

# ОПТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ В ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОМ АНАЛИЗЕ

Лабораторный практикум



МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ И НАУКИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ  
УРАЛЬСКИЙ ФЕДЕРАЛЬНЫЙ УНИВЕРСИТЕТ  
ИМЕНИ ПЕРВОГО ПРЕЗИДЕНТА РОССИИ Б. Н. ЕЛЬЦИНА

# ОПТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ В ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОМ АНАЛИЗЕ

Лабораторный практикум

Под общей редакцией С. Ю. Сараевой

Рекомендовано методическим советом УрФУ  
в качестве учебно-методического пособия для студентов, обучающихся  
по программам бакалавриата и магистратуры по направлениям подготовки  
04.04.01 «Химия», 18.04.01 «Химическая технология»,  
18.03.01 «Химическая технология»

Екатеринбург  
Издательство Уральского университета  
2015

УДК 542(075.8)  
ББК 35я73-1  
О258

А в т о р ы:

Ю. А. Глазырина, С. Ю. Сараева, А. Н. Козицина,  
Е. Л. Герасимова, А. И. Матерн

Р е ц е н з е н т ы:

лаборатория гетероциклических соединений  
Института органического синтеза УрО РАН  
(заведующий лабораторией кандидат химических наук,  
ведущий научный сотрудник Г. Л. Русинов);  
О. В. Лебянкина, кандидат фармацевтических наук  
(Свердловский областной медицинский колледж)

Н а у ч н ы й р е д а к т о р

доктор химических наук Ю. Ю. Моржерин

**Оптические** методы в фармацевтическом анализе : лабор.  
О258 ратор. практикум : [учеб.-метод. пособие] / [Ю. А. Глазырина,  
С. Ю. Сараева, А. Н. Козицина, Е. Л. Герасимова, А. И. Матерн] ;  
под общ. ред. С. Ю. Сараевой ; М-во образования и науки Рос.  
Федерации, Урал. федер. ун-т. — Екатеринбург : Изд-во Урал.  
ун-та, 2015. — 96 с.

ISBN 978-5-7996-1478-2

Изложены краткие теоретические основы оптических методов анализа (спектрофотометрия, поляриметрия и рефрактометрия) и даны указания к проведению лабораторных работ по выполнению анализа фармацевтических препаратов перечисленными методами.

Для студентов, изучающих дисциплины «Методы фармацевтического анализа», «Физико-химические методы анализа», «Основы фармацевтического анализа».

УДК 542(075.8)  
ББК 35я73-1

# ОГЛАВЛЕНИЕ

<b>СПИСОК ОСНОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ</b> .....	4
<b>ВВЕДЕНИЕ</b> .....	5
<b>СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ</b> .....	10
<i>Лабораторная работа 1.</i> Качественный анализ растворов, содержащих одно лекарственное средство.....	17
<i>Лабораторная работа 2.</i> Количественное определение однокомпонентных лекарственных средств .....	21
<i>Лабораторная работа 3.</i> Количественное определение лекарственных веществ в многокомпонентных лекарственных препаратах .....	29
<b>ПОЛЯРИМЕТРИЯ</b> .....	35
<i>Лабораторная работа 4.</i> Поляриметрическое определение содержания лекарственных веществ .....	42
<b>РЕФРАКТОМЕТРИЯ</b> .....	49
<i>Лабораторная работа 5.</i> Количественный и качественный рефрактометрический анализ растворов, содержащих одно лекарственное средство .....	57
<i>Лабораторная работа 6.</i> Количественное определение лекарственных веществ в многокомпонентных лекарственных препаратах .....	64
<i>Лабораторная работа 7.</i> Анализ спиртовых растворов лекарственных средств .....	71
<b>ПРИЛОЖЕНИЯ</b> .....	81
<i>Приложение 1.</i> Международные непатентованные названия (МНН) некоторых лекарственных веществ .....	83
<i>Приложение 2.</i> Выдержки из фармакопейных статей ГФ СССР X издания и ГФ РФ XII издания .....	84
<i>Приложение 3.</i> Выдержки из Норм отклонений, допустимых при изготовлении лекарственных форм (в том числе гомеопатических) в аптеках.....	92
<i>Приложение 4.</i> Оформление отчетов. Требования к технике безопасности.....	94
<b>СПИСОК РЕКОМЕНДУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ</b> .....	95

## СПИСОК ОСНОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ

% (м/м)	—	массовый процент (число граммов вещества в 100 граммах раствора)
% (м/о)	—	массо-объемный процент (число граммов вещества в 100 мл раствора)
% (о/о)	—	объемный процент (число миллилитров жидкого вещества в 100 мл раствора)
БАВ	—	биологически активное вещество
БАД	—	биологически активная добавка
ВЭЖХ	—	высокоэффективная жидкостная хроматография
ГОСТ	—	Государственный стандарт
ГСО	—	Государственный стандартный образец
ГФ РФ	—	Государственная фармакопея Российской Федерации
ДИО	—	допустимый интервал отклонения
ИК	—	инфракрасная (область спектра)
ЛВ	—	лекарственное вещество
ЛП	—	лекарственный препарат
ЛС	—	лекарственное средство
ЛФ	—	лекарственная форма
МЗ	—	Министерство здравоохранения
МНН	—	международное непатентованное название
НД	—	нормативная документация
ОА	—	оптически-активные (вещества)
ОСТ	—	Отраслевой стандарт
ОФС	—	общая фармакопейная статья
ПВО	—	полное внутреннее отражение
РСО	—	Рабочий стандартный образец
УФ	—	ультрафиолетовая (область спектра)
ФС	—	фармакопейная статья
ФСП	—	фармакопейная статья предприятия

## ВВЕДЕНИЕ

*Фармацевтический анализ* является основой фармацевтической химии и решает задачи разработки и совершенствования методов оценки качества лекарственных средств на всех этапах производства: от контроля сырья до оценки качества полученного лекарственного препарата, изучения его стабильности, установления сроков годности и стандартизации лекарственной формы.

Фармацевтический анализ имеет свои особенности, отличающие его от других видов анализа. Они заключаются в том, что анализу подвергаются вещества различной химической природы: неорганические, элементоорганические, радиоактивные, органические соединения от простых алифатических до сложных природных БАВ. Диапазон концентраций анализируемых веществ чрезвычайно широк. Объектами фармацевтического анализа являются не только индивидуальные лекарственные вещества, но и смеси, содержащие различное число компонентов. Поэтому для оценки качества лекарственных средств целесообразно применять не только химические, но и более чувствительные инструментальные методы, среди которых наиболее широкое распространение получили оптические методы анализа благодаря целому ряду достоинств:

- высокой чувствительности и возможности проводить исследование ЛВ в области малых концентраций ( $10^{-7}$  моль/л);
- разнообразию свойств определяемого вещества, используемых для аналитических целей;
- универсальности, позволяющей применять методы как для анализа лекарственных веществ любой природы, так и для использования на всех стадиях контроля (установление подлинности, испытание на чистоту, количественный анализ);
- объективности и минимизации ошибок эксперимента, обусловленных регистрацией измеряемых в процессе ана-

лиза величин с помощью приборов, независимо от глаза наблюдателя;

- простоте и экспрессности;
- возможности использования как в фармакопейном анализе, так и во внутриаптечном контроле;
- селективности и возможности анализировать отдельные компоненты смесей без их разделения;
- возможности автоматизации, способствующей контролю серийных образцов.

В то же время оптические методы анализа имеют особенности, которые могут ограничивать их применение:

- более высокую погрешность определений по сравнению с химическими методами анализа;
- сложность и высокую стоимость некоторых видов применяемого оборудования;
- необходимость использования стандартных образцов.

В настоящем учебно-методическом пособии представлены такие оптические методы анализа, как фотометрия, поляриметрия и рефрактометрия. После теоретической части по каждому методу анализа методически прописаны лабораторные работы для практического закрепления материала по курсу «Инструментальные методы фармацевтического анализа».

## **ОСНОВНЫЕ ПОНЯТИЯ И ТЕРМИНЫ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА**

### *Объекты фармацевтического анализа*

Как отмечалось выше, объекты фармацевтического анализа чрезвычайно разнообразны по химической структуре, фармакологическому действию, по массе, числу компонентов в лекарственных препаратах, наличию примесей, сопутствующих и вспомогательных веществ. К числу таких объектов относятся:

1. *Лекарственное вещество (ЛВ), субстанция, действующее вещество* — вещество надлежащей чистоты, из которого в промышленности изготавливают лекарственные средства и лекарственные формы.

2. *Лекарственное средство (ЛС), лекарство, лекарственный препарат (ЛП)* — вещество или смесь веществ синтетического или природного происхождения в виде лекарственной формы, применяемое для профилактики, диагностики и лечения заболеваний.

3. *Лекарственная форма (ЛФ)* — придаваемое лекарственному средству или лекарственному растительному сырью удобное для применения состояние, при котором достигается необходимый лечебный эффект (таблетки, мази, гранулы и т. д.).

4. *Гомеопатические лекарственные средства* — многокомпонентные лекарственные средства, содержащие, как правило, микродозы активных соединений, производящихся по специальной технологии в виде различных лекарственных форм. Существенная особенность гомеопатического метода лечения состоит в использовании малых и сверхмалых доз ЛС, приготовленных путем ступенчатого последовательного разведения. Это обуславливает специфические особенности технологии и контроля качества гомеопатических препаратов.

5. *Биологически активные добавки (БАД) к пище* представляют собой концентраты натуральных или идентичных им биологически активных веществ, предназначенные для непосредственного приема или введения в состав пищевых продуктов с целью обогащения рациона питания человека.

Кроме того, к числу объектов фармацевтического анализа относятся также исходные продукты, используемые для получения лекарственных веществ, промежуточные и побочные продукты синтеза, остаточные растворители, вспомогательные вещества, лекарственное растительное сырье.

#### *Виды нормативной документации*

Все лекарственные средства, применяемые в медицинской практике, должны отвечать современным требованиям безопасности для человека и быть эффективными для лечения различных заболеваний.

Обеспечение надлежащего качества ЛС во многом зависит от правильной организации контроля, его действенности



и эффективности, а также от уровня требований, заложенных в нормативной документации (НД), и используемых методов анализа. Государственная система контроля качества ЛС охватывает все стадии их создания, апробации, производства и применения.

Приказом Министерства здравоохранения (МЗ) РФ № 388 был введен в действие Отраслевой стандарт (ОСТ) 91500.05.001-00 «Стандарты качества лекарственных средств. Основные положения», нормирующий качество ЛС, регламентирующий порядок создания новой и совершенствования действующей НД на ЛС. Согласно ОСТу государственные стандарты качества ЛС разрабатываются и утверждаются в следующих видах:

- общая фармакопейная статья (ОФС);
- фармакопейная статья (ФС);
- ФС на ЛС конкретного предприятия — производителя лекарственных средств (ФСП).

ОФС включает перечень нормируемых показателей или методов испытания для конкретной ЛФ, описание физических, физико-химических, химических, биохимических, микробиологических методов анализа ЛС, требования к используемым реактивам, титрованным растворам, индикаторам.

ФС разрабатывается на ЛС под *международным непатентованным названием* (МНН), если оно имеется (прил. 1), и содержит обязательный перечень показаний и методов контроля качества ЛС (с учетом его лекарственной формы).

ОФС и ФС составляют Государственную фармакопею (ГФ). В настоящее время действует ГФ XII издания.

### *Виды фармацевтического анализа*

Фармацевтический анализ в зависимости от поставленных задач включает различные формы контроля качества ЛВ: фармакопейный анализ, постадийный контроль производства ЛВ, анализ ЛФ индивидуального изготовления, экспресс-анализ в условиях аптеки и биофармацевтический анализ. Эти направления отличаются объектами анализа, используемыми методиками, а также

различными критериями оценки полученных результатов. Виды фармацевтического анализа и их особенности представлены ниже на схеме (рис. 1).

