проводят контрольный опыт на индикаторы.

1 мл 0,1 М раствора натрия нитрита соответствует 0,02728 г $C_{13}H_{20}N_2O_2 \cdot HCl$ (новокаина).

$$X_{\text{новокаин}} = \frac{(V_{\text{NaNO}_2, \text{о.о}} - V_{\text{NaNO}_2, \text{к.о}}) \cdot k_{\text{NaNO}_2} \cdot T_{\text{NaNO}_2 / \text{новокаин}} \cdot 1,255}{0,3}$$

г / 1 суппозиторий

Ксероформ. 0,3 г навески суппозитория помещают в коническую колбу, добавляют 2 мл азотной кислоты разведенной, 5 мл пергидроля и кипятят в течение 5 – 7 минут. Смесь охлаждают, прибавляют 10 мл воды, 2 мл хлороформа, 3 – 4 капли раствора ксиленолового оранжевого и титруют 0,05 М раствором трилона Б до перехода красного окрашивания водного слоя в желтое.

1 мл 0,05 М раствора трилона Б соответствует 0,01165 г Bi_2O_3 , коэффициент пересчета на ксероформ 1,91.

$$X_{Bi_2O_3} = \frac{V_{\text{Тр. Б}} \cdot k_{\text{Тр. Б}} \cdot T_{\text{Тр. Б} / Bi_2O_3} \cdot 1,255}{0,3}$$

г / 1 суппозиторий

Растворимость фурациллина повышается в присутствии натрия хлорида, поэтому для извлечения лекарственного вещества из мягкой лекарственной формы используют 0,9% раствор натрия хлорида.

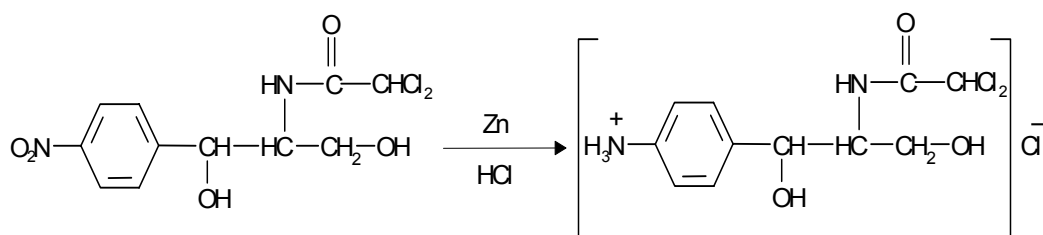
Для анализа левомицетина вещество обрабатывают раствором кислоты хлороводородной с добавлением цинковой пыли. В результате нитрогруппа в молекуле лекарственного вещества восстанавливается до первичной ароматической аминогруппы и растворимость образовавшегося соединения значительно повышается в присутствии кислоты (пропись 38).

ПРОПИСЬ 38 Мазь левомицетиновая 0,5%

Методика. К 1,5 г мази прибавляют 5 мл кислоты хлороводородной разведенной и нагревают на водяной бане до расплавления основы. После охла-

ждения водное солянокислое извлечение отделяют от основы и фильтруют. Экстракцию кислотой повторяют еще два раза по 5 мл, фильтруя через тот же фильтр.

К фильтрату добавляют 2 мл кислоты хлороводородной концентрированной, 0,25 г цинковой пыли и нагревают на водяной бане 15 минут. После охлаждения жидкость фильтруют. Колбу и фильтр промывают 40 мл воды, присоединяя ее к основному фильтрату и далее проводят нитритометрическое определение аминокпроизводного левомицетина.



Титрант 0,02 М раствор натрия нитрита; химизм – см. пропись 16 на примере новокаина).

Параллельно проводят контрольный опыт.

1 мл 0,02 М раствора натрия нитрита соответствует 0,006462 г $C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$ (левомицетина).

$$X_{\text{левомицетин (\%)}} = \frac{(V_{\text{NaNO}_2, \text{о.о}} - V_{\text{NaNO}_2, \text{к.о}}) \cdot k_{\text{NaNO}_2} \cdot T_{\text{NaNO}_2 / \text{левомицет.}}}{1,5} \cdot 100\%$$

При анализе мазей, содержащих оксиды металлов, карбонаты, анестезин и др. вещества, растворимость которых повышается в присутствии кислот, последние нужно добавлять в необходимом количестве и нагревать на водяной бане не только до расплавления основы, но несколько дольше, чтобы исследуемое вещество провзаимодействовало с кислотой.

Более длительно нагревают мягкую лекарственную форму и при извлечении веществ, мало растворимых в воде (кислота борная, кислота салициловая, левомицетин и др.).

В полученном извлечении исследуют вещества с помощью соответствующих реакций подлинности и методов количественного определения.

В мягких лекарственных формах определение чаще проводят в присутствии основы. Исследуемые вещества растворяют при нагревании на водяной бане в соответствующих растворителях (вода, кислоты и др.). После охлаждения прибавляют эфир или хлороформ для растворения основы и титруют.

Основы часто не бывают нейтральными. Поэтому при кислотно-основном титровании желательно ставить контрольный опыт или учитывать поправку, установленную на данную партию основы.

Титрование окислительно-восстановительными методами в присутствии основы не рекомендуется, так как последняя также может вступать во взаимодействие с титрантом.

Тема 19. КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ В БИОЛОГИЧЕСКИХ ЖИДКОСТЯХ (фармакокинетические исследования лекарственных средств)

Успехи современных физико-химических методов анализа определили становление и развитие фармакокинетики – относительно новой науки изучающей судьбу лекарственных средств (ЛС) в организме. В первую очередь предметом изучения фармакокинетики является исследования процессов всасывания, распределения в различных органах и тканях и связывания с белками ЛС.

Количественное определение ЛС в биологических жидкостях является основным этапом фармакокинетических исследований ЛС. Необходимость этих исследований возникает в различных ситуациях:

➤ проведение «терапевтического лекарственного мониторинга» – регулярного контроля за концентрацией ЛС в плазме крови в процессе проведения фармакотерапии (особенно для препаратов с узким терапевтическим диапазоном дигоксин, гентамицин, теofilлин, карбамазепин и другие). При этом основной задачей фармакокинетики являются обоснованные рекомендации в отношении режимов назначения препаратов, величин поддерживающих доз и периодичности приема, которые обеспечивали бы быстрое достижение и длительное поддержание концентрации ЛС в пределах терапевтического диапазона;

➤ фармакокинетические исследования новых ЛС – доклинические исследования на животных (определение динамики концентрации после введения в терапевтических дозах, определение токсических концентраций и другое), клинические исследования (определение динамики концентрации у здоровых добровольцев – I фаза, у пациентов с соответствующей патологией после однократного и на фоне курсового приема – II фаза, пострегистрационные исследования);

➤ исследования по биоэквивалентности воспроизведенных (генерических) ЛС (определение динамики концентрации после однократного приема ЛС у здоровых добровольцев или в некоторых случаях крупных видах животных в сравнении с оригинальным препаратом);

➤ при изучении особенностей метаболизма ЛС, факторов влияющих на него и при изучении взаимодействия ЛС в условиях организма;

➤ при разработке и проведении лекарственных тестов для оценки функции органов и систем (кофеиновый тест, MEGX - тест, эритромициновый тест и другие).

Таким образом, исходя из выше сказанного понятно, что определение концентраций ЛС в биологических жидкостях является важной задачей не только при подборе оптимальной схемы дозирования, но и в других ситуациях.