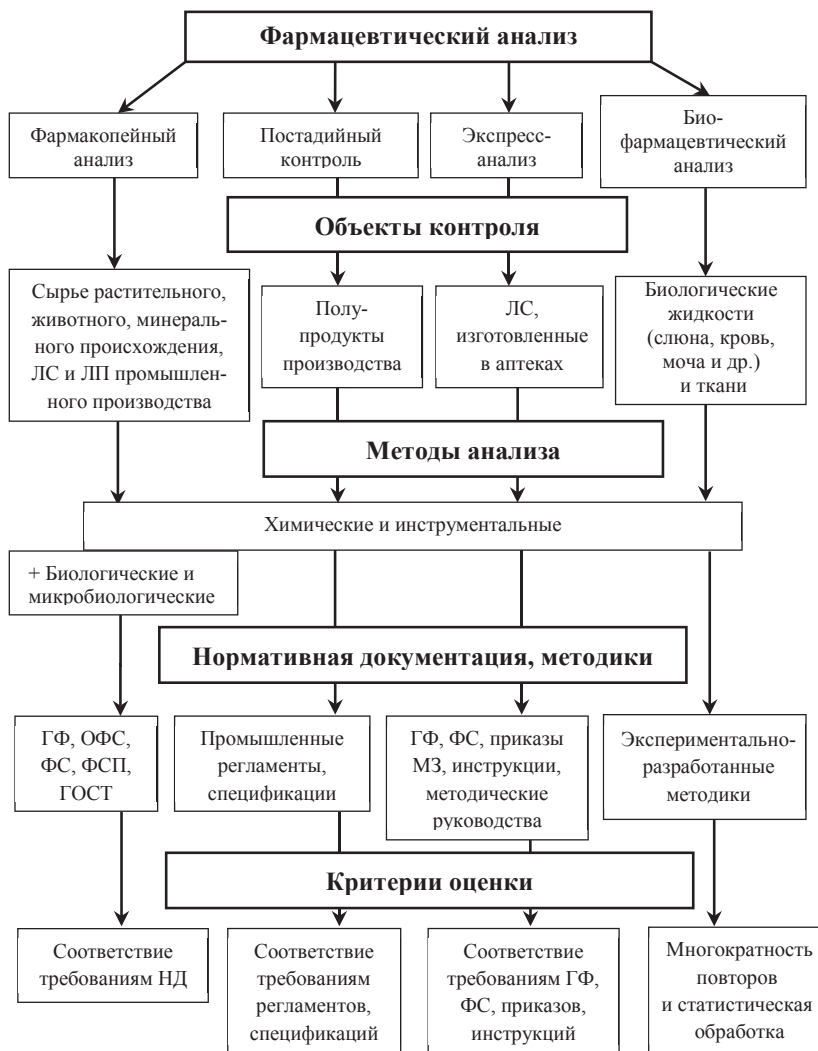


Рис. 1. Виды фармацевтического анализа

## СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ

*Методы спектрофотометрии* — методы исследования и анализа веществ, основанные на поглощении молекулами вещества монохроматического электромагнитного излучения в ультрафиолетовой (УФ), видимой и инфракрасной (ИК) областях спектра. Природа полос поглощения в УФ и видимой областях спектра связана с различными электронными переходами в поглощающих молекулах и ионах (электронные спектры). В ИК-области она связана с колебательными переходами и изменением колебательных состояний ядер, входящих в молекулу поглощающего вещества (колебательные спектры).

В случае поглощения веществами немонахроматического излучения выделяют фотоколориметрические (колориметрические) методы анализа. *Фотоколориметрия* отличается от спектрофотометрического анализа тем, что анализируемое вещество с помощью какого-либо реагента переводят (количественно) в окрашенное соединение. Вначале получают окрашенные растворы, используя растворы стандартных образцов (ГСО или РСО). Затем строят градуировочный график зависимости интенсивности поглощения окрашенных растворов от концентрации стандартного раствора, по графику рассчитывают содержание вещества в испытуемых образцах.

Метод *абсолютной* спектрофотометрии (фотоколориметрии) основан на измерении светопоглощения анализируемого раствора относительно раствора сравнения, в качестве которого может использоваться чистый растворитель или раствор, содержащий все компоненты анализируемого раствора, кроме определяемого вещества.

Метод *дифференциальной* спектрофотометрии (фотоколориметрии) основан на измерении светопоглощения анализируемого раствора относительно раствора сравнения, содержащего

определенное количество стандартного образца испытуемого вещества или его заменителя. Такой прием приводит к изменению рабочей области шкалы прибора и снижению относительной погрешности определения до  $\pm(0,5-1) \%$ , т. е. сопоставимой с титриметрическими методами.

Спектрофотометрические и фотоколориметрические методы анализа основаны на использовании объединенного закона Бугера — Ламберта — Бера:

$$\lg \frac{I_0}{I} = A = k \cdot \ell \cdot C,$$

где  $I_0$  — интенсивность излучения, падающего на вещество;  $I$  — интенсивность излучения, прошедшего через вещество;  $A$  — оптическая плотность, поглощение;  $k$  — показатель поглощения данного вещества (молярный показатель поглощения  $\varepsilon$  или удельный показатель поглощения  $E_{1\text{см}}^{1\%}$ , используемый в фармацевтическом анализе);  $C$  — концентрация раствора анализируемого вещества, моль/л;  $\ell$  — длина рабочего слоя кюветы, см.

*Удельный показатель поглощения* ( $E_{1\text{см}}^{1\%}$ ) является спектрофотометрической константой для каждого вещества, не зависящей от концентрации, и представляет собой величину оптической плотности раствора, содержащего 1,0 г вещества в 100 см<sup>3</sup> раствора, измеренную в кювете с рабочей длиной 1 см:

$$E_{1\text{см}}^{1\%} = \frac{A}{\ell \cdot C}.$$

Установив по стандартному образцу величину  $E_{1\text{см}}^{1\%}$  и преобразовав эту формулу, можно рассчитать концентрацию анализируемого вещества с относительной погрешностью до  $\pm 2 \%$ :

$$C = \frac{A}{\ell \cdot E_{1\text{см}}^{1\%}}.$$

В случае отклонений от закона Бугера — Ламберта — Бера вначале с помощью стандартных растворов устанавливают зависимость оптической плотности от концентрации и строят

градуировочный график, а затем по нему определяют содержание определяемого вещества в анализируемом растворе.

### *Спектрофотометрия в фармацевтическом анализе*

*Спектрофотометрия в УФ- и видимой областях* — один из наиболее широко используемых физико-химических методов в фармацевтическом анализе (ОФС 42-0042-07 ГФ РФ XII). Анализируемые ЛВ должны иметь в структуре молекулы хромофорные группы (сопряженные связи, ароматическое ядро и др.), обуславливающие различные электронные переходы в молекулах и поглощение электромагнитного излучения.

*Идентификацию ЛВ* можно провести по характеру спектров поглощения в различных растворителях, положению максимумов и минимумов поглощения или по их отношению (при различных длинах волн). *Спектр поглощения* вещества является его специфической характеристикой и представляет собой кривую зависимости интенсивности поглощения (оптической плотности) от длины волны ( $\lambda$ , нм).

Для *количественного* спектрофотометрического анализа важен выбор аналитической полосы поглощения. Последняя должна быть свободна от наложения полос поглощения других компонентов смеси и иметь достаточно высокий удельный показатель поглощения анализируемого вещества.

Одним из вариантов дифференциальной спектрофотометрии является *производная УФ-спектрофотометрия*. Если в дифференциальной спектрофотометрии используют разность оптических плотностей при одной и той же длине волны, то в производной — при двух длинах волн в небольшом интервале. Этот вариант позволяет выделять индивидуальные полосы в «сложном» УФ-спектре, представляющем собой сумму налагающихся полос поглощения или полос, не имеющих четко выраженного максимума. При этом на спектральных кривых в координатах производная — длина волны ( $\Delta I - \lambda$ ) появляются полосы с отчетливо выраженными максимумами и минимумами. Благодаря этому можно идентифицировать сходные по химической структуре вещества, повысить избирательность анализа и выполнять количественное определение

двух-, трехкомпонентных смесей более экономично и эффективно, чем титриметрическими методами.

Другим вариантом дифференциальной спектрофотометрии является *АЕ-метод*, основанный на превращении одного из веществ, входящих в состав анализируемой пробы, в таутомерную (или иную) форму, отличающуюся по характеру и интенсивности поглощения. Затем измеряют оптическую плотность раствора одной таутомерной формы по отношению к другой, т. е. используют в качестве раствора сравнения раствор исходного определяемого вещества.

*Спектроскопия в ИК-области* (ОФС 42-0043-07 ГФ РФ XII). Природа полос поглощения в ИК-области связана с колебательными переходами и изменением колебательных состояний ядер, входящих в молекулу поглощающего вещества. Поэтому поглощением в ИК-области обладают молекулы, дипольные моменты которых изменяются при возбуждении колебательных движений ядер. Область применения ИК-спектроскопии аналогична, но более широка, чем УФ-метода. ИК-спектр однозначно характеризует всю структуру молекулы, включая незначительные ее изменения. Важные преимущества данного метода — высокая специфичность, объективность полученных результатов, возможность анализа веществ в кристаллическом состоянии. Для измерения ИК-спектров используют взвеси веществ в вазелиновом масле или помещают анализируемое вещество между пластинами из бромида калия. Каждый ИК-спектр представляет собой серию полос поглощения, максимумы которых определяются волновым числом  $\nu$  ( $\text{см}^{-1}$ ) и определенной интенсивностью  $I$ . Для анализа ЛВ обычно используют спектральную область от 4000 до 400  $\text{см}^{-1}$ .

ГФ XI рекомендует два способа установления *подлинности* ЛВ по ИК-спектрам. Первый способ основан на сравнении зарегистрированных в идентичных условиях ИК-спектров испытуемого ЛВ и его стандартного образца. Второй способ заключается в сравнении ИК-спектра испытуемого ЛВ, зарегистрированного в соответствии с указанными в ФС требованиями, с его стандартным спектром, приведенным также в ФС для данного ЛВ.

Для измерения оптической плотности и регистрации спектров поглощения применяют *спектрофотометры* — приборы, позволяющие проводить анализ как окрашенных, так и бесцветных соединений по избирательному поглощению монохроматического излучения в видимой, УФ- и ИК-области спектра. Сегодня на рынке имеется большое разнообразие спектрофотометров различных производителей. Сконструированы спектрофотометры, работающие в различных областях спектра, например, только в УФ- или только в ИК-области, в УФ- и видимом диапазоне. Существуют приборы, работающие во всех диапазонах, что позволяет на одном и том же оборудовании проводить различные исследования. Современная аппаратура дает возможность измерять УФ-спектры в области от 190 до 380 нм, видимые спектры — от 380 до 780 нм, ИК-спектры — от 780 до 40000 нм (40 мкм).

Оптическая схема спектрофотометра приведена на рис. 2.

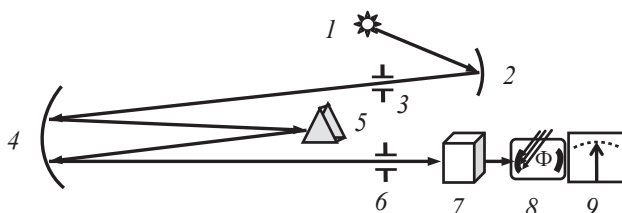


Рис. 2. Оптическая схема спектрофотометра:

- 1 — источник излучения; 2 — зеркало; 3 — входная щель;  
 4 — сферическое зеркало; 5 — монохроматор; 6 — выходная щель;  
 7 — кювета с раствором; 8 — фотоэлемент; 9 — индикатор сигнала

В качестве источника излучения (1) используют водородные, дейтериевые, ртутно-кварцевые, натриевые, а также ксеноновые лампы. Монохроматор (5) — стеклянная или кварцевая призма, дифракционная решетка — служит для получения монохроматического света. Фотоэлемент (8) превращает энергию падающего света в электрический ток, а усилитель позволяет получить сигнал, который распознается детектором (9). Детектор преобразует сигнал в конкретные числовые значения. Важной деталью прибора

является кювета (7), к которой предъявляют особые требования. Допустимые отклонения в толщине слоя используемых кювет должны быть не более  $\pm 0,005$  см. Кюветы, предназначенные для испытуемого раствора и раствора сравнения, должны иметь одинаковое пропускание (или оптическую плотность) при заполнении одним и тем же растворителем. В противном случае это различие следует учитывать.

В лабораторных работах 1–3 используют спектрофотометр марки ПЭ-5400УФ (рис. 3) производства ООО «Экохим», Санкт-Петербург. В приборе используется галогенная лампа как источник света, монохроматор с дифракционной решеткой, четырехпозиционный кюветодержатель, служащий для размещения проб и стандартных растворов, и кремниевый фотодиод в качестве приемника.



Рис. 3. Внешний вид спектрофотометра ПЭ-5400УФ

#### *Подготовка прибора к работе*

Спектрофотометр ПЭ-5400УФ включают нажатием кнопки «Сеть» на задней панели прибора. Кюветное отделение должно быть пустым, его крышка закрыта. В течение некоторого времени прибор будет прогреваться (20 мин.) и проводить автоматическую



самодиагностику (50 с). В это время в приборе восстанавливаются настройки, действовавшие в момент выключения, и автоматически выполняется процедура калибровки нуля. Когда на дисплее появится надпись «**Переход в режим измерения**», можно приступать к анализу. Для измерения оптической плотности растворов последовательным нажатием кнопки «**Режим**» выбирают «**А**» (на дисплее соответствующее буквенное обозначение выделяется подсветкой).

#### *Измерение оптической плотности*

В ячейки кюветодержателя устанавливают последовательно кюветы с раствором сравнения (растворителя, если иное не указано в ФС) и 1–3 исследуемыми растворами.

В рабочую зону ручкой перемещения кювет подводят кювету с раствором сравнения. Для установки длины волны нажимают кнопку «**Переход  $\lambda$** ». Перемещением маркера знака  $<\lambda$  («**Меню**») и  $\lambda >$  («**Ноль**») и прокруткой кнопок «**▲**» и «**▼**» устанавливают необходимое значение длины волны  $\lambda$  (нм). Нажимают кнопку «**Ввод/старт**», после чего прибор автоматически переходит в режим измерения. Калибровка нуля выполняется автоматически. Затем в рабочую зону подводят кювету с анализируемым раствором, на дисплее высветится его оптическая плотность при выбранной длине волны. Изменять длину волны рекомендуется при закрытой крышке кюветного отделения, и когда в рабочей зоне находится раствор сравнения. Иначе придется производить установку нуля нажатием кнопки «**Ноль**».

После проведения измерений вынимают кюветы из кюветного отделения, тщательно промывают и протирают. Выключают прибор.

*Преимущества использования спектрофотометрии в фармацевтическом анализе:*

- высокая чувствительность (многие современные лекарственные средства крайне трудно проанализировать химическими методами из-за малых содержаний действующего вещества);
- воспроизводимость;

- возможность анализа ЛВ, не дающих химические реакции в стехиометрическом соотношении (например, рутин);
- возможность анализа многокомпонентных ЛФ, для которых нет методик количественного определения химическими методами (например, комплексные витаминные препараты, содержащие пиридоксин, рибофлавин и никотинамид);
- возможность сочетания с другими методами, например, с высокоэффективной жидкостной хроматографией (ВЭЖХ), где спектрофотометр используется как детектор (такое сочетание методов позволяет проводить качественный и количественный анализ с высокой точностью при наличии большого количества веществ в смеси с близкими физико-химическими свойствами).

Последний момент особо важен, потому что сегодня имеется большое число комбинированных ЛП и препаратов, содержащих допустимые и недопустимые примеси, которые в фармакоанализе также необходимо качественно и количественно определять.

## Лабораторная работа 1

### Качественный анализ растворов, содержащих одно лекарственное средство

**Цель работы:** приобрести практический навык определения оптической плотности растворов ЛС и провести испытания на подлинность лекарственных органических веществ методом спектрофотометрии.

**Объекты анализа** (по выбору преподавателя):

- аналгин — [(1,5-диметил-3-оксо-2-фенил-2,3-дигидро-1Н-пиразол-4-ил)(метил)амино]-метансульфонат натрия, моногидрат, таблетки 500 мг и раствор концентрации 0,002 % субстанции в 0,1 моль/дм<sup>3</sup> растворе хлористоводородной кислоты;
- арбидол — этилового эфира 6-бром-5-гидрокси-1-метил-4-(диметиламинометил)-2-(фенилтиометил)индол-3-карбоновой кислоты гидрохлорид, моногидрат, таблетки 50 мг

(или капсулы 100 мг) и раствор концентрации 0,001 % субстанции в смеси: спирт 96 % — 0,1 моль/дм<sup>3</sup> раствор хлористоводородной кислоты (9 : 1);

- ацетилсалициловая кислота — кислота 2-ацетокси-бензойная, таблетки 500 мг, раствор концентрации 0,001 % субстанции в 0,1 моль/дм<sup>3</sup> растворе серной кислоты и раствор концентрации 0,007 % субстанции в хлороформе;
- дротаверина гидрохлорид — (1-(3,4-диэтоксibenзил)-6,7-диэтокси-3,4-дигидроизохинолина гидрохлорид, таблетки 40 мг и раствор концентрации 0,0015 % субстанции в 0,1 моль/дм<sup>3</sup> растворе хлористоводородной кислоты;
- папаверина гидрохлорид — 6,7-диметокси-1-(3,4-диметоксибензил)изохинолина гидрохлорид, таблетки 40 мг и раствор концентрации 0,0005 % субстанции в 0,1 моль/дм<sup>3</sup> растворе хлористоводородной кислоты.

#### **Оборудование:**

- спектрофотометр ПЭ-5400УФ с набором кювет (см. рис. 2);
- весы аналитические не ниже 2-го класса точности;
- фарфоровая ступка;
- мерные колбы по ГОСТ 1770-74.

#### **Реактивы:**

- вода деионизированная по ТУ-9452-001-46824383-00;
- кислота соляная по ГОСТ 14261-77, «ос.ч.» и раствор HCl концентрации 0,1 моль/дм<sup>3</sup>;
- спирт этиловый 96 % ректификованный по ГОСТ 51652-2000;
- хлороформ по ГОСТ 20015-88;
- кислота серная по ГОСТ 14261-77, «ос.ч.» и раствор H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> концентрации 0,1 моль/дм<sup>3</sup>

#### **Ход анализа**

##### **1. Подготовка образца**

Рассчитывают массу навески ЛП для приготовления раствора с концентрацией, приведенной в соответствующей ФС ГФ РФ XII (прил. 2) и табл. 1.

Таблица 1

**Данные для УФ-спектрометрии лекарственных препаратов  
с целью установления их подлинности (ГФ РФ XII)**

Фармпрепарат (ФС)	Состав испытуемого раствора	Интервал длин волн для снятия спектра, нм	Длины волн максимумов поглощения, $\lambda$ , нм	Длины волн минимумов поглощения, $\lambda$ , нм
Анальгин (ФС 42-0215-07)	0,002 % субстанции в 0,1 М HCl	245–280	258	—
Арбидол (ФС 42-0216-07)	0,001 % субстанции в смеси 96 % спирта этилового и 0,1 М HCl (9 : 1)	210–400	225 255 316	244 284
Ацетилсалициловая кислота (ФС 42-0220-07)	0,007 % субстанции в хлороформе	260–350	278	—
	0,001 % субстанции в 0,1 М H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	220–350	228 276	257
Дротаверина гидрохлорид (ФС 42-0235-07)	0,0015 % субстанции в 0,1 М HCl	210–440	241 302 353	223 262 322
Папаверина гидрохлорид (ФС 42-0267-07)	0,0005 % субстанции в 0,1 М HCl	230–270	285 309	—

При расчете нужно учитывать, что масса измельченного препарата не равна массе основного действующего вещества. Предварительно анализируемый лекарственный препарат (таблетки, содержимое капсулы) взвешивают. Затем его измельчают в фарфоровой ступке. Взятую навеску препарата растворяют в указанном для него растворителе или смеси растворителей в мерной колбе на 1000 см<sup>3</sup>.

## **2. Измерение оптической плотности исследуемого раствора**

Подготовка прибора и ход выполнения измерений описаны в теоретической части по спектрофотометрии. Измерение

оптической плотности растворов проводят в стеклянных кюветах с толщиной слоя  $\ell = 1,0$  см.

Снятие спектра проводят в указанных (см. табл. 1) областях длин волн с дискретностью  $\pm 10$  нм. В интервале 10 нм до и после указанных максимумов и минимумов поглощения проводят измерение оптической плотности с дискретностью  $\pm 2$  нм.

Последовательно изменяя значения длин волн, измеряют оптическую плотность раствора, результаты измерений заносят в табл. 2.

*Таблица 2*

**Результаты измерений оптической плотности  
при разных длинах волн**

Длина волны, $\lambda$ , нм	Оптическая плотность, $A$
$\lambda_1$	
$\lambda_2$	
$\lambda_3$	
$\lambda_4$	
$\lambda_5$	
...	
$\lambda_n$	

**3. Обработка результатов измерений**

По данным табл. 2 строят зависимость  $A - \lambda$ , являющуюся спектром поглощения, по которому судят о подлинности ЛВ. На полученном спектре отмечают значения длин волн, соответствующие минимумам и максимумам поглощения. Сравнивают полученные данные с требованиями ФС. Расхождение между регистрируемыми и указанными в ФС (табл. 1, прил. 2) длинами волн в максимумах и минимумах поглощения не должно превышать  $\pm 2$  нм.

**Выводы** должны содержать заключение о подлинности анализируемых ЛВ.

## Лабораторная работа 2

### Количественное определение однокомпонентных лекарственных средств

**Цель работы:** провести количественное определение ЛС, содержащих одно ЛВ, методом спектрофотометрии.

#### Оборудование:

- спектрофотометр ПЭ-5400УФ с набором кювет;
- весы аналитические не ниже 2-го класса точности;
- фарфоровая ступка;
- колбы по ГОСТ 1770-74, пипетки по ГОСТ 20292-74;
- установка для водяной бани.

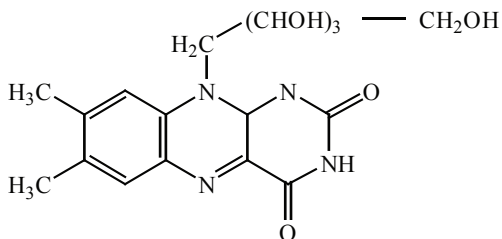
#### Опыт 1. Количественное определение содержания рибофлавина в препарате методом удельного коэффициента

##### Сущность метода определения

Метод основан на спектрофотометрическом определении рибофлавина (ФС 585 ГФ X, см. прил. 2), обладающего максимумом поглощения в УФ-области при  $\lambda = 267$  нм.

**Объект анализа** — благомин — витамин В<sub>2</sub> (рибофлавин) в капсулах, 0,002 г.

*Рибофлавин* (витамин В<sub>2</sub>, 6,7-диметил-9-(D-1-рибитил)-изоаллоксазин) — один из наиболее важных водорастворимых витаминов, кофермент многих биохимических процессов:



### Реактивы:

- кислота уксусная ледяная  $\text{CH}_3\text{COOH}$  по ГОСТ 61-75;
- натрий уксуснокислый 3-водный по ТУ 6-09-1567-78, «ос.ч.» и раствор ацетата натрия  $\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3 \text{H}_2\text{O}$  концентрации 0,1 моль/дм<sup>3</sup>;
- вода деионизированная по ТУ-9452-001-46824383-00.

### Ход анализа

#### 1. Приготовление раствора рибофлавина

Взвешивают содержимое капсулы рибофлавина, затем измельчают в фарфоровой ступке. Рассчитывают массу навески для приготовления 1000 см<sup>3</sup> 0,006 % раствора с учетом того, что каждая капсула содержит 0,002 г действующего вещества. Навеску растворяют в мерной колбе вместимостью 1000 см<sup>3</sup> в смеси 2 см<sup>3</sup> ледяной уксусной кислоты и 500 см<sup>3</sup> воды при нагревании на водяной бане. Раствор охлаждают и доводят объем раствора водой до метки. 10 см<sup>3</sup> этого раствора количественно переносят в мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup>, приливают 3,5 см<sup>3</sup> 0,1 М раствора ацетата натрия и доводят объем раствора водой до метки. Концентрация приготовленного раствора — 0,0006 %.

#### 2. Измерение оптической плотности

Подготовка прибора и ход выполнения измерений описаны в теоретической части по спектрофотометрии. Кюветы кварцевые с толщиной слоя  $\ell = 1,0$  см. Фотометрирование раствора проводят при  $\lambda = 267$  нм относительно раствора сравнения, содержащего все компоненты (по п. 1), кроме рибофлавина.

#### 3. Вычисления

Содержание рибофлавина в процентах ( $C$ , %) вычисляют по формуле

$$C = \frac{A \cdot 10000}{E_{1\text{см}}^{1\%} \cdot m_{\text{нав}}},$$

где  $A$  — оптическая плотность испытуемого раствора;  $m_{\text{нав}}$  — масса действующего вещества в навеске, г;  $E_{1\text{см}}^{1\%}$  — удельный показатель поглощения чистого рибофлавина при длине волны 267 нм, равный 850.

Рассчитывают параметры отклонений (ДИО) в массе рибофлавина (приказ МЗ РФ № 305 от 16.10.97 г., см. прил. 3).

В **выводах** делают заключение о качестве приготовления раствора лекарственного препарата.

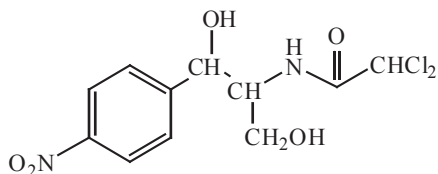
## **Опыт 2. Количественное определение содержания левомицетина методом сравнения со стандартом**

### **Сущность метода определения**

Метод основан на спектрофотометрическом определении левомицетина, обладающего максимумом поглощения в УФ-области при  $\lambda = 278$  нм (согласно ФС 42-0250-07 ГФ РФ XII, см. прил. 2).