Определение ЛС в биологических жидкостях включает в себя следующие стадии:

1) отбор проб и их хранение. Чаще всего определение ЛС проводят в крови (цельной, плазме или сыворотке крови), также бывает необходимо анализировать содержание ЛС в слюне, моче, реже спинномозговой или внутрисуставной жидкости. Время отбора проб после приема анализируемого ЛС определяется задачами исследования. Количество жидкости отбираемое для исследования должно обеспечивать два определения (в случае если возникнет необходимость повторного измерения). Хранятся пробы в замороженном виде при температуре от -18°C и ниже. Так, например при температуре -35°C 90 % ЛС могут храниться без изменения содержания в течение 6 месяцев. Незначительное число ЛС требуют еще более низкой температуры хранения или не хранятся и должны анализироваться сразу после отбора проб. Пробы могут быть заморожены только один раз. Разморозка, повторная заморозка и затем опять разморозка для анализа недопустимы. Поэтому рекомендуется одну пробу разливать и хранить в двух пробирках: одна берется для анализа, а вторая остается в морозилке для повторного анализа этой пробы в случае необходимости. Все пробы должны иметь четкую, подробную маркировку;

2) выбор метода количественного определения и подбор условий анализа. Для получения достоверных результатов важное значение имеет правильный выбор метода количественного определения ЛС в биологической жидкости, который зависит от химических свойств вещества и задач исследования. Подбор условий анализа может включать выбор аналитической длины волны, состава подвижной фазы и другие в зависимости от метода;

3) изолирование (выделение) ЛС из биологической жидкости с последующим концентрированием. Для этой цели используют твердо-фазную или жидко-фазную экстракцию ЛС из биологической жидкости. Условия экстракции полностью определяются химическими свойствами ЛС. Для твердо-фазной экстракции используют патроны с различными сорбентами (типа Sep-Pak или другие). Жидко-фазная экстракция, как правило, осуществляется органическими экстрагентами (хлороформ, эфир, гексан и другие) в необходимой кислой или щелочной среде. Так, например, диклофенак натрия является производным о-аминофенилуксусной кислоты, его $pK_a = 4.0$, следовательно, для эффективной экстракции из плазмы крови необходима кислая реакция среды и $pH=2.0$, что достигается добавлением

к пробе 200 мкл 1М раствора о-фосфорной кислоты. Реже используются и другие способы выделения ЛС, например, осаждение белков 30% раствором HClO_4 . Концентрирование ЛС достигается путем либо упаривания экстрагента до сухого остатка, который растворяется в нескольких микролитрах растворителя, либо путем реэкстракции;

4) собственно количественный анализ. Как правило, проводится методами абсолютной калибровки или внутреннего стандарта;

5) обработка результатов. В зависимости от поставленной цели исследования проводится статистическая обработка результатов в соответствии с задачами исследования, расчет фармакокинетических параметров, расчет оптимального режима дозирования, обсуждение результатов.

Методы, используемые для определения ЛС в биологических жидкостях

Основным фактором, отличающим определение ЛС в биологических жидкостях от их определения в фармацевтических препаратах и других продуктах, является низкое содержание ЛС в пробе (чаще нг/мл, реже несколько мкг/мл, а иногда пг/мл), а также присутствие в пробе большого числа эндогенных соединений или других ЛС, что и определяет повышенные требования к методам анализа.

В целом избранный для количественного определения ЛС в биологических жидкостях метод должен иметь высокую чувствительность, возможность работы с малыми объемами проб, большую специфичность и избирательность, отличаться точностью и воспроизводимостью, универсальностью (пригодностью для анализа различных ЛС), большой производительностью и возможностью автоматизации процесса анализа.

Избранный для этой цели метод должен быть настолько чувствительным, чтобы он позволял достоверно и точно определять в 10 раз меньшее количество, чем среднее количество вещества, всасывающееся после приема однократной дозы. Кроме того, метод должен быть достаточно специфичным, чтобы определять не изменившуюся часть лекарственного вещества в присутствии его метаболитов и эндогенных соединений.

Перечисленным требованиям отвечают в основном физико-химические методы. Химические методы анализа, рекомендованные Государственной Фармакопеей для количественного определения ЛС в лекарственных формах, такие как гравиметрические и титриметрические, из-за низкой чувствительности для этой цели непригодны.

Сравнительно редко используют *фотоколориметрию*. Этот метод применяют, когда нужно определить большие концентрации вещества или

сумму веществ. Недостаток использования фотоколориметрических методик заключается в сравнительно невысокой их точности.

Простотой выполнения и достаточной точностью отличается метод *спектрофотометрии* в УФ- и видимой областях спектра. Сравнительно невысокая чувствительность спектрофотометрических методик (от 1 мкг/мл до 1 мг/мл) ограничивает применение данного метода для тех групп ЛС, суточная доза которых составляет около 1 г.

По сравнению с УФ-спектрофотометрией чувствительность *флуориметрического* анализа значительно выше (около 0,01 мкг/мл). Особенно высокой чувствительностью отличаются спектрофлуориметрические определения. Недостатком метода является необходимость тщательной очистки испытуемых веществ, так как флуоресцировать могут многие вещества содержащиеся в биологических жидкостях.

Перечисленные методы отличаются большей эффективностью, если их применяют в сочетании с хроматографическими методами.

Тонкослойная хроматография (ТСХ) обладает высокой разрешающей способностью, чувствительностью, а также отличается простотой выполнения. Метод позволяет обнаруживать до 0,025 мг лекарственного вещества. Сочетание с денситометрией позволяет увеличить чувствительность до 10^{-7} , а при использовании специальных пластинок для высокоэффективной тонкослойной хроматографии (ВЭТСХ) чувствительность достигает 10^{-9} .

Газо-жидкостная хроматография (ГЖХ) позволяет определять микрограммовые и нанограммовые количества ЛС. Относительная погрешность метода $\pm (8-15)\%$ при содержании 10-25 нг/мл лекарственного вещества в биологической пробе. Метод ГЖХ обладает высокой разрешающей способностью, скоростью, точностью, эффективностью, наличием как специфических, так и универсальных детекторов.

Однако, способность большинства ЛС поглощать в УФ-диапазоне, термолабильность некоторых из них или необходимость получения более летучих производных – все это делает более пригодным для фармакокинетических исследований метод *высокоэффективной жидкостной хроматографии* (ВЭЖХ). Чувствительность ВЭЖХ определяется используемым прибором (оборудованием, детектором), а также свойствами анализируемого объекта и может достигать 10^{-9} . Благодаря большому количеству различных колонок метод обладает высокой селективностью и разделительной способностью. Это обусловило широкое внедрение метода в практику определения ЛС в биологических жидкостях.

Одним из современных методов анализа является *хромато-масс-спектрометрия*, в котором масс-спектрометр используется как высокочувствительный детектор к газовому хроматографу (ГХ/МС – метод). Основ-

ное достоинство – чрезвычайно высокая чувствительность, достигающая нескольких пикограммов (10^{-12}).

В настоящее время активно развивается новый эффективный метод количественного определения – *капиллярный электрофорез* (КЭФ). КЭФ объединяет различные электрофоретические и хроматографические процессы в единый метод разделения, позволяющий за несколько минут провести воспроизводимые разделения с высоким разрешением при чувствительности до атоммольного уровня (10^{-18}). Объем вводимой пробы составляет 5-50 нл. КЭФ прост в обслуживании и легко управляется, достигается быстрое разделение на сравнительно коротких колонках. Важным фактором является поддержание постоянства температуры в системе разделения, так как малейшее ее колебание приводит к резкому изменению времени удерживания веществ вследствие изменения вязкости буфера, рН, сопротивления в капилляре.

Для анализа малых концентраций ЛС и их метаболитов в биологических жидкостях широко применяются *иммунохимические методы*, которые отличаются высокой чувствительностью, специфичностью, простотой исполнения, позволяют одновременно анализировать большое число проб, не требуют дополнительной или специальной очистки пробы или концентрирования и поэтому очень удобны. В основе этих методов лежит специфическая реакция антител с молекулами определяемого вещества (гаптеном).

С целью детектирования результатов реакции один из компонентов реакции метят специальной меткой. В зависимости от природы применяемой метки и способа ее детектирования существует несколько видов иммунохимического анализа (радиоиммунный анализ, иммуноферментный анализ, поляризационный флюороиммуноанализ, люминесцентный иммуноанализ и другие).

Из перечисленных методов широкое распространение в анализе ЛС в биологических жидкостях получили иммуноферментный анализ (ИФА) и поляризационный флюороиммуноанализ (ПФИА). Преимуществом данных методов является быстрота и простота проведения анализа, а также отсутствие стадии выделения ЛС из биологической жидкости. Недостатком метода является обязательное наличие наборов реагентов к конкретному прибору на каждое анализируемое вещество, при этом перечень данных наборов достаточно ограничен, что не позволяет определять любое желаемое ЛС.

В целом любой метод количественного определения обладает рядом преимуществ и недостатков, которые и определяют показания к их применению (таблица 1). Поэтому выбор должен определяться целями и задачами исследования.

Таблица 1. Преимущества и недостатки различных методов фармакокинетики

Метод	Чувствительность метода	Преимущества (+) и недостатки (-) метода
Фотоколориметрия	1 мкг/мл	(-) определение больших концентраций, невысокая точность
УФ СФ	1 мкг/мл – 1 мг/мл	(-) невысокая чувствительность
Флуориметрия	0,01 мкг/мл	(-) необходимость тщательной очистки (многие вещества из биожидкостей также флуоресцируют)
ТСХ (с денситометрией) ВЭТСХ	10^{-7} 10^{-9}	(+) высокая чувствительность и разрешающая способность
ГЖХ	10^{-7}	(+) высокая разрешающая способность, скорость проведения анализа, точность, эффективность, специфичность и универсальность детектора (-) термолабильность некоторых ЛС, получение летучих производных ЛС
ВЭЖХ	10^{-9}	(+) высокая разрешающая способность, селективность, универсальность
ГХ/МС	10^{-12}	(-) высокая стоимость анализа
ИФА	$10^{-4} - 10^{-6}$ г/мл (гомогенный) $10^{-6} - 10^{-8}$ г/мл (гетерогенный)	(+) высокая чувствительность, специфичность, простота, нет стадии выделения ЛС (-) высокий фон – для гомогенного, время анализа 2-4ч – для гетерогенного
ПФИА	200 нг/мл	(+) высокая точность, стабильность метки, быстрота, невосприимчивость к изменению t^0 и рН (-) наличие наборов реактивов не для всех ЛС
КЭФ	10^{-18}	(+) высокая чувствительность, маленький объем пробы, быстрота, простота (-) поддержание постоянной t^0 , высокая стоимость

С учетом всех плюсов и минусов наибольшее распространение для определения ЛС в биологических жидкостях и изучения их фармакокинетики ЛС получил метод ВЭЖХ.

Материально-техническое обеспечение метода ВЭЖХ

Основными узлами высокоэффективного жидкостного хроматографа являются: насос высокого давления (может быть несколько для создания градиента), устройство для ввода проб (инжектор или автосамплер), колонка, детектор, регистрирующее устройство. Современные жидкостные хроматографы могут быть снабжены интерфейсом с компьютерной программой, с помощью которых можно автоматически производить ввод пробы, поддерживать условия хроматографического процесса по заданной программе, автоматически изменять условия анализа, проводить расчет количественного состава анализируемого ЛС и статистические расчеты.

В качестве детекторов в жидкостной хроматографии чаще используют спектрофотометрический детектор с переменной длиной волны или флуориметрический. Могут быть использованы и другие детекторы, например, ионизационно-пламенный, электрохимические, масс-спектрометрический.

В обращеннофазной хроматографии обычно применяют готовые стальные колонки, заполненные силикагелем с привитыми гидрофобными группами (“Lichrosorb C₁₈” размером 250x4,6 мм, “Nucleosil 120-3 C₁₈” размером 125x4 мм, “Zorbax ODS” размером 150x4,6 мм и многие другие), и в качестве элюента (подвижной фазы) – водные растворы, содержащие низшие спирты или ацетонитрил.

Время выхода компонента из колонки при одних и тех же условиях разделения будет всегда постоянно и может служить характеристикой данного компонента (качественный анализ), а площадь (или высота) пика – пропорциональна количеству данного компонента в пробе (количественный анализ).

На практике широко применяются жидкостные хроматографы различных фирм Shimadzu, Hewlett Packard, Gilson, Waters, Varian и другие. Кроме того для анализа необходимы: автоматические пипетки; пробирки с завинчивающимися крышками, на 10, 15, 20 мл; конические колбы для упаривания; микрошприц на 25, 100 мкл; фильтры Millipore; весы (предел взвешивания 0,01 мг/ 41 г); встряхиватель для пробирок – vortex; роторный испаритель с вакуумным насосом и водяной баней; центрифуга. В зависимости от методики вспомогательное оборудование может варьировать.

Для проведения калибровки прибора с целью построения калибровочного графика необходимы стандартные образцы определяемого ЛС и внутреннего стандарта (если он используется) с точно известным количе-

ственным содержанием. В анализе также используются ЛС реактивы и растворы, указанные в Государственной Фармакопее X и XI изданий.

Технология проведения анализа методом ВЭЖХ

Для наглядной демонстрации анализа ЛС методом ВЭЖХ в различных биологических жидкостях ниже представлены примеры определения некоторых ЛС с различными типами детекторов, условиями экстракции и хроматографирования.

Для детектирования налтрексона и ламивудина использован УФ-спектрофотометрический детектор, а выделение их из плазмы крови проводят методом твердо-фазной экстракции.

Детектирование нифедипина и индометацина также проводят с УФ-спектрофотометрическим детектором, а выделение из плазмы методом жидко-фазной экстракции. При этом из-за чувствительности производных 1,4-дигидропиридина к свету весь анализ проводят в темноте.

Использование флюориметрического детектора показано на примере анализа ацикловира и верапамила.

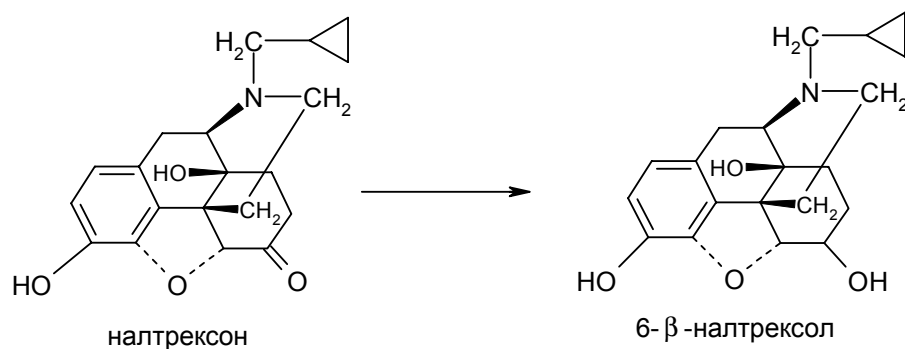
Иногда для повышения предела определения используют различные приемы, одним из которых является дериватизация. Анализ с дериватизацией представлен на примере определения метаболита лидокаина - MEGX. Данная методика используется при проведении MEGX - теста используемого в гепатологии для оценки функции печени. Для лучшего разделения компонентов в данной методике также используется проведение анализа не при комнатной температуре, а при нагревании колонки в термостате.

На примере налтрексона подробно описана вся процедура анализа. Остальные примеры включают в себя условия проведения определения. Данные примеры показывают, что выбор условий хроматографического анализа ЛС и их выделения из биологических жидкостей полностью определяется физико-химическими и химическими свойствами определяемого соединения.

Меняя состав подвижной фазы, тип детектора, сорбента в колонке можно подобрать такие условия, которые будут максимально соответствовать задачам анализа, позволяя проводить качественный и количественный анализ одного или нескольких компонентов в их минимальном количестве.

Определение налтрексона и его метаболита(6-β-налтрексол)

После приема налтрексона, в организме, под действием системы изоферментов цитохрома P-450 образуется активный метаболит 6-β-налтрексол:



Для совместного выделения и последующего определения налтрексона и его метаболита в плазме или сыворотке крови испытуемых используют твердо-фазную экстракцию с помощью патронов Oasis® MAX, фирмы «Waters». Перед анализом патроны последовательно промывают 1 мл метанола и 1 мл дистиллированной воды. Затем через патроны последовательно пропускают 1 мл плазмы, 1 мл 5 % раствора метанола в 2 % NH₄OH и 1 мл 20 % раствора метанола в 2 % NH₄OH. Далее пропускают 500 мкл 25 % раствора метанола в 2 % CH₃COOH, который собирают в коническую колбу, нагревают 45 минут при 70⁰С на водяной бане и аликвоту (100 мкл) вводят в хроматограф.