**Объект анализа** — таблетки левомицетина, 0,5 г.

*Левомицетин* (D-(-)-трео-1-*n*-нитрофенил-2-дихлорацетил-аминопропандиол-1,3) — синтетическое лекарственное вещество группы антибиотиков, эффективный в отношении широкого спектра грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов:



### **Реактивы:**

- натрия гидроксид по ГОСТ 4328-77, «х.ч.» и раствор NaOH концентрации 0,1 моль/дм<sup>3</sup>;
- вода деионизированная по ТУ-9452-001-46824383-00.

### **Ход анализа**

#### **1. Приготовление стандартного раствора левомицетина**

Взвешивают полученные таблетки левомицетина, затем измельчают их в фарфоровой ступке. Рассчитывают массу навески для приготовления 50 см<sup>3</sup> 0,05 % раствора с учетом того, что каждая таблетка содержит 0,5 г действующего вещества. Количественно навеску препарата переносят в мерную колбу вместимостью 50 см<sup>3</sup>, растворяют в горячей воде (80–90 °С), доводят водой



до метки и перемешивают. Затем  $2 \text{ см}^3$  этого раствора переносят в мерную колбу вместимостью  $50 \text{ см}^3$ , доводят  $0,1 \text{ М}$  раствором гидроксида натрия до метки, перемешивают. Концентрация приготовленного стандартного раствора левомицетина  $0,002 \%$ .

## **2. Измерение оптической плотности стандартного и анализируемого растворов**

Подготовка прибора и ход выполнения измерений описаны в теоретической части по спектрофотометрии. Используют кюветы кварцевые с толщиной слоя  $\ell = 1,0 \text{ см}$ . Измеряют оптическую плотность стандартного раствора левомицетина при длине волны  $278 \text{ нм}$  относительно раствора сравнения, которым является  $0,1 \text{ М}$  раствор щелочи.

Полученный анализируемый раствор также доводят до метки  $0,1 \text{ М}$  раствором  $\text{NaOH}$  и фотометрируют. Измерения повторяют по 3 раза для стандартного и анализируемого растворов.

## **3. Вычисление результатов**

Концентрацию левомицетина в анализируемом растворе ( $C_x, \%$ ) вычисляют по формуле

$$C_x = C_{\text{ст}} \cdot \frac{A_x}{A_{\text{ст}}},$$

где  $C_{\text{ст}}$  — концентрация стандартного раствора, %;  $A_{\text{ст}}$  — его оптическая плотность;  $A_x$  — оптическая плотность анализируемого раствора.

Рассчитывают среднее значение  $C_x$  по трем измерениям и параметры отклонений (ДИО) в массе левомицетина (приказ МЗ РФ № 305 от 16.10.97 г., см. прил. 3).

В **выводах** делают заключение о содержании лекарственного препарата в растворе.

## **Опыт 3. Количественное определение содержания фурацилина методом градуировочного графика**

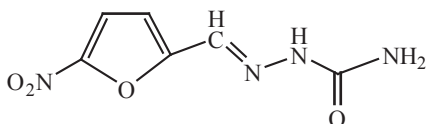
### **Сущность метода определения**

Метод основан на образовании окрашенного соединения фурацилина с водным раствором щелочи (цвет оранжево-красный)

и последующем фотометрировании раствора данного соединения при  $\lambda = 450$  нм (согласно ФС 295 ГФ Х).

**Объект анализа** — таблетки фурацилина, 0,02 г.

**Фурацилин** (5-нитрофурурола семикарбазон) — противомикробное средство, обладающее выраженной антибактериальной активностью в отношении широкого спектра грамположительных и грамотрицательных микроорганизмов (стафилококки, стрептококки, дифтерийная и кишечная палочки и т. д.):



### **Реактивы:**

- вода деионизированная по ТУ-9452-001-46824383-00.

### **Ход анализа**

#### **1. Приготовление рабочего раствора фурацилина**

Взвешивают полученные таблетки фурацилина, затем измельчают их в фарфоровой ступке. Рассчитывают массу навески для приготовления 50 см<sup>3</sup> 0,02 % раствора фурацилина с учетом того, что каждая таблетка содержит 0,02 г действующего вещества. Навеску количественно переносят в мерную колбу вместимостью 50 см<sup>3</sup>, добавляют 30 см<sup>3</sup> воды и выдерживают на водяной бане при 70–80 °С до полного растворения препарата. Охлажденный рабочий раствор доводят водой до метки и тщательно перемешивают.

#### **2. Приготовление стандартных растворов фурацилина для построения градуировочного графика**

В четыре мерные колбы вместимостью 50,0 см<sup>3</sup> добавляют соответственно 0,25; 0,50; 1,00 и 1,50 см<sup>3</sup> 0,02 % рабочего раствора фурацилина, приготовленного по п. 1. Затем в каждую колбу прибавляют 5 см<sup>3</sup> 0,1 М раствора NaOH и доводят водой до метки, получив стандартные растворы с содержанием соответственно 0,0001 %, 0,0002 %, 0,0004 % и 0,0006 % фурацилина. Растворы выдерживают 20 мин. для установления устойчивой окраски и фотометрируют.

### 3. Измерение оптической плотности

Подготовка прибора и ход выполнения измерений описаны в теоретической части по спектрофотометрии. Измерения оптической плотности проводят при длине волны 450 нм. Кюветы стеклянные с толщиной слоя  $\ell = 1,0$  см. Измеряют оптические плотности стандартных растворов для построения градуировочного графика относительно раствора сравнения, который готовят аналогично стандартным растворам, но без добавления рабочего раствора фурацилина.

К анализируемому раствору также добавляют 5 см<sup>3</sup> 0,1 М раствора NaOH, доводят водой до метки и выдерживают 20 мин., после чего проводят его фотометрирование.

Полученные данные заносят в табл. 3.

Таблица 3

**Результаты измерения  
оптической плотности растворов фурацилина**

Концентрация раствора, С, %	Оптическая плотность, А
0,0001	
0,0002	
0,0004	
0,0006	
Анализируемый раствор	

### 4. Построение градуировочного графика и вычисление результатов

Строят градуировочный график зависимости оптической плотности от концентрации стандартных растворов. По градуировочному графику определяют содержание (С, %) фурацилина в анализируемом растворе. Рассчитывают параметры отклонений (ДИО) в массе фурацилина (приказ МЗ РФ № 305 от 16.10.97 г., см. прил. 3).

В **выводах** делают заключение о содержании лекарственного препарата в растворе.

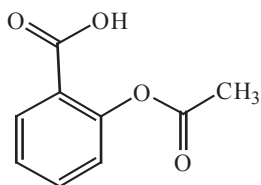
#### Опыт 4. Определение содержания свободной салициловой кислоты в препарате ацетилсалициловой кислоты

##### Сущность метода определения

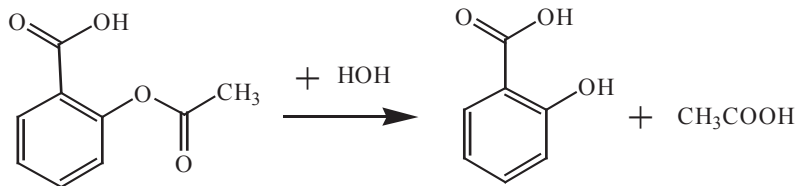
Метод основан на спектрофотометрическом определении салициловой кислоты в виде окрашенного соединения с железозаммонийными квасцами, обладающего максимумом поглощения в видимой области при  $\lambda = 520$  нм (согласно ФС 42-0220-07 ГФ РФ XII, см. прил. 2).

**Объект анализа:** таблетки аспирина, 0,5 г

*Ацетилсалициловая кислота* (кислота 2-ацетокси-бензойная) — лекарственное средство, оказывающее аналгезирующее (обезболивающее), жаропонижающее, противовоспалительное и антиагрегационное действие:



Содержит не менее 99,5 % основного компонента  $C_9H_8O_4$  в пересчете на сухое вещество. В процессе хранения под действием внешних факторов (температура, влажность, солнечное излучение) происходит деструкция основного вещества препарата. Примером деструкции является гидролиз ацетилсалициловой кислоты до салициловой кислоты:



## Реактивы:

- спирт этиловый 96 % ректификованный по ГОСТ 51652-2000;
- квасцы железоаммонийные по ГОСТ 4205-77 и раствор  $\text{Fe}(\text{NH}_4)(\text{SO}_4)_2 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$  концентрации 0,2 %;
- салициловая кислота по ГОСТ 624-70;
- вода деионизированная по ТУ-9452-001-46824383-00.

## Ход анализа

### 1. Приготовление испытуемого раствора

Взвешивают таблетки аспирина, затем измельчают их в фарфоровой ступке. Берут навеску растертого препарата с учетом того, что каждая таблетка содержит 0,5 г действующего вещества и чтобы масса действующего вещества в навеске составила 0,3 г. Навеску количественно переносят в мерную колбу вместимостью 25 см<sup>3</sup>, растворяют в 10 см<sup>3</sup> спирта 96 %, прибавляют 1 см<sup>3</sup> 0,2 % раствора квасцов железоаммонийных, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

### 2. Приготовление стандартного раствора

0,06 г салициловой кислоты помещают в мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup>, растворяют в спирте 96 %, доводят объем раствора спиртом 96 % до метки и перемешивают. К 1 см<sup>3</sup> полученного раствора прибавляют 39 см<sup>3</sup> спирта 96 %, 4 см<sup>3</sup> 0,2 % раствора железоаммонийных квасцов и количественно разбавляют водой до 100 см<sup>3</sup>.

Используют свежеприготовленные растворы по пп. 1–2.

### 3. Измерение оптической плотности

Подготовка прибора и ход выполнения измерений описаны в теоретической части по спектрофотометрии. Кюветы стеклянные с толщиной слоя  $\ell = 1,0$  см. Измеряют оптические плотности испытуемого и стандартного растворов при длине волны 520 нм.

Содержание свободной салициловой кислоты в субстанции ( $C_x$ , %) вычисляют по формуле

$$C_x = \frac{A_x \cdot m_{\text{ст}} \cdot 0,25}{A_{\text{ст}} \cdot m_x},$$

где  $A_x$  — оптическая плотность испытуемого раствора;  $A_{ст}$  — оптическая плотность стандартного раствора;  $m_x$  — навеска субстанции (масса действующего вещества в препарате), г;  $m_{ст}$  — навеска стандартного образца салициловой кислоты, г.

Содержание свободной салициловой кислоты должно быть не более 0,05 %.

В **выводах** делают заключение о качестве лекарственного препарата.

### Лабораторная работа 3

#### **Количественное определение лекарственных веществ в многокомпонентных лекарственных препаратах**

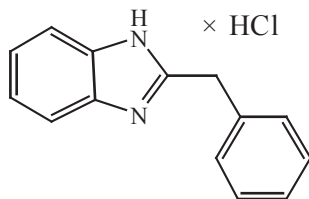
**Цель работы:** провести количественное определение методом спектрофотометрии двухкомпонентной смеси лекарственных веществ (гидрохлоридов папаверина и дибазола) с наложением спектров поглощения.

#### **Сущность метода определения**

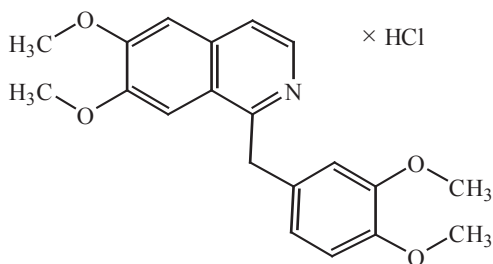
Метод основан на *законе аддитивности* оптической плотности. Гидрохлориды папаверина и дибазола (ФС 42-0267-07 ГФ XII и ФС 212 ГФ X, см. прил. 2) поглощают свет в УФ-области. Их спектры поглощения перекрываются частично, поэтому выбирают одну длину волны, при которой нет поглощения света одним компонентом, и вторую длину волны, при которой поглощают свет оба компонента смеси.

**Объекты анализа:** таблетки папаверина гидрохлорида, 0,04 г и таблетки дибазола, 0,02 г.

*Дибазола гидрохлорид* (2-бензилбензимидазола гидрохлорид) — вазодилатирующее средство, обладающее гипотензивным, сосудорасширяющим действием, стимулирует функцию спинного мозга. Оказывает непосредственное спазмолитическое действие на гладкие мышцы кровеносных сосудов и внутренних органов.



*Папаверина гидрохлорид* (6,7-диметокси-1-(3,4-диметокси-бензил)-изохинолина гидрохлорид) — лекарственное средство спазмолитического и гипотензивного действия:



### Оборудование:

- спектрофотометр ПЭ-5400УФ с набором кювет;
- аналитические весы не ниже 2-го класса точности;
- фарфоровая ступка;
- пипетки по ГОСТ 20292-74, колбы по ГОСТ 1770-74.