Для анализа используют жидкостной хроматограф с УФ-спектрофотометрическим детектором с переменной длиной волны. Анализ проводят при длине волны (λ) 215 нм. Разделение проводят подвижной фазой состава ацетатный буфер с рН 5,0 (к 450 мл 0,02 М ацетата аммония добавляют уксусную кислоту до рН 5,0, затем добавляют 270 мкл триэтиламина и доводят концентрированной о-фосфорной кислотой до рН 5,0) - ацетонитрил в объемном соотношении 95:5 со скоростью подвижной фазы 1,5 мл/мин на колонке Supelco LC-18-DB 5мкм; 4,6*150мм.

В указанных условиях время выхода пика налтрексона составляет 17,5 минут, а пика его метаболита - 16,3 минуты.

На рисунке 1 представлены хроматограммы налтрексона и его метаболита. Как видно на рисунке б место выхода пиков анализируемых соединений свободно, а появившиеся пики – рисунок в – соответствуют по времени удерживания пикам определяемых соединений – рисунок а.

Для оценки разделения исследуемых компонентов USP 24 (The United States Pharmacopeia - NF) и следующих изданий рекомендует рассчитывать параметры, характеризующие пригодность хроматографической системы:

$$k' = \frac{t}{t_\alpha} - 1$$

$$N = 5,54 \left(\frac{t}{W_{h/2}} \right)^2 \quad \text{или} \quad N = 16 \left(\frac{t}{W} \right)^2$$

$$R_r = \frac{t_2}{t_1}$$

$$\alpha = \frac{t_2 - t_\alpha}{t_1 - t_\alpha}$$

$$R = \frac{2(t_2 - t_1)}{1,70(W_{1h/2} + W_{2h/2})} \quad \text{или} \quad R = \frac{2(t_2 - t_1)}{W_2 + W_1}$$

где:

N – число теоретических тарелок (эффективность колонки);

t – время выхода пика анализируемого вещества, минуты или мм;

t_α – время выхода несорбируемого компонента;

t_1 – время выхода первого пика;

t_2 – время выхода второго пика;

k' – коэффициент емкости;

W – ширина пика;

$W_{h/2}$ – ширина пика на полувысоте;

R и R_r – разделение двух пиков;

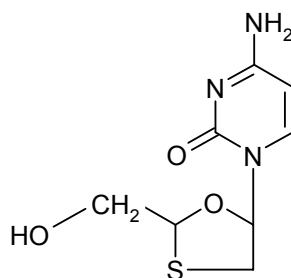
α – селективность.

Расчет по $W_{h/2}$ применяется в случае использования электронного интегратора.

Предел детектирования (минимальное количество обнаруживаемое на хроматограмме) составляет 5 нг/мл, предел определения (количество вещества, площадь пика которого в пять раз превышает уровень “шумов” – базовой линии) – 7 нг/мл. Эффективность экстракции (по отношению площади пика определяемого вещества в плазме крови к площади пика данного вещества в стандартном растворе) – 89 %.

Количественное определение проводят методом абсолютной калибровки по площади пика. С этой целью строят график зависимости площади пика вещества от его содержания в пробе в диапазоне концентраций содержащихся в плазме крови и рассчитывают параметры линейной регрессии (рисунок 2).

Определение ламивудина



Ламивудин

Биологическая жидкость. Сыворотка, плазма.

Экстракция. Выделение ламивудина из плазмы крови проводят методом твердо-фазной экстракции на патронах Sep-Pak C18 (фирмы "Waters"). Перед работой патроны промывают 1 мл метанола и 1 мл воды. Далее через патроны пропускают 1 мл плазмы крови и 1 мл воды. Затем пропускают 1 мл метанола, который собирают в конические колбы и упаривают на роторном испарителе под вакуумом при -37°C . К сухому остатку добавляют 150 мкл подвижной фазы, встряхивают на vortex 1 минуту и центрифугируют 4 минуты при 10000 об/мин. Аликвоту 100 мкл вводят в хроматограф.

Хроматографический анализ. Анализ проводят на жидкостном хроматографе с УФ-спектрофотометрическим детектором с переменной длиной волны при длине волны 270 нм. В анализе используют обращеннофазную хроматографическую колонку μ -Bondapak 3,9*300 мм; 10 мкм (Waters). Элюирование проводят подвижной фазой состава 0,005 М KH_2PO_4 (pH 6,8) - метанол в соотношении 92-8. Подвижную фазу перед использованием дегазируют под вакуумом. Скорость элюирования составляет 0,5 мл/мин. ~~В биологической жидкости определение~~ проводят методом абсолютной калибровки.

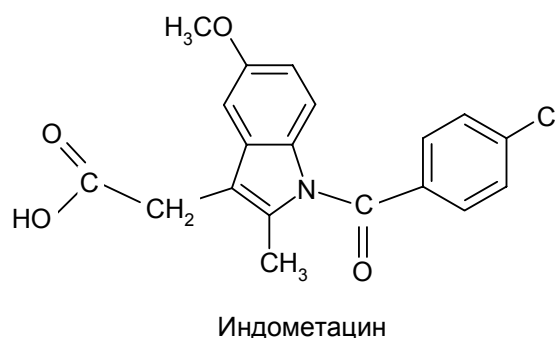
Примечание. По аналогичной методике, немного меняя соотношение компонентов в подвижной фазе, можно определять препараты ставудин и зидовудин.

Определение индометацина

Биологическая жидкость. Сыворотка, плазма.

Экстракция. К 1 мл плазмы добавляют 200 мкл 1М о-фосфорной кислоты, встряхивают 10 секунд и добавляют 4 мл хлороформа. Смесь экстрагируют 10 минут, затем центрифугируют 10 минут при 3000 об/мин, органический слой переносят в конические колбы и упаривают на роторном испарителе под вакуумом. К сухому остатку добавляют 150 мкл подвиж-

ной фазы и аликвоту 100 мкл вводят в хроматограф.



Хроматографический анализ. Анализ проводят на жидкостном хроматографе с УФ-спектрофотометрическим детектором при λ 260 нм. Используют хроматографическую колонку Диасорб 130-C16 7мкм; 4*150 мм. Элюирование проводят подвижной фазой состава ацетонитрил – вода в соотношении 66-34, доведенной 1М о-фосфорной кислотой до pH 3,0. Подвижную фазу перед использованием дегазируют под вакуумом. Скорость элюирования составляет 1,3 мл/мин. Время выхода пика индометацина 13 минут.

Количественное определение проводят методом абсолютной калибровки.

Определение нифедипина



Биологическая жидкость. Сыворотка, плазма.

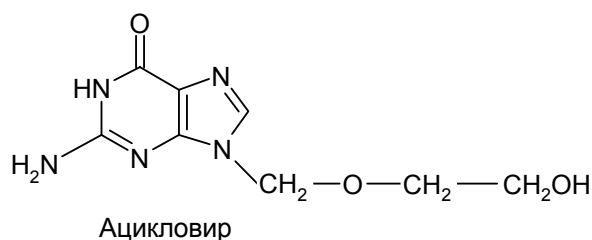
Экстракция. К 1 мл плазмы добавляют 200 мкл 1N раствора гидроксида натрия и 4 мл смеси хлороформ-гексан (3:7). Смесь экстрагируют в завинчивающихся пробирках 10 минут. Затем водный и органический слои разделяют центрифугированием (10 минут при 3000 об/мин). Пробы замораживают в течение 20 минут при -20°C , затем органическую фазу количественно переносят в конические колбы и упаривают досуха под вакуумом с помощью роторного испарителя при температуре 37°C . Сухой остаток растворяют в 120 мкл подвижной фазы. Аликвоту (100 мкл) вводят в хроматограф.

Хроматографический анализ. Анализ проводят на жидкостном хроматографе с УФ-спектрофотометрическим детектором при λ 238 нм. Используют хроматографическую колонку Диасорб 130-C16 7мкм; 4*150 мм. Элюирование проводят подвижной фазой состава ацетонитрил – 0,15 М раствора NaH_2PO_4 в соотношении 45-55. Подвижную фазу перед использованием дегазируют под вакуумом. Скорость элюирования составляет 1 мл/мин. Время выхода пика нифедипина 5,2 минуты.

Количественное определение проводят методом внутреннего стандарта (внутренний стандарт - нитрендипин или нисолдипин, время выхода – около 10 минут).

Примечание. Нифедипин и его аналоги очень быстро разлагаются на свету, поэтому все процедуры по отбору проб и их анализу следует проводить в затемненном помещении, а пробирки оборачивать темной бумагой.

Определение ацикловира



Биологическая жидкость. Сыворотка, плазма.

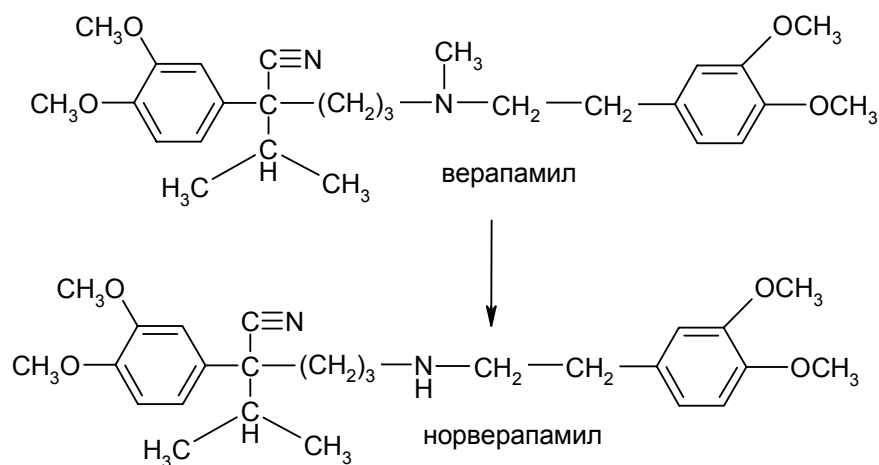
Экстракция. К 1 мл плазмы крови добавляют 300 мкл 30 % HClO_4 , встряхивают на vortex 10 секунд, центрифугируют 10 минут при 5000 об/мин, супернатант фильтруют и аликвоту (50 мкл) вводят в хроматограф.

Хроматографический анализ. Анализ проводят на жидкостном хроматографе с флюориметрическим детектором при λ_{ex} 260 нм и λ_{em} 375 нм. Используют хроматографическую колонку: Supelco LC-18-DB 5 мкм, 150*4,6 мм. Элюирование проводят подвижной фазой состава ацетонитрил – 0,02 М фосфатный буфер с рН 3,0 в соотношении 4-96. Подвижную фазу перед использованием дегазируют под вакуумом. Скорость элюирования составляет 1 мл/мин. Время выхода пика ацикловира 4,1 минуты.

Количественное определение проводят методом абсолютной калибровки.

Определение верапамила и его активного метаболита

После приема верапамила, в организме, под действием системы изоферментов цитохрома P-450 образуется активный метаболит норверапамил:



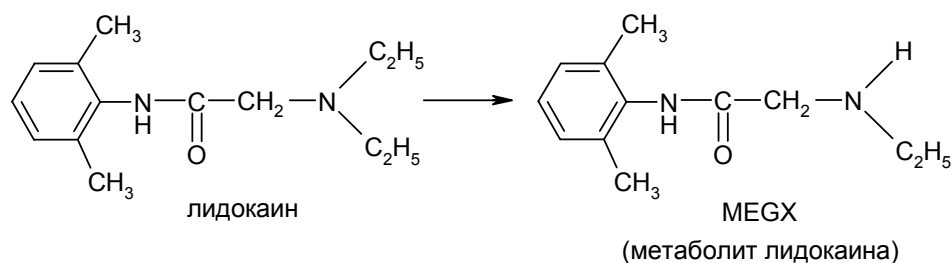
Биологическая жидкость. Сыворотка, плазма.

Экстракция. К 1 мл плазмы добавляют 100 мкл 2М NaOH и 5 мл гептана. После экстрагирования в течение 10 минут пробы центрифугируют 15 минут при 3000 об/мин, затем органический слой количественно переносят в чистые пробирки, добавляют 130 мкл 10% H₂SO₄, встряхивают на vortex в течение 1 минуты, центрифугируют 4 минуты при 3000 об/мин и аликвоту (100 мкл) вводят в хроматограф.

Хроматографический анализ. Анализ проводят на жидкостном хроматографе с флуориметрическим детектором при λ_{ex} 203 нм и λ_{em} без фильтра. Используют хроматографическую колонку Zorbax ODS 4,6*150 мм. Элюирование проводят подвижной фазой состава ацетонитрил – фосфатный буфер с рН 3,7 в соотношении 29 - 71. Подвижную фазу перед использованием дегазируют под вакуумом. Скорость элюирования составляет 1,2 мл/мин. Время выхода пика верапамила 15 минут, норверапамила 14 минут.

Количественное определение проводят методом абсолютной калибровки.

Определение лидокаина и его метаболита

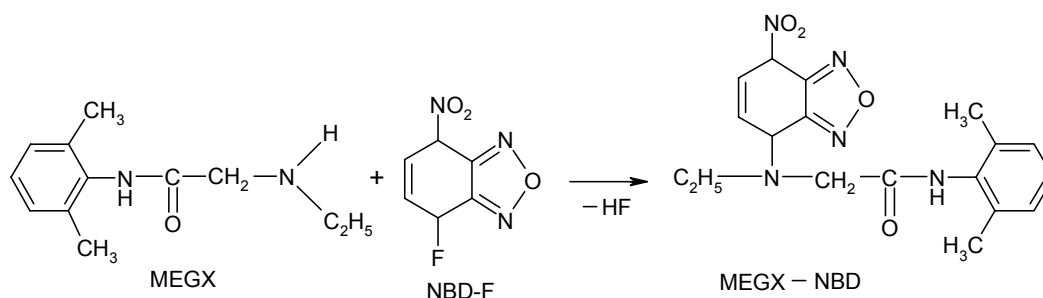


После введения лидокаина, в организме в гепатоцитах, под действием системы изоферментов цитохрома Р-450 образуется метаболит MEGX.

Биологическая жидкость. Сыворотка, плазма.

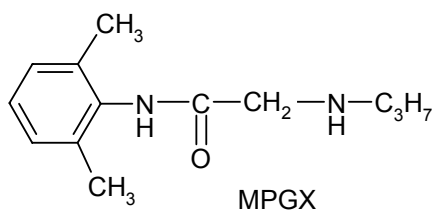
Экстракция. К 500 мкл плазмы (или сыворотки) добавляют 250 мкл раствора внутреннего стандарта в ацетонитриле (0,2 мг/л) и 15 секунд перемешивают на vortex, затем добавляют 500 мкл боратного буфера (pH 9,5) и 15 секунд перемешивают на vortex, далее добавляют 2 мл дихлорметана и встряхивают на vortex 1 минуту. Пробы центрифугируют 10 минут при 4000 об/мин. Органический слой переносят в коническую колбу и упаривают его на роторном испарителе под вакуумом при 37⁰С.

Дериватизация. Выпаренный экстракт растворяют в 100 мкл насыщенного раствора тетрабората натрия в метаноле, добавляют 10 мкл свежеприготовленного раствора NBD-F (10 мг/мл в смеси этанол - ацетонитрил 3:1), встряхивают на vortex 5 секунд и нагревают при 60⁰С 10 минут. Затем пробу охлаждают, добавляют 10 мкл 25% HCl и встряхивают на vortex 5 секунд. Аликвоту (50 мкл) вводят в хроматограф. Дериватизация с MEGX с NBD-F проходит по следующей схеме:



Хроматографический анализ. Анализ проводят на жидкостном хроматографе с флуориметрическим детектором при λ_{ex} 340 нм и λ_{em} 520 нм. Используют хроматографическую колонку Ultrasphere ODS 5 мкм; 4,6*250 мм. Элюирование проводят подвижной фазой состава ацетонитрил – 0,05 М фосфатный буфер с pH 5,0 - тетрагидрофуран в соотношении 37-59-7. Подвижную фазу перед использованием дегазируют под вакуумом. Скорость элюирования составляет 1,5 мл/мин. Разделение проводят при температуре колонки 47⁰С. Время выхода пика MEGX 8,2 минуты, внутреннего стандарта 12,3 минуты.