### Реактивы:

- кислота соляная по ГОСТ 14261-77, «ос.ч.» и раствор HCl концентрации 0,01 моль/дм<sup>3</sup>;
- вода деионизированная по ТУ-9452-001-46824383-00.

### Ход анализа

#### 1. Приготовление стандартных растворов

Взвешивают таблетки папаверина и дибазола гидрохлоридов. Рассчитывают массу навесок папаверина и дибазола гидрохлоридов для приготовления 100 см<sup>3</sup> 0,025 % рабочих растворов с учетом того, что каждая таблетка папаверина гидрохлорида содержит 0,04 г действующего вещества, а дибазола — 0,02 г. Полученные

навески количественно переносят в две отдельные колбы вместимостью по 100 см<sup>3</sup>, растворяют в 0,01 М растворе HCl и доводят раствором соляной кислоты до метки. Далее из рабочих растворов получают серии стандартных растворов с содержанием папаверина и дибазола гидрохлоридов по 0,00010 %, 0,00015 % и 0,00020 %, доводя до метки 0,01 М раствором HCl.

## 2. Получение спектров поглощения дибазола и папаверина гидрохлоридов

Подготовка прибора и ход выполнения измерений описаны в теоретической части по спектрофотометрии. Кюветы кварцевые с толщиной слоя  $\ell = 1,0$  см. Для растворов дибазола и папаверина гидрохлоридов с концентрацией 0,00015 % снимают спектры поглощения в интервале длин волн от 260 до 325 нм с шагом 5 нм, для чего измеряют оптическую плотность растворов, последовательно меняя на приборе длину волны. В качестве раствора сравнения используют 0,01 М раствор HCl. Полученные данные заносят в табл. 4.

Таблица 4

### Результаты регистрации спектров поглощения папаверина и дибазола гидрохлоридов, $C = 0,00015$ %

$\lambda$ , нм	$A_{\text{пап}}$	$A_{\text{диб}}$	$\lambda$ , нм	$A_{\text{пап}}$	$A_{\text{диб}}$
260			295		
265			300		
270			305		
275			310		
280			315		
285			320		
290			325		

По данным табл. 4 на одном графике строят спектры поглощения папаверина и дибазола гидрохлоридов в координатах  $A - \lambda$ . Отмечают на спектре  $\lambda_1 = 275$  нм и  $\lambda_2 = 310$  нм. При 275 нм



наблюдают поглощение света обоими компонентами смеси, при 310 нм поглощением дибазола гидрохлорида можно пренебречь.

### 3. Измерение оптической плотности стандартных и испытуемых растворов

Проводят измерение оптической плотности стандартных растворов папаверина гидрохлорида при двух длинах волн  $\lambda_1 = 275$  нм и  $\lambda_2 = 310$  нм, стандартных растворов дибазола гидрохлорида — при  $\lambda_1 = 275$  нм и испытуемого раствора — при двух длинах волн. Полученные данные заносят в табл. 5.

Таблица 5

#### Результаты измерения оптической плотности стандартных и испытуемых растворов

Стандартные растворы			Испытуемый раствор	
C, %	Папаверина гидрохлорид		275 нм	310 нм
	275 нм	310 нм		
0,00010				
0,00015				
0,00020				

### 4. Вычисление результатов

Определяют содержание папаверина гидрохлорида и дибазола гидрохлорида в испытуемой смеси двумя способами:

#### 1. Расчетный метод (метод удельного коэффициента)

В соответствии с законом аддитивности для любой выбранной длины волны поглощение смеси суммируется из поглощения папаверина гидрохлорида ( $A_{\text{пап}}$ ) и поглощения дибазола гидрохлорида ( $A_{\text{диб}}$ ):

$$\sum A^\lambda = A_{\text{пап}}^\lambda + A_{\text{диб}}^\lambda.$$

Для вычисления двух неизвестных достаточно составить два уравнения, выражающих суммарную оптическую плотность раствора при двух выбранных нами длинах волн. Уравнения в этом случае имеют вид:

$$\text{при } \lambda_1 = 275 \text{ нм: } \sum A^{\lambda_1} = E_{\text{пап}}^{\lambda_1} \cdot C_{\text{пап}} \cdot \ell + E_{\text{диб}}^{\lambda_1} \cdot C_{\text{диб}} \cdot \ell,$$

$$\text{при } \lambda_2 = 310 \text{ нм: } \sum A^{\lambda_2} = E_{\text{пап}}^{\lambda_2} \cdot C_{\text{пап}} \cdot \ell.$$

По формуле  $E = \frac{A}{C \cdot \ell}$  рассчитывают удельные коэффициенты поглощения папаверина и дибазола гидрохлоридов ( $E_{\text{пап}}^{\lambda_1}$ ,  $E_{\text{пап}}^{\lambda_2}$ ,  $E_{\text{диб}}^{\lambda_1}$ ) по данным измерений оптических плотностей двух стандартных растворов.

*Примечание:* удельные коэффициенты поглощения при одной и той же длине волны для одного и того же вещества должны быть величиной постоянной и не зависеть от концентрации. Для расчета используют усредненные величины.

Далее для вычисления концентрации папаверина и дибазола гидрохлоридов в исследуемом растворе решают систему линейных уравнений, приведенных выше.

## 2. Метод градуировочных графиков

По результатам измерений оптических плотностей стандартных растворов папаверина и дибазола гидрохлоридов строят градуировочные графики (рис. 4 и 5). По графику рис. 4 определяют концентрацию ( $C$ , %) папаверина гидрохлорида, соответствующую его содержанию в испытуемом растворе.

Разность между суммарной оптической плотностью и оптической плотностью папаверина гидрохлорида при 310 нм, определенной по графику рис. 4, дает значение оптической плотности дибазола гидрохлорида при длине волны 275 нм. По этому значению находят содержание дибазола гидрохлорида в испытуемом растворе (см. рис. 5).

Рассчитывают параметры отклонений (ДИО) в массе отдельных ингредиентов (приказ МЗ РФ № 305 от 16.10.97 г., см. прил. 3).

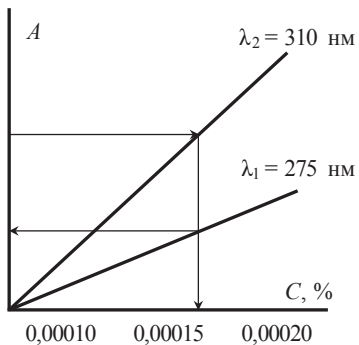


Рис. 4. Градуировочные графики для папаверина гидрохлорида

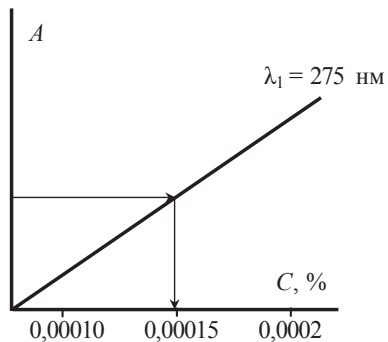


Рис. 5. Градуировочный график для дибазола гидрохлорида

В **выводах** делают заключение о составе исследуемой смеси, определенном двумя способами.

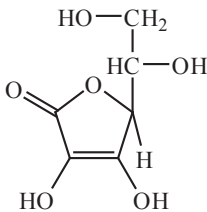
# ПОЛЯРИМЕТРИЯ

*Поляриметрия* — физический метод количественного анализа, основанный на свойстве оптически активных веществ вращать (отклонять) плоскость поляризации прямолинейно поляризованного света.

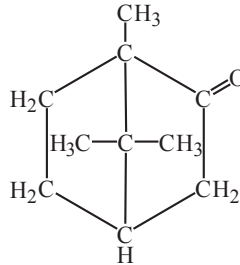
*Поляризованный свет* — свет, у которого колебания луча световой волны происходят только в одной плоскости. *Плоскость колебаний* — плоскость, в которой происходят колебания луча световой волны. Плоскость, перпендикулярная ей, называется *плоскостью поляризации*, в ней лежат вектор напряженности электрического поля световой волны  $E$  и световой луч.

По отношению к поляризованному свету все вещества делятся на оптически активные и оптически неактивные. *Оптически активные (ОА) вещества* — вещества, способные отклонять плоскость поляризации проходящего поляризованного света на некоторый угол, называемый *углом вращения плоскости поляризации*.

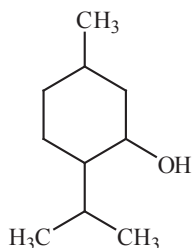
ОА веществами, как правило, являются природные соединения: терпены, алкалоиды, аминокислоты, сахара, антибиотики, гормоны, витамины. Оптическая активность веществ связана с асимметрией их молекул, т. е. с наличием асимметрического (хирального) атома углерода, имеющего четыре разных заместителя. Примеры ОА веществ приведены ниже:



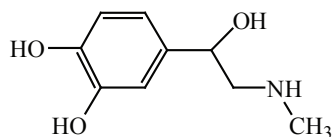
аскорбиновая кислота



камфора



ментол



адреналин

В зависимости от природы ОА вещества вращение плоскости поляризации может иметь различное направление и величину. Вращение называют *правым* и считают положительным (+), если поворот плоскости поляризации происходит по часовой стрелке, когда смотрят навстречу лучу. Вращение называют *левым* и считают отрицательным (-), если поворот происходит против движения часовой стрелки. Перед названием или химической формулой правовращающего соединения обычно ставят букву *d*, а левовращающего — букву *l*. Например, правовращающее ОА вещество — кортизона ацетат, левовращающее ОА вещество — ментол. Если соединения имеют одинаковую формулу, но способны вращать плоскость поляризации влево и вправо, то они являются *оптическими изомерами*, например, лево- и правовращающая камфора. Оптически неактивную эквимолекулярную смесь право- и левовращающих изомеров называют *рацематом*, например, рацемат левомецетина — это синтомицин.

Величину отклонения плоскости поляризации от начального положения, выраженную в угловых градусах ( $^{\circ}$ ), называют *углом вращения* и обозначают греческой буквой  $\alpha$  (со знаком «+» или «-»). Величина угла вращения зависит от природы оптически активного вещества, длины пути поляризованного света в оптически активной среде (чистом веществе или растворе) и длины волны света. Влияние температуры в большинстве случаев незначительно. Для растворов величина угла вращения зависит от природы растворителя, концентрации оптически активного вещества

и прямо пропорциональна длине пути света, т. е. толщине слоя оптически активного вещества или его раствора. В основе количественных поляриметрических измерений лежит уравнение

$$\alpha = \alpha_{\text{уд}} \cdot \ell \cdot C,$$

где  $C$  — концентрация ОА вещества в растворе, г/см<sup>3</sup>;  $\ell$  — толщина слоя раствора, дм;  $\alpha_{\text{уд}}$  — удельное вращение плоскости поляризации, также выражаемое в угловых градусах (°) со знаком «+» или «-».

Удельное оптическое вращение представляет собой угол вращения плоскости поляризации монохроматического света при длине волны линии  $D$  спектра натрия (589,3 нм), измеренный при температуре 20 °С, рассчитанный для толщины слоя испытуемого вещества 1 дм и приведенный к концентрации вещества, равной 1 г/см<sup>3</sup>. Символ  $\alpha_D^{20}$  означает, что удельное вращение плоскости поляризации относится к 20 °С и желтой  $D$ -линии натрия. Удельное вращение — это константа ОА вещества. Замена растворителя может привести к изменению  $\alpha_{\text{уд}}$  не только по величине, но и по знаку. Поэтому, приводя величину удельного вращения, необходимо указывать растворитель и выбранную для измерения концентрацию раствора.

Величину удельного вращения  $\alpha_{\text{уд}}$  рассчитывают по одной из следующих формул.

*Для жидких индивидуальных веществ:*

$$\alpha_{\text{уд}} = \frac{\alpha}{\ell \cdot \rho},$$

где  $\alpha$  — измеренный по шкале поляриметра угол вращения, °;  $\ell$  — толщина слоя жидкости, дм;  $\rho$  — плотность жидкого вещества, г/см<sup>3</sup>.

*Для веществ, находящихся в растворе:*

$$\alpha_{\text{уд}} = \frac{\alpha}{\ell \cdot C} \cdot 100 \%,$$

где  $C$  — концентрация растворенного вещества, %.

Отсюда можно вывести формулу для вычисления концентрации ( $C$ , %) вещества в растворе:

$$C = \frac{\alpha}{\alpha_{\text{уд}} \cdot \ell} \cdot 100 \%$$

Этой формулой можно пользоваться при содержании вещества в определенном интервале концентраций, в котором удельное вращение постоянно.