Количественное определение проводят методом внутреннего стандарта. Внутренний стандарт – MPGХ:



Примечание. Данная методика требует четкого выполнения всех стадийных условий, иначе дериватизация будет протекать не количественно.

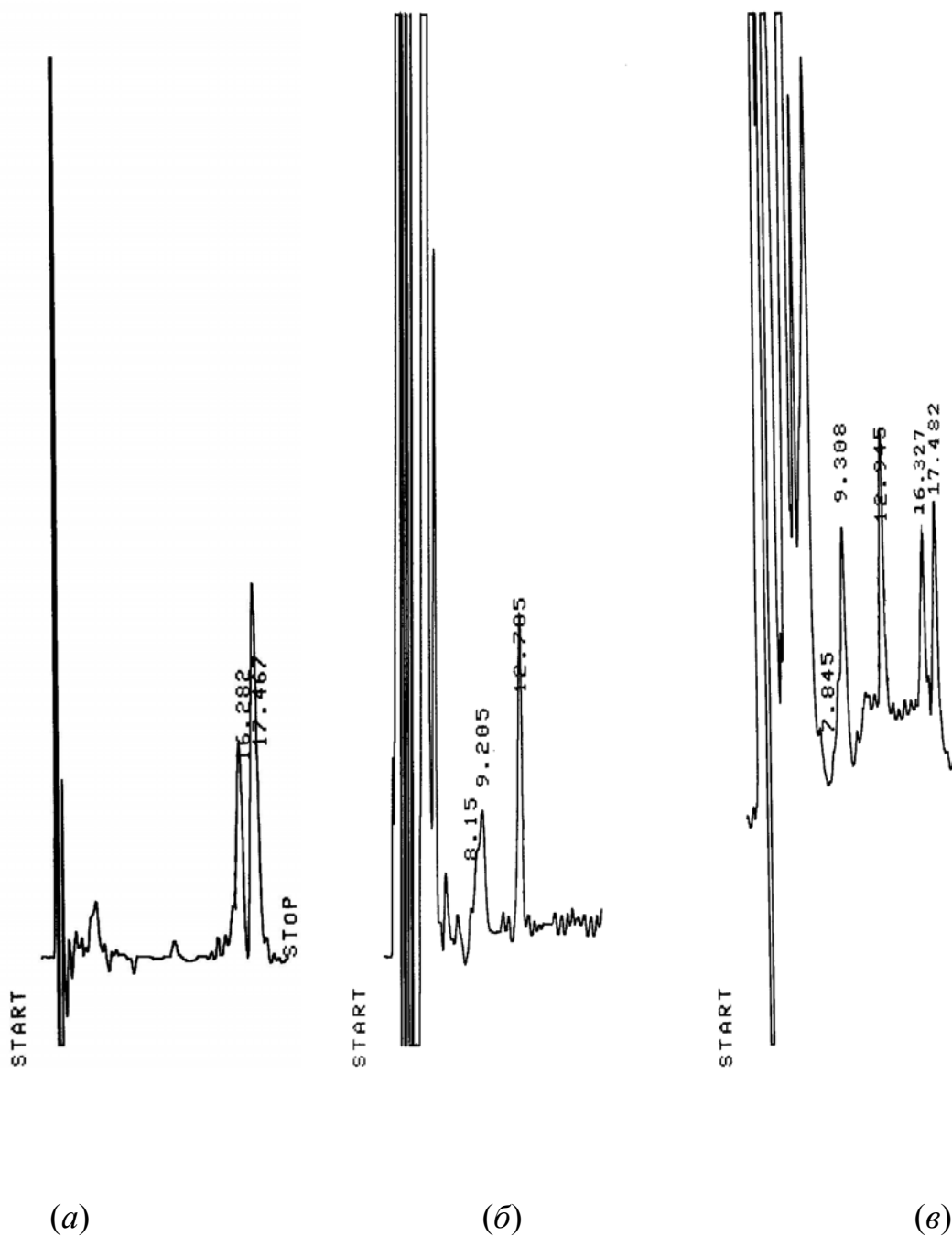


Рисунок 1. Хроматограмма стандартного раствора налтрексона и его метаболита (а), «чистой» плазма (б) и плазмы, содержащей налтрексон и его метаболит (в).

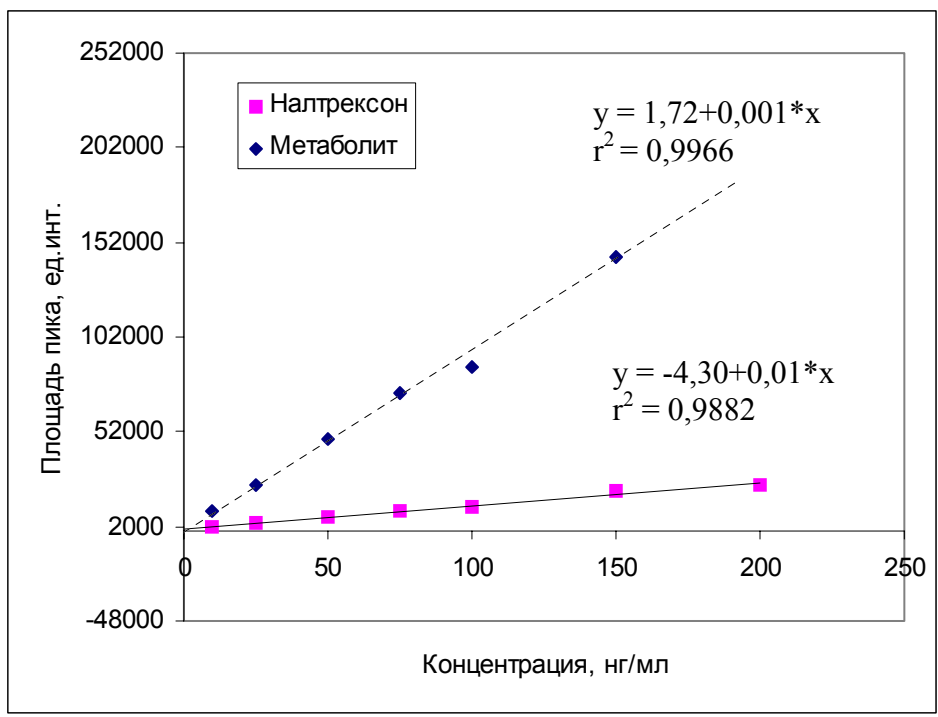


Рисунок 2. Калибровочный график количественного определения налтрексона и его метаболита в плазме крови

Тема 20. ВАЛИДАЦИЯ ФАРМАКОПЕЙНЫХ МЕТОДОВ

Определение валидации

Одним из аспектов формирования гармонизированных требований к качеству лекарственных средств является внедрение валидированных методик.

Валидация метода (Method validation) – это подтверждение обоснованности выбора метода для определения показателей и норм качества фармацевтической продукции по каждому разделу нормативной документации (НД).

Валидация выполняется с целью гарантировать, что аналитическая методология является точной, специфичной, воспроизводимой и правильной в пределах диапазона, в котором анализируется объект – (лекарственное средство (ЛС)). Валидация – это “процесс обеспечения обоснованного доказательства, что данный метод делает то, для чего он предназначен.” Валидация аналитического метода проводится с целью подтверждения его адекватности цели использования.

Параметры валидации (основные понятия и термины)

Правильность (точность) аналитического метода характеризует близость результатов испытаний, полученных данным методом, к истинному значению.

При количественном определении лекарственного вещества этот параметр может быть установлена путем применения аналитического метода к анализируемому объекту с использованием стандарта известной степени чистоты или путем сравнение результатов, полученных предлагаемой аналитической методикой, с результатами, которые получены другой независимой методикой, правильность которой известна.

В случае количественного определения вещества в лекарственной форме правильность аналитической методики устанавливается по результатам ее применения к анализу модельной смеси, включающей все компоненты лекарственной формы.

Правильность методики количественного определения идентифицированных примесных соединений устанавливается по результатам анализа методом добавок. При отсутствии образцов примесных соединений или в тех случаях, когда структура их не установлена, правильность предлагаемой ме-

тодики их определения должна быть подтверждена результатами анализа другой аналитической методикой с охарактеризованной правильностью.

Правильность должна быть оценена на основе не менее 9 определений на минимум 3 уровнях концентраций в пределе аналитической области (например, 3 повторности определения для 3 аналитических концентраций).

Воспроизводимость аналитического метода характеризует степень совпадения результатов индивидуальных испытаний при многократном его использовании. Она выражается величиной стандартного отклонения, коэффициентом вариации и доверительным интервалом и устанавливается при количественном определении не менее 9 аликвот образца, позволяющем статистически рассчитать эти параметры.

Воспроизводимость определяется в процессе разработки методики и характеризует надежность анализа в выбранных параметрах метода. Если измерения подвержены вариациям в условиях анализа, в методику должно быть включено соответствующее примечание.

Воспроизводимость хроматографических методик должна гарантироваться параметрами пригодности системы.

Межлабораторная воспроизводимость аналитического метода показывает степень воспроизводимости результатов испытаний, выполненных в различных лабораториях на соответствующем оборудовании, разными аналитиками в разное время.

Специфичность аналитического метода определяется его способностью достоверно определять лекарственное вещество в присутствии примесных и вспомогательных веществ.

Специфичность оценивается при валидации методов, применяемых для идентификации лекарственных веществ, определения примесей, установления количественного содержания вещества в образце и лекарственной форме.

Специфичность методик, применяемых для каждого из этих испытаний, достигается использованием стандартных образцов и может быть дополнительно подтверждена методом добавок соответствующих количеств лекарственного вещества и/или примесей, вспомогательных веществ. В тех случаях, когда примесные соединения не идентифицированы, специфичность предлагаемой методики должна быть обоснована результатами определений другим, независимым валидным методом.

Предел обнаружения выражается минимальным содержанием анализируемого вещества в образце, которое может быть обнаружено с помощью данной методики. Эта величина характеризует способность аналитической методики определять концентрации вещества выше и ниже требуемого уров-

ня. Предел обнаружения обычно выражается как концентрация анализируемого вещества (например, в процентах или долях на миллион - ppm) в образце и используется главным образом для испытаний на чистоту.

Для неинструментальных методов предел обнаружения устанавливается визуально. В случае использования инструментальных методов, имеющих фоновый сигнал, устанавливается минимальная концентрация, при которой анализируемое вещество может быть достоверно обнаружено. В таких случаях соотношение аналитического сигнала анализируемой пробы и фона составляет 2:1 или 3:1.

Предел обнаружения для инструментальных методов может быть установлен расчетным путем с использованием величине стандартного отклонения и угла наклона калибровочной кривой.

Предел количественного определения – это минимальное содержание анализируемого вещества, которое может быть количественно определено с приемлемой точностью и воспроизводимостью. Предел количественного определения выражается как концентрация анализируемого вещества в образце (в процентах, ppm). Данный параметр характеризует методику количественного определения низких концентраций вещества в образце, например, примесей в лекарственном веществе или лекарственных формах.

Установление предела количественного определения может проводиться визуально как для инструментальных, так и для неинструментальных методов, а также расчетным путем на основании величины стандартного отклонения и угла наклона калибровочной кривой.

Линейная зависимость устанавливается на основании результатов испытаний, которые пропорциональны концентрации анализируемого вещества в образце в пределах аналитической методики. Линейность результатов может быть представлена графически в виде зависимости аналитических сигналов от концентрации вещества (не менее 5).

Аналитическая методика должна быть охарактеризована следующими параметрами для подтверждения линейности: коэффициент регрессии, угол наклона линии регрессии и остаточная сумма площадей.

Аналитическая область методики в пределах которой соблюдается линейная зависимость, охватывает интервал между верхним и нижним пределами анализируемого вещества (включая эти пределы), в интервале которых данная методика обеспечивает его определение с требуемыми воспроизводимостью и точностью.

Аналитическая область обычно выражается в тех же единицах, что и результаты испытаний, полученных с помощью данной методики: процентах, миллионных долях.

Аналитическая область методики составляет:

- для количественного содержания анализируемого вещества в образце или лекарственной форме - 80-120% от определяемой величины;
- для показателя “однородность дозирования по содержанию” – 70-130% от определяемой величины;
- для показателя “Растворение” - +/-20% от предела, регламентированного НД;
- для содержания примесных продуктов – 50-120% от регламентированных норм.

Для фармакологически активных или токсичных примесей предел количественной оценки должен быть соразмерен уровню, на котором примесь должна контролироваться. Если установление количественного содержания и контроль примесей выполняются одновременно и при этом используется 100%-ный стандартный образец, линейность должна охватывать область “от установленного уровня до 120% от уровня ее содержания”, регламентированного НД.

Пригодность системы – это интегральная часть многих аналитических методик, которая показывает надежность анализа в заданных условиях его проведения. Параметры пригодности системы обеспечивают соблюдение валидности метода в тех случаях, когда в процессе анализа возможны некоторые внутрилабораторные изменения условий анализа. Например, для метода высокоэффективной жидкостной хроматографии в наибольшей степени подвергаются изменениям стабильность аналитических растворов, рН подвижной фазы, ее состав, различные серии колонок, температура, скорость потока.

Область применения

Валидация фармакопейных методов проводится на этапе подготовки нормативных документов на новые лекарственные средства или при пересмотре их в дальнейшем.

Валидации подвергаются аналитические методы, применяемые для:

- 1) идентификации лекарственного вещества;
- 2) установления пределов содержания примесей родственных соединений, тяжелых металлов, остаточных органических растворителей;
- 3) количественного определения:

АЛФАВИТНЫЙ УКАЗАТЕЛЬ

А

Адреналин

- гидротартрат
- гидрохлорид

Азатиоприн

Азидотимидин

Аллопуринол

Алпрозалам

Амброксол

Аметоптерин

Амидопирин

Амикацин

- сульфат

Аминазин

Аминалон

Аминоптерин

Амлодипин

Аммония хлорид

Амоксициллин

- тригидрат

Ампициллин

- натриевая соль

- тригидрат

Амфетамин

Анальгин

Анаприлин

Андрокур

Анестезин

Антигриппин

Антипирин

Апоморфин

- гидрохлорид

Апорфин

Апрофен

Арбидол

Атенолол

Атровент

Атропин

- сульфат

АТФ

Аценокумарол

Ацетилдигитоксин

Ацикловир

Б

Бактрим

Бария

- сульфат
- сульфат для рентгеноскопии

Барбитал

Барбитал-натрий

Бария сульфат

Бендазола гидрохлорид

Бензатина бензилпенициллин

Бензилпенициллин

- N,N'-дибензилэтилендиаминовая соль
- калиевая соль
- натриевая соль
- новокаиновая соль

Бензобамил

Бензонал

Бенфотиамин

Беродуал

Бициллин

Бромгексина гидрохлорид

Бромкамфора

Бромокриптин

Букарбан

Бутадион

В

Валидол

Верапамил

Викасол

Винпоцетин

Висмута нитрат основной

Витамин А

Витамин В₁

Витамин В₂

Витамины группы В₁₂

Витамин Д₁

Витамин Д₂

Витамин Д₃

Витамин Е

Витамины группы Р

Вода

- дистиллированная
 - для инъекций
 - очищенная
- Водорода пероксид
- раствор 3%
 - раствор концентрированный (пергидроль)
 - раствор 30%

Г

- Гадодиамид
Гадопентетата димеглумин для инъекций
Галактоза
Галотан
Гексаметиленetetрамин
Гексамидин
Гексенал
Гентамицин
 - сульфатГидроксикобаламин
Гидроксихлорохина сульфат
Гидрокортизон
 - ацетатГидроперит
Глибенкламид
Глицерин
 - раствор 10 % для инъекцийГлюкоза
 - раствор 10 %
 - раствор 20 %Гоматропина гидробромид

Д

- Дезоксикортикостерон
 - ацетатДексаметазон
Декстрога
Депонит
Депо-провера
Дермазин
Дибазол
Дигидрокверцитин
Дигидрострептомицин
Дигидроэргокальциферол