#### *Приборы для поляриметрических измерений*

Для проведения поляриметрических измерений применяют приборы — *поляриметры*. Для получения полностью или частично поляризованного света в них используется одно из трех физических явлений:

- 1) поляризация при отражении света или преломлении света на границе раздела двух прозрачных сред;
- 2) линейный дихроизм;
- 3) двойное лучепреломление.

В любом поляриметре есть *поляризатор* и *анализатор*, между которыми располагается трубка (кювета) с анализируемым раствором. В качестве поляризатора и анализатора используют *призмы Николя*, изготавливаемые из оптически активного исландского шпата  $\text{CaCO}_3$ . Если поляризатор и анализатор установлены так, что их плоскости поляризации параллельны между собой, то в отсутствие анализируемого раствора свет будет беспрепятственно проходить через оба устройства и наблюдаться в зрительную трубу. Если анализатор повернуть на  $90^\circ$ , то поляризованный свет, даваемый первым николем, через анализатор проходить не будет. Это положение называется «на темноту». С ОА анализируемым веществом в зрительной трубе появится свет. Чтобы вновь добиться темноты, анализатор необходимо повернуть на некоторый угол, равный углу вращения плоскости поляризации анализируемого вещества. Величина угла вращения обычно отсчитывается на устройстве зрительной трубы.

В так называемых полутеневых поляриметрах (рис. 6) измерение сводится к визуальному уравниванию яркостей двух половин

поля зрения в окуляре и последующему считыванию показаний по шкале вращений. Полутеневые поляризаторы достаточно широко применяются.

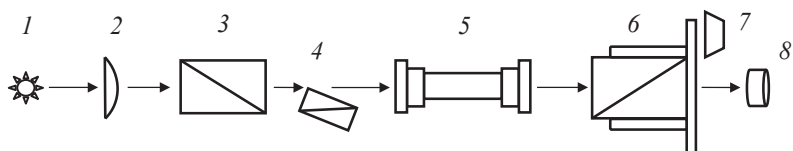


Рис. 6. Принципиальная схема полутеневого поляризатора Липпиха:

1 — источник света; 2 — конденсор; 3 и 4 — полутеневого поляризатор; 5 — трубка с измеряемым ОА веществом; 6 — анализатор с отсчетным устройством; 7 — окуляр отсчетного устройства; 8 — зрительная труба

Полутеневого поляризатор имеет две поляризационные призмы (3, 4), расположенные под небольшим углом, одна из которых закрывает половину поля зрения другой. При определенном положении анализатора обе половины рабочего поля в окуляре имеют одинаковую освещенность (рис. 7, а), т. е. не полностью погашены («полутень», откуда название). При малейшем повороте анализатора относительная освещенность этих половинок резко меняется (рис. 7, б).

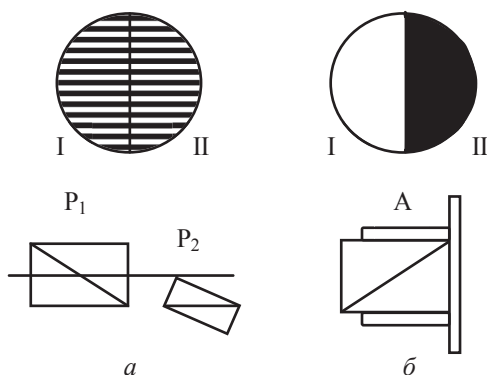


Рис. 7. Схема работы полутеневого поляризатора Липпиха:

$P_1$  и  $P_2$  — две поляризационные призмы, А — анализатор,  
I и II — половинки рабочего поля



Однако более распространены автоматические поляриметры с фотоэлектрической регистрацией, они позволяют измерять углы оптического вращения с точностью до 0,0002.

В лабораторной работе 4 используется поляриметр D7 производства фирмы Bellingham + Stanley, Великобритания (рис. 8), позволяющий определять величину угла вращения с точностью  $\pm 0,02^\circ$  при температуре  $(20 \pm 0,5)^\circ\text{C}$ . Измерения оптического вращения фармацевтических препаратов могут проводиться и при других значениях температуры, но в таких случаях вводят поправку на температуру, прописанную в частной ФС. Шкалу обычно проверяют при помощи сертифицированных кварцевых пластинок или растворов сахарозы.



Рис. 8. Внешний вид поляриметра Model D7 (Bellingham + Stanley Inc., Kent, UK)

#### *Порядок работы на поляриметре*

Первое измерение проводят с чистым растворителем. Для этого измерительную трубку заполняют растворителем, следя за чистотой окошек на концах трубки и за отсутствием в ней пузырьков воздуха. Трубку размещают в желобе поляриметра. Глядя в нижний объектив, настраивают анализатор вращением рабочего колеса так, чтобы освещенность половинок в рабочем поле

совпадала. По верхнему объективу записывают показания шкалы. Извлекают измерительную трубку, выливают растворитель, заполняют ее испытуемым раствором и снова размещают в желобе поляриметра. Положение равновесия, отвечающее равной яркости половинок рабочего поля, будет нарушено. Вращением шкалы уравнивают рабочее поле и записывают показания шкалы. Разница показаний шкалы, полученных с растворителем и с испытуемым образцом, является углом вращения плоскости поляризации этого образца.

Основная угловая шкала в верхнем окуляре разделена на  $360^\circ$  с шагом в  $1^\circ$ . Под основной шкалой расположена Международная сахарная шкала ПС в интервале от  $-30^\circ Z$  до  $+130^\circ Z$  с шагом  $1^\circ Z$ , ее можно использовать при работе с растворами сахара. Если положение линии в окуляре попадает между делениями, то результат уточняют по микрометрическому барабану, позволяющему снимать результаты по угловой шкале с шагом  $0,05^\circ$ , по сахарной шкале — с шагом  $0,1^\circ Z$ . Таким образом, истинное значение угла вращения плоскости поляризации складывается из делений шкалы в верхнем окуляре и отсчета делений на микрометрическом барабане.

Оптическое вращение растворов должно быть измерено в течение 30 мин. с момента их приготовления, растворы или жидкие вещества должны быть прозрачными. Перед измерением прежде всего следует установить *нулевую точку* прибора или определить величину *поправки* с трубкой, заполненной чистым растворителем (при работе с растворами), или с пустой трубкой (при работе с жидкими веществами). После установки прибора на нулевую точку или определения величины поправки проводят основное измерение, которое повторяют не менее 3 раз.

*Поляриметрию в фарманализе (ОФС 42-0041-07 ГФ РФ XII) применяют:*

- для идентификации оптически активных ЛВ. С этой целью измеряют на поляриметре угол вращения приготовленного согласно требованиям НД раствора анализируемого вещества. На основании измеренного угла вращения рассчитывают его удельное вращение  $\alpha_{уд}$ , которое сравнивают

- с интервалом значений этой характеристики, приведенном в НД, затем делают заключение о качестве ЛВ;
- в *испытаниях на доброкачественность* ЛВ в случае наличия примеси оптически активных веществ. Готовят растворы исследуемых веществ согласно требованиям НД и измеряют на поляриметре угол вращения. Полученное значение сравнивают с допустимым значением показателя по НД;
  - в *количественном анализе*. Готовят растворы анализируемых веществ согласно методикам, приведенным в НД или в руководствах по анализу ЛФ, измеряют на поляриметре угол вращения, рассчитывают содержание ( $C$ , %), используя данное в методике значение удельного вращения, и делают заключение о качестве препарата.

*Достоинства поляриметрии*: простота, экспрессность анализа, достаточно дешевое оборудование, возможность применения в аптечных условиях.

*Ограничение поляриметрии*: метод применим для анализа соединений только определенной пространственной структуры.

## Лабораторная работа 4

### Поляриметрическое определение содержания лекарственных веществ

**Цель работы:** приобрести практический навык измерения угла вращения плоскости поляризации на поляриметре и расчета содержания лекарственного вещества.

**Оборудование:**

- поляриметр Model D7;
- весы аналитические не ниже 2-го класса точности;
- ступка агатовая;
- колбы конические (емкостью 100 см<sup>3</sup>), колбы мерные (емкостью 50 см<sup>3</sup>) по ГОСТ 1770-74, пипетки по ГОСТ 20292-74;
- стеклянный фильтр ПОР 40.

Последовательность выполнения измерений на поляриметре D7 описана в теоретической части раздела «Поляриметрия».

### **Опыт 1. Определение содержания глюкозы в растворах для инъекций**

**Объекты анализа:** растворы глюкозы концентрации 5 %, 10 %, 20 %.

Растворы *глюкозы* используют как плазмозамещающее, гидратирующее, стимулирующее энергетический обмен средство. В состав выпускаемого лекарственного препарата входят активное вещество декстроза (50 г, 100 г, 200 г) и вспомогательные вещества: натрия хлорид — 0,26 г и вода для инъекций — до 1 дм<sup>3</sup>.

#### **Реактивы:**

- глюкоза C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub> (в ампулах), раствор для инъекций концентрации 400 мг/см<sup>3</sup>;
- аммиак водный, 25 % раствор по ГОСТ 24147-80, «ос.ч.»;
- вода деионизированная по ТУ-9452-001-46824383-00.

#### **Ход анализа**

##### **1. Приготовление испытуемых растворов глюкозы**

В мерных колбах вместимостью 50 см<sup>3</sup> готовят растворы глюкозы с содержанием 5 %, 10 % и 20 %. Для этого в колбы отбирают пипеткой необходимые аликвоты раствора глюкозы из ампулы (400 мг/см<sup>3</sup>), прибавляют в каждую по 0,2 см<sup>3</sup> концентрированного раствора аммиака, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

##### **2. Поляриметрические испытания и расчеты**

С помощью поляриметра определяют угол вращения приготовленных растворов (по 3–5 измерений).

Расчет содержания глюкозы в препарате (г/см<sup>3</sup>) проводят по формуле

$$C = \frac{\alpha}{\alpha_{\text{уд}} \cdot \ell} \cdot \frac{V_{\text{к}}}{V_{\text{пип}}},$$

где  $\alpha$  — угол вращения испытуемого раствора с учетом поправки, °;  
 $\alpha_{\text{уд}}$  — удельное вращение глюкозы, равное 52,7 °;  $\ell$  — толщина слоя

раствора, дм;  $V_k$  — объем колбы с испытуемым раствором, см<sup>3</sup>;  $V_{\text{пип}}$  — объем препарата, отобранный пипеткой для анализа, см<sup>3</sup>.

Заполняют табл. 6 с учетом величины поправки. Для получения величины угла вращения показания прибора, полученные при измерениях, алгебраически суммируют с ранее найденной величиной поправки (с. 41). Рассчитывают параметры отклонений (ДИО) в массе глюкозы (приказ МЗ РФ № 305 от 16.10.97 г., см. прил. 3).

Таблица 6

### Результаты определения содержания глюкозы

Концентрация глюкозы, %	Угол вращения, $\alpha$ , °	Угол вращения с поправкой, $\alpha$ , °	Содержание глюкозы, г/см <sup>3</sup>	Среднее содержание глюкозы, г/см <sup>3</sup>	Содержание глюкозы согласно НД, г/см <sup>3</sup>
5					
10					
20					

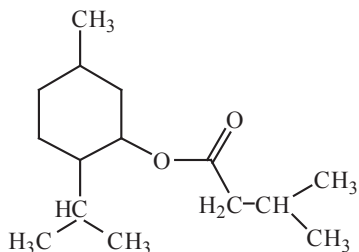
В **выводах** делают заключение о качестве приготовленных лекарственных препаратов.

### Опыт 2. Определение содержания валидола в таблетках

**Объект анализа:** препарат «Валидол» в таблетках (Фармстандарт, Курск).

*Валидол* — сосудорасширяющее средство, применяемое при функциональной кардиалгии, стенокардии (купирование приступов) и как седативное средство при стрессах. Действие препарата обусловлено рефлекторными реакциями, связанными

с раздражением чувствительных нервных окончаний. Валидол по своему действию близок к ментолу. Одна таблетка валидола содержит 60 мг левоментола, растворенного в ментиловом эфире изовалериановой кислоты:



### Реактивы:

- эфир петролейный марки 40-70 по ГОСТ 11992-66;
- вода деионизированная по ТУ-9452-001-46824383-00.

### Ход анализа

#### 1. Подготовка препарата к испытаниям

Таблетки препарата «Валидол» растирают в агатовой ступке. На аналитических весах берут точную навеску порошка (около 8 г), которую количественно переносят в коническую колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup>. Прибавляют 20 см<sup>3</sup> петролейного эфира и взбалтывают в течение 5 мин. Взвеси дают отстояться, надосадочную жидкость осторожно декантируют пипеткой и пропускают через стеклянный фильтр ПОР 40 в мерную колбу вместимостью 50 см<sup>3</sup>. Извлечение повторяют еще 3 раза, прибавляя к препарату по 10 см<sup>3</sup> петролейного эфира и каждый раз перемешивая по 3 мин. Взвесь отстаивают, надосадочную жидкость фильтруют через тот же фильтр, в ту же колбу. Объем фильтрата в мерной колбе доводят петролейным эфиром до метки.