Дигидроэрготамин
Дигиланид С
Дигитоксин
Дигоксин
Димедрол
Дипразин
Дипрофиллин
Дифтордихлорметан [хладона-12]
Дихлотиазид
Диэтиламид никотиновой кислоты
Диэтилстильбэстрол
Доксициклин
– гидрохлорид
Дофамин
Дротаверина гидрохлорид
Дэфедрин

Ж

Железа

- глюконат
- сульфат
- фумарат

И

Изадрин
Известь хлорная
Изониазид
Изопреналин
– гидрохлорид
Индометацин
Иод
– раствор спиртовой
– раствор спиртовой

К

Калия

- ацетат
- бромид
- иодид
- хлорид
- хлорид-гипохлорит

Кальция

- глюконат
- лактат
- сульфат
- сульфат жженый
- хлорид

Кальциферол

Каметон

Камфора

Канамицин

- моносульфат
- сульфат

Карбенициллин

- динатриевая соль

Карбидопа

Кислота

- аскорбиновая
- ацетилсалициловая
- бензойная
- борная
- глутаминовая
- карболовая
- мефенамовая
- налидиксовая
- никотиновая
- оксолиниевая
- салициловая
- сульфокамфорная
- фолиевая
- хлористоводородная

Карбенициллина динатриевая соль

Кверцетин

Клонидина гидрохлорид

Клофелин

Кобамамид

Кодеин

- фосфат

Кокаин

- гидрохлорид

Кокарбоксилазы гидрохлорид

Колларгол

Коргликон

Кордиамин

Кортизон

- ацетат
- Кофеин
- Кофеин-бензоат натрия
- Крахмал
- Ксантинола никотинат
- Ксероформа

Л

- Лактоза
- Ламивудин
- Леводопа
- Левомецетин
 - стеарат
 - сукцинат растворимый
- Лидокаин
- Лития карбонат
- Ломефлоксацин

М

- Магния
 - сульфат
 - раствор 25 %
 - оксид
 - пероксид
- Масло
 - вазелиновое
 - какао
 - печени акулы
 - эвкалиптовое
- Меди сульфат
- Медроксипрогестерона ацетат
- Мезапам
- Ментол
- Меркаптопурин
- Местранол
- Метазид
- Метамизол-натрий
- Метандиенон
- Метандриол
- Метандростендиол
- Метандростенолон
- Метациклин
 - гидрохлорид

Метенамин
Метилдофа
Метиландростендиол
Метилметионинсульфония хлорид
Метилтестостерон
Метилурацил
Метилэргометрин
Метионин
Метициллин
Метотрексат
Метронидазол
Мономицин
Морфин
– гидрохлорид

H

Налтрексон
Нандролон
– деканоат
– фенилпропионат
Натрия
– бромид
– бензоат
– гидрокарбонат
– гидрокарбоната раствор для инъекций 5 %
– диклофенак
– иодид
– нитрит
– *пара*-аминосалицилат
– раствор 0,9 %
– салицилат
– тетраборат
– тиосульфат
– фторид
– хлорид
– цитрат
– цитрат раствор для инъекций
Неодикумарин
Неомицин
Неулептил
Ниаламид
Никардипин
Никотинамид

Нитразепам
Нитроглицерин
Нитрогранулонг Мите
Нитродерм TTS
Нитродиск
Нитро-дур
Нитрокор
Нитроксолин
Нитролингвал-аэрозоль
Нитро мазь 2%
Нитро-мак ретард
Нитронг мазь
Нитронг мите
Нитронг форте
Нифедипин
Ницерголин
Новокаин
– гидрохлорид
– раствор спиртовой 6 %
Нозепам
Нонахлазин
Норадреналин
– гидротартрат
Норколут
Норсульфазол
Норфлоксацин
Норэтистерон
Но-шпа

O

Оксафенамид
Оксациллин
– натриевая соль
– оксациллина натриевой соли кристаллогидрата
Оксикобаламин
Окситетрациклин
– гидрохлорид
– дигидрат
Ондансетрон
Офлоксацин

П

Пантоцид
Папаверина гидрохлорид

Парацетамол
Пармидин
Пенициламин
Пенициллин
Пенталгин
Пентаэритрит тетранитрат
Пикамилон
Пилокарпин
– гидрохлорид
Пипекурония бромид
Пирацетам
Пиридитол
Пиридоксальфосфат
Пиридоксина гидрохлорид
Платифиллин
Прегнин
Преднизолон
Преднизолон ацетат
Преднизон
Прогестерон
Промедол
Пропазин
Пропифеназон
Протаргол
Протионамид

P

Резерпин
Резорцин
Релиф суппозитории
Ретаболил
Ретинол
– ацетат
– пальмитат
Рибоксин
Рибофлавин
Рибофлавин-моноклеотид
Рингера раствор
Риодипин
Рутин
Рутозид

C

Салазопиридазин

Салициламид
Сальбутамол
Сахароза
Серебра нитрат
Серотонина адипинат
Сибазон
Синкумар
Синтомицин
Синэстрол
Скополамин
– гидробромид
Солафур
Сонапакс
Спирт этиловый
– раствор 40 %
– раствор 70 %
– раствор 90 %
– раствор 95 %
Ставудин
Стрептидин
Стрептобиозамин
Стрептомицин
– сульфат
Стрептоцид
Строфантин К
Сульфадиметоксин
Сульфален
Сульфацил-натрий
– раствор 30 %
Сульфокамфокаин
– 10% раствор для инъекций
Суматриптана сукцинат
Сусадрин
Сускард
Сустак мите
Сустак форте
Сустонит

T

Темисал
Теобромин
Теofilлин
Терпингидрат
Тестостерон

- пропионат
- пропионат 1% и 5% масляные растворы

Тетацин-кальция раствор для инъекций 10%

Тетрациклин

- гидрохлорид

Тиамин

- бромид
- хлорид

Тизерцин

Тимол

Тимолол

Тиопентал-натрий

Тиреоидин

L-тироксин

Токоферола ацетат

Трамал

Трансдерм-нитро

Триазолам

Триамцинолон

Трииодтиронин

Тринитролонг

Триптофан

Трифтазин

Трихомонацид

Трентол

Тропафен

Тропацин

Трописетрон

У

Уросульфам

Ф

Феназепам

Фенилбутазон

Фенилсалицилат

Фенилэфрина гидрохлорид

Феназон

Фенацетин

Фенобарбитал

Феноболин

Феноксиметилпенициллин

Фенол

Фенотерол

Фепромарон
Флуметазона пивалат
Флуоксетин
Флуоцинолона ацетонид
Форидон
Формальдегида раствор
Фосфотиамин
Фталазол
Фтивазид
Фторафур
Фторотан
Фторурацил
Фторфеназин
Фурагин
– растворимый
Фурадонин
Фуразолидон
Фурацилин
Фуросемид

Х

Хингамин
Хинидин
Хинин
– дигидрохлорид
– дигидрохлорида раствор 50 % для инъекций
– гидрохлорид
– гидрохлорид раствор 3 %
– сульфат
Хинозол
Хинолин
Хлозепид
Хлоралгидрат
Хлорамин Б
Хлорбутанолгидрат
Хлороформ
Хлорохина фосфат
Хлорхинальдол
Хлорэтил
Холекальциферол

Ц

Целанид
Цефалексин

Цефалоспорин С
Цефалотин
– натриевая соль
Цефокситина натриевая соль
Цианокобаламин
Циклоплатам
Цинка
– оксид
– сульфат
Ципробай
Ципротерона ацетат
Ципрофлоксацин
Цисплатин
Цистеин
Цитарабин

Э

Эмоксипин
Эноксацин
Энтеросептол
Эргокальциферол
Эргостерин
Эргометрин
Эрготамин
Эринит
Эстрадиол
– дипропионат
Этакридина лактат
Этаперазин
Этилбискумацетат
Этилморфина гидрохлорид
Этинилэстрадиол
Этионамид
Этацизин
Этмозин
Эуфиллин
Эфедрин
– гидрохлорид
Эфир
– диэтиловый
– для наркоза стабилизированный
– медицинский