#### 2. Поляриметрические испытания и расчеты

С помощью поляриметра определяют угол вращения приготовленного раствора 5 раз. Содержание валидола в одной таблетке ( $m$ , г) вычисляют по формуле

$$m = \frac{\alpha \cdot V_k \cdot 1,1 \cdot m_{\text{табл}}}{\alpha_{\text{уд}} \cdot \ell \cdot m_{\text{нав}}},$$

где  $\alpha$  — угол вращения испытуемого раствора с учетом поправки, °;  $\alpha_{\text{уд}}$  — удельное вращение 1 % раствора валидола в петролейном эфире, равное 51,82 °;  $\ell$  — длина трубки поляриметра, дм; 1,1 — эмпирический поправочный коэффициент на показания шкалы для 1–2 % растворов валидола в петролейном эфире;  $m_{\text{табл}}$  — средняя масса таблетки препарата, г;  $m_{\text{нав}}$  — навеска порошка растертых таблеток, г.

Заполняют табл. 7.

Таблица 7

**Результаты определения содержания валидола**

Угол вращения по шкале поляриметра, $\alpha$ , °	Угол вращения с поправкой, $\alpha$ , °	Средняя масса таблетки препарата, $m_{\text{табл}}$ , г	Навеска порошка растертых таблеток, $m_{\text{нав}}$ , г	Содержание валидола в одной таблетке, $m$ , г	Среднее содержание валидола в одной таблетке, $\bar{m}$ , г

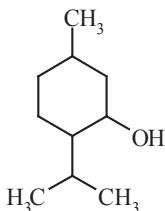
Рассчитывают параметры отклонений (ДИО) в массе валидола (приказ МЗ РФ № 305 от 16.10.97 г., см. прил. 3).

В **выводах** делают заключение о качестве лекарственного препарата.

**Опыт 3. Определение ментола в меновазине**

Поляриметрический метод используют при количественном определении ОА веществ как в индивидуальном виде, так и в лекарственных формах с оптически неактивными веществами, например, определение содержания ОА ментола в растворе оптически неактивного спирта.

Формула ментола:



**Объект анализа:** препарат «Меновазин», раствор для наружного применения.

*Меновазин* — комбинированное средство, которое, благодаря входящим в его состав ментолу, бензокаину и новокаину, оказывает местное анестезирующее действие. Ментол при нанесении на слизистые оболочки или втирании в кожу раздражает нервные окончания, вызывая ощущение холода и покалывания. При возбуждении холодовых рецепторов суживаются поверхностные сосуды и рефлекторно расширяются сосуды внутренних органов, что ведет к облегчению болей. Тем самым ментол усиливает местное анестезирующее действие бензокаина и новокаина. В 100 см<sup>3</sup> препарата «Меновазин», выпускаемого фармацевтическими предприятиями, содержится этиловый спирт 70 %, 2,5 г ментола и по одному грамму бензокаина и новокаина.

**Реактивы:**

- вода деионизированная по ТУ-9452-001-46824383-00.

**Ход анализа**

С помощью поляриметра определяют угол вращения испытуемого раствора «Меновазин» 5 раз. Расчет содержания ОА ментола (г) в растворе осуществляют по формуле

$$m = \frac{\alpha \cdot m_{\text{ЛФ}}}{\alpha_{\text{уд}} \cdot \ell},$$

где  $\alpha$  — угол вращения испытуемого раствора с учетом поправки, °;  $\alpha_{\text{уд}}$  — удельное вращение ментола в 10 % спиртовом растворе, равное 50,6 °;  $\ell$  — длина трубки поляриметра, дм;  $m_{\text{ЛФ}}$  — масса ЛФ, г.



Заполняют табл. 8.

Таблица 8

**Результаты определения содержания ментола в меновазине**

Угол вращения по шкале поляриметра, $\alpha$ , °	Угол вращения с поправкой, $\alpha$ , °	Масса лекарственной формы, $m_{\text{лф}}$ , Г	Содержание ОА вещества в растворе, $m$ , Г	Среднее содержание ОА вещества в растворе, $\bar{m}$ , Г

Рассчитывают параметры отклонений (ДИО) в массе ментола (приказ МЗ РФ № 305 от 16.10.97 г., см. прил. 3).

В **выводах** делают заключение о качестве лекарственного препарата.

## РЕФРАКТОМЕТРИЯ

*Рефрактометрия* (от лат. *refractus* — преломленный) — метод анализа, основанный на измерении показателя преломления. *Преломление* — изменение прямолинейного распространения света при переходе из одной среды в другую (рис. 9) из-за разной скорости распространения в них света.

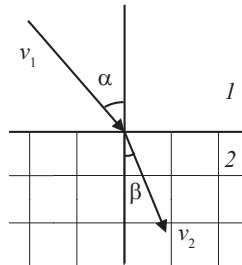


Рис. 9. Преломление светового луча на границе двух сред:

$\alpha$  — угол падения;  $\beta$  — угол преломления;

$v_1$  и  $v_2$  — скорости света в первой и второй средах ( $v_1 > v_2$ )

Если луч света переходит из вакуума или из воздуха в оптически более плотную среду (например, раствор), то угол падения всегда больше угла преломления, и наоборот.

Отношение синуса угла падения луча к синусу угла преломления есть величина постоянная для данной длины волны света, не зависящая от угла падения. Эта величина называется *показателем преломления* (индексом рефракции). Его можно рассматривать и как отношение скорости света в вакууме к скорости света в испытуемом веществе (*абсолютный* показатель преломления  $n$ ). На практике определяют так называемый *относительный* показатель преломления ( $n_{21}$ ), который является отношением скорости света в воздухе ( $v_1$ ) к скорости света в испытуемом веществе ( $v_2$ ):

$$\frac{\sin \alpha}{\sin \beta} = \frac{v_1}{v_2} = n_{21}.$$

*Факторы, влияющие на величину показателя преломления:*

- *природа вещества*, т. е. состав и строение его молекул;
- *температура*: при ее повышении показатель преломления уменьшается из-за уменьшения плотности исследуемого раствора, при ее понижении — увеличивается. Рекомендуемая температура для измерения  $n$  —  $20 \pm 0,3$  °С. Если измерения проводятся при другой температуре, то вносится поправка:

$$n' = n^{20} + (20 - t) \cdot 0,0002,$$

где  $t$  — рабочая температура;

- *длина волны света* ( $\lambda$ ). В современных приборах измерение показателя преломления проводят при длине волны линии  $D$  спектра натрия при дневном свете ( $\lambda = 589,3$  нм). Показатель преломления, определенный при 20 °С и такой длине волны, обозначается индексом  $n_D^{20}$ ;
- *внешнее давление* (незначительно для твердых и жидких веществ);
- *концентрация вещества* ( $C$ ) в растворе;
- *природа растворителя*.

Измерения показателя преломления обычно проводят на *рефрактометрах Аббе*, основанных на явлении *полного внутреннего отражения* (ПВО) на границе раздела двух сред при прохождении света из оптически более плотной среды в оптически менее плотную (например, из стекла в раствор).

*Угол ПВО* — наименьший угол падения, при котором луч падающего света полностью отражается от поверхности раздела. Зная угол ПВО, можно определить показатель преломления исследуемого раствора:

$$n = \frac{1}{\sin \alpha_{\text{ПВО}}}.$$

Рефрактометр Аббе (рис. 10) позволяет применять освещение не монохроматическим, а белым светом благодаря встроенному компенсатору, отрегулированному таким образом, чтобы  $n$  отсчитывался для желтой  $D$ -линии натрия.



Рис. 10. Внешний вид рефрактометра Аббе марки AR-4 (A.Krüss Optronic GmbH, Германия)

Рефрактометр AR-4 имеет оптическую систему и отсчетное устройство. Диапазон измерений показателя преломления в проходящем свете составляет 1,3–1,7 с точностью измерения  $\pm 2 \cdot 10^{-4}$ .

Схема прохождения луча света в рефрактометре при различных углах поворота призмы показана на рис. 11.

Для определения показателя преломления 2–3 капли исследуемого вещества помещают между половинками призмы, которые плотно сжимают. Поворотом зеркала (1) или источника света ярко освещают половинки призмы (2) белым светом. Все поле в окуляре должно быть освещено равномерно (см. рис. 11, а). После этого

поворотом призмы, соединенной со шкалой (4), добиваются появления темного поля в окуляре (см. рис. 11, б), что соответствует полному внутреннему отражению луча света от поверхности раздела между призмой и исследуемым веществом.

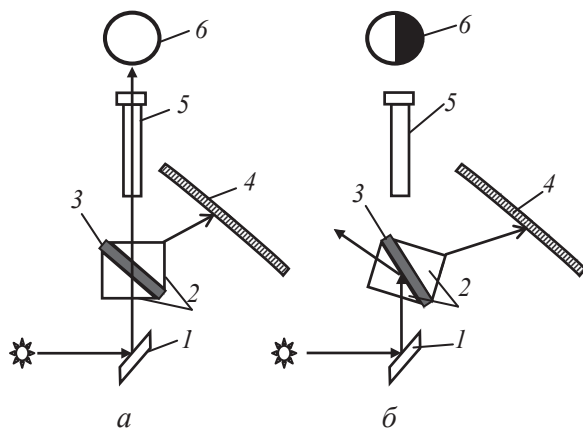


Рис. 11. Схема прохождения луча света в рефрактометре Аббе:  
*а* — при равномерном освещении половинок призмы; *б* — при ПВО:  
 1 — зеркало; 2 — половинки призмы; 3 — исследуемый раствор;  
 4 — шкала; 5 — окуляр; б — вид в окуляре

### *Настройка рефрактометра*

Перед проведением измерений проверяют калибровку шкалы рефрактометра по эталонной жидкости, в качестве которой используют дистиллированную воду. На измерительную призму наносят несколько капель воды, закрывают осветительной призмой. Между двумя поверхностями призм не должно быть пузырьков воздуха. Смотрят в окуляр и добиваются четкого изображения окулярной шкалы (рис. 12, а) поворотом окуляра влево или вправо. Регулятор шкалы поворачивают до значения  $n$ , равного 1,3330 (это показатель преломления дистиллированной воды).

Так как показатель преломления сильно зависит от температуры, то в случае отличия от 20 °С на шкале устанавливают значение  $n$ , соответствующее рабочей температуре (табл. 9). Затем

устраняют окраску линии свет/тьень при помощи компенсатора и устанавливают ее на точку пересечения сетки (рис. 12, б).

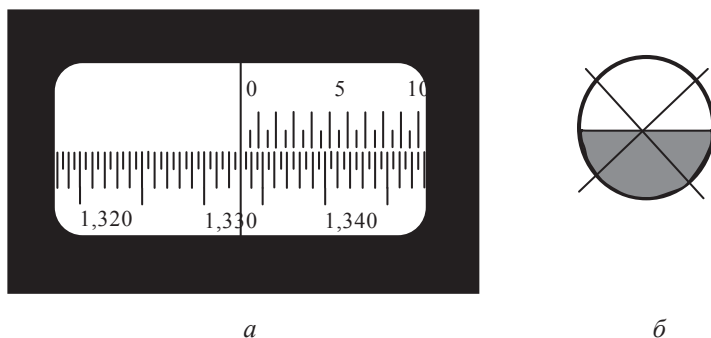


Рис. 12. Шкала окуляра (а) и вид в окуляре при совмещении границы свет/тьень с точкой пересечения сетки (б)

Таблица 9

**Показатель преломления дистиллированной воды  
в зависимости от температуры**

$t$ °C	$n$	$t$ °C	$n$	$t$ °C	$n$
14	1,33346	19	1,33307	24	1,33261
15	1,33339	20	1,33299	25	1,33250
16	1,33331	21	1,33290	26	1,33240
17	1,33324	22	1,33280	27	1,33229
18	1,33316	23	0,33271	28	1,33217

*Применение рефрактометрии в фармацевтическом анализе (ОФС 42-0040-07 ГФ РФ XII):*

- для установления степени чистоты вещества, поскольку показатель преломления является индивидуальной характеристикой вещества, а присутствие в исследуемой системе примесей влияет на его значение;
- для определения подлинности вещества путем определения его показателя преломления и других физических

характеристик (плотности, температуры кипения, поверхностного натяжения);

- для определения количественного содержания лекарственного вещества.

При испытании на подлинность готовят раствор указанной в НД концентрации в определенном растворителе и далее поступают как при установлении  $n$  эталонной жидкости. Если исследуемое ЛС представляет собой жидкость, на призму рефрактометра наносят 3–4 ее капли и поступают, как указано выше. Каждое измерение проводят не менее трех раз и вычисляют среднее значение  $n$ , которое сравнивают с интервалом значений показателя преломления, приведенным в НД; делают заключение о соответствии исследуемого вещества требованию НД по этому показателю. В табл. 10 приведены примеры ЛС и соответствующие им значения показателя преломления. Для идентификации вещества необходимо определять показатель преломления с точностью до  $\pm 0,001-0,002$ .

Таблица 10

**Показатели преломления 10 % растворов некоторых ЛВ  
при 20 °С (для желтой линии натрия)**

ЛВ	$n$	ЛВ	$n$
Уксусная кислота	1,3402	Кодеина фосфат ( $\cdot 1\frac{1}{2} \text{H}_2\text{O}$ )	1,3510
Натрия тиосульфат ( $\cdot 5 \text{H}_2\text{O}$ )	1,3450	Аммония хлорид	1,3520
Калия йодид	1,3460	Эфедрина гидрохлорид	1,3530
Натрия цитрат ( $\cdot 5\frac{1}{2} \text{H}_2\text{O}$ )	1,3480	Новокаин	1,3550

Критерием чистоты служит совпадение показателя преломления исследуемого препарата с надежно установленным и известным его значением. Чем больше разница между показателями

основного вещества и примеси, тем более чувствительным критерием чистоты служит показатель преломления.

Рефрактометрия в фармацевтическом анализе широко используется для количественного определения веществ в растворах, особенно в практике внутриаптечного контроля.

В рефрактометрии используют два способа расчета концентрации вещества в растворе по измеренному показателю преломления: по рефрактометрическим таблицам и по фактору прироста показателя преломления ( $F$ ).

#### 1. Расчет концентрации по рефрактометрическим таблицам

Между показателем преломления и концентрацией раствора существует определенная функциональная зависимость. Показатель преломления раствора складывается из показателей преломления растворителя и растворенного вещества. Если растворенное вещество — электролит, то имеет значение и степень электролитической диссоциации. Поэтому зависимость показателя преломления растворов от концентрации определяют для каждого отдельного вещества и составляют рефрактометрические таблицы, для чего готовят серию растворов с точной, постепенно возрастающей концентрацией. Количество растворов в серии зависит от используемой на практике концентрации. Определяют величину показателя преломления для каждого раствора не менее пяти раз. В таблицу вносят среднее значение из пяти определений. Измеряют показатель преломления испытуемого раствора и находят в таблице соответствующее ему значение концентрации. Если измеренный показатель преломления в таблице не приведен, проводится *интерполирование*.

Рефрактометрические таблицы со значениями  $n$  для растворов ЛВ приводятся в руководствах по внутриаптечному контролю качества ЛС.

Например, измеренный показатель преломления испытуемого раствора кальция хлорида 1,3442. Ближайшие табличные значения 1,3434 и 1,3445, соответствующие концентрациям 9 % и 10 %. Разность табличных показателей преломления ( $1,3445 - 1,3434 = 0,0011$ ) соответствует 1 % концентрации. Раз-



ность найденного показателя преломления и одного из табличных значений (например, для 10 % раствора)  $1,3445 - 1,3442 = 0,0003$  и соответствует  $x$  %. Отсюда

$$0,0011 - 1 \%$$

$$0,0003 - x$$

$$x = 0,0003 \cdot 1 : 0,0011 = 0,27 \%$$

Концентрация исследуемого раствора

$$C_x = 10 - 0,27 = 9,73 \%$$

Можно взять разность между табличным значением для 9 % раствора и найденным показателем преломления:  $1,3442 - 1,3434 = 0,0008$ ,  $x = 0,0008 : 0,0011 = 0,73$  %. Конечный результат получается тот же самый:  $C_x = 9 + 0,73 = 9,73$  %.

2. Расчет концентрации растворов с помощью фактора  $F$  осуществляют по формуле (для одного растворенного вещества)

$$C_x = \frac{n_x - n_0}{F},$$

где  $n_x$  — показатель преломления раствора;  $n_0$  — показатель преломления растворителя;  $F$  — фактор прироста показателя преломления, показывающий величину прироста  $n$  при увеличении концентрации раствора на 1 % ( $F$  определяется из рефрактометрических таблиц);  $C$  — концентрация раствора, %.

Например, анализируют раствор магния сульфата концентрации 25 %. На приборе получили значение показателя преломления  $n = 1,3560$ ; показатель преломления растворителя  $n_0 = 1,3330$ . По справочной таблице находят  $F = 0,00090$ . Подставляют в вышеприведенную формулу и находят точное значение концентрации:

$$C = (1,3560 - 1,3330) : 0,00090 = 25,55 \%$$

Рассмотренные выше способы используют для расчета количественного содержания лекарственных средств в растворах, содержащих одно растворенное вещество.

*Достоинства рефрактометрического метода:* высокая точность, экспрессность, экономия ЛФ, простота анализа.

*Ограничение:* невысокая чувствительность (концентрация не ниже 3–5 %).

## Лабораторная работа 5

### **Количественный и качественный рефрактометрический анализ растворов, содержащих одно лекарственное средство**

**Цель работы:** приобрести практический навык определения фактора показателя преломления и расчета содержания вещества в растворе. Усвоить технику выполнения качественного экспресс-анализа масел.

#### **Оборудование:**

- рефрактометр AR-4;
- пипетки по ГОСТ 20292-74, мерные колбы по ГОСТ 1770-74;
- аналитические весы не ниже 2-го класса точности.

Подготовка рефрактометра и ход выполнения измерений описаны в теоретической части раздела «Рефрактометрия».

#### **Опыт 1. Определение фактора показателя преломления лекарственных препаратов**

##### **Объекты анализа:**

- растворы магния сульфата  $MgSO_4$  концентраций 5 %, 10 %, 15 %, 20 %;
- растворы натрия хлорида  $NaCl$  концентраций 3 %, 4 %, 5 %, 6 %;
- растворы натрия гидрокарбоната  $NaHCO_3$  концентраций 3 %, 4 %, 5 %, 6 %.

##### **Реактивы:**

- магний серноокислый 7-водный ( $MgSO_4 \cdot 7 H_2O$ ) по ГОСТ 4523-77, «х.ч.»;
- натрий хлористый ( $NaCl$ ) 99,0–100,5 % (Sigma-Aldrich);

- натрий двууглекислый ( $\text{NaHCO}_3$ ) по ГОСТ 2156-76, «х.ч.»;
- вода деионизированная по ТУ-9452-001-46824383-00.

### Ход анализа

#### 1. Приготовление испытуемых растворов

Готовят растворы  $\text{MgSO}_4$ ,  $\text{NaCl}$  и  $\text{NaHCO}_3$  указанных выше концентраций. Для этого рассчитывают и берут навески веществ на аналитических весах, количественно переносят в мерные колбы вместимостью  $25 \text{ см}^3$ . Растворы доводят до метки деионизированной водой и перемешивают.

Заполняют колонки 1–4 табл. 11.

Таблица 11

#### Результаты определения фактора показателя преломления ( $n_0 = 1,3330$ )

№ п/п	Препарат	C, %	$m_{\text{нав}}$ , г	$\bar{n}$ (из 3 измерений)	$F = \frac{\bar{n} - n_0}{C, \%}$
1	2	3	4	5	6
1	$\text{MgSO}_4$	5			
2		10			
3		15			
4		20			
$\bar{F} (\text{MgSO}_4) =$					
5	$\text{NaCl}$	3			
6		4			
7		5			
8		6			
$\bar{F} (\text{NaCl}) =$					
9	$\text{NaHCO}_3$	3			
10		4			
11		5			
12		6			
$\bar{F} (\text{NaHCO}_3) =$					

## 2. Измерения показателя преломления и вычисления

Измеряют показатели преломления растворов препаратов с использованием рефрактометра AR-4. Каждое измерение проводят не менее трех раз. Рассчитывают значения фактора показателя преломления для каждой концентрации, заполняют колонки 5–6 табл. 11. Рассчитывают среднее значение  $\bar{F}$  для каждого препарата. Если значения  $F$  сильно отличаются друг от друга, то для каждой концентрации приводится свой фактор показателя преломления.

### Опыт 2. Анализ концентрированных растворов рефрактометрическим методом

*Концентрированные растворы* — это рабочие растворы лекарственных веществ определенной, более высокой концентрации, чем концентрации растворов, прописываемых в рецептах.

Применение концентрированных растворов облегчает работу фармацевта, увеличивает производительность труда, способствует повышению качества жидких лекарственных форм и ускоряет их отпуск населению. Примерный перечень концентрированных растворов и их сроки годности приведены в инструкциях по контролю качества лекарств. Концентрированные растворы хранят в соответствии с физико-химическими свойствами веществ, входящих в их состав, в хорошо закрывающихся штангласах, в защищенном от солнечных лучей месте, при температуре не выше 20 °С или при температуре холодильника (3–5 °С). На штанглас прикрепляют этикетку с указанием названия и концентрации раствора, номера серии, даты приготовления и номера анализа. Приготавливают растворы по мере надобности с учетом объема работы и срока их годности. Изменение цвета, помутнение, появление хлопьев или налета являются признаками непригодности растворов.

Концентрированные растворы приготавливают в асептических условиях на свежеперегнанной воде, используя мерную посуду (мерные колбы, цилиндры).

При приготовлении концентрированных растворов следует избегать концентраций, близких к концентрациям насыщенных

растворов, так как при понижении температуры растворов возможна кристаллизация растворенных веществ.

Приготовленные растворы фильтруют и подвергают полному химическому анализу (испытания на подлинность, количественное определение содержания вещества).

Отклонения, допускаемые в концентратах, указаны в прил. 3 (приказ МЗ РФ № 305 от 16.10.97 г.).

**Объекты анализа** (по выбору преподавателя):

- 10 % раствор натрия хлористого NaCl;
- 40 % раствор гексаметилентетрамина (уротропина);
- 30 % раствор натрия тиосульфата  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ;
- 5 % раствор глюкозы безводной.

**Реактивы:**

- натрий хлористый (NaCl) по ГОСТ 4233-77, «х.ч.»;
- гексаметилентетрамин (уротропин) по ГОСТ 1381-73, «х.ч.»;
- натрия тиосульфат ( $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ) по ГОСТ 244-76, «х.ч.»;
- глюкоза безводная по ГОСТ 6038-79, «х.ч.»;
- вода деионизированная по ТУ-9452-001-46824383-00.

**Ход анализа**

### **1. Измерение показателей преломления**

Измеряют показатели преломления двух концентрированных растворов с использованием рефрактометра AR-4. Каждое измерение проводят не менее трех раз, вычисляют среднее значение  $\bar{n}$  до четвертого знака после запятой и допустимый интервал отклонений (ДИО) (приказ МЗ РФ № 305 от 16.10.97 г., см. прил. 3). Заполняют колонки 1–5 табл. 12.

### **2. Расчет концентрации**

Рассчитывают концентрацию растворов двумя способами:

1) по формуле

$$C, \% = \frac{\bar{n} - n_0}{F},$$

где  $n_0$  — показатель преломления растворителя ( $n_0 = 1,3330$ ); значение  $F$  берется из рефрактометрических таблиц. Результаты вычислений заносят в колонку 6 табл. 12.

Таблица 12

**Результаты анализа концентрированных растворов**

Препарат	$C, \%$ (ДИО)	$n$ (3 измерения)	$\bar{n}$	$C, \%$	$C_{\text{табл}}, \%$
1	2	3	4	5	6

2) по рефрактометрическим таблицам: по измеренному показателю преломления в рефрактометрической таблице находят соответствующее ему значение концентрации для данного вещества. Если измеренный показатель преломления в таблице не приведен, проводится интерполирование (см. теоретическую часть раздела «Рефрактометрия», с. 55–56). Заполняют колонку 6 табл. 12.

Делают заключение о качестве изготовления этих растворов, сравнивая полученные результаты с табличными величинами (табл. 13).

**3. Укрепление или разбавление растворов**

В случае превышения отклонений проводят расчеты, соответствующие укреплению или разбавлению растворов до приведения их к соответствию с заявленными концентрациями по формулам:

*Объем воды* ( $V_{\text{доб}}, \text{см}^3$ ), необходимый для разбавления раствора:

$$V_{\text{доб}} = \frac{V_{\text{р}} \cdot (C, \%_{\text{факт}} - C, \%_{\text{заявл}})}{C, \%_{\text{заявл}}},$$

где  $V_{\text{р}}$  — объем исходного раствора,  $\text{см}^3$ .

*Масса вещества* ( $m_{\text{доб}}, \text{г}$ ) для укрепления раствора:

$$m_{\text{доб}} = \frac{V_p \cdot (C, \%_{\text{факт}} - C, \%_{\text{заявл}})}{100 \cdot \rho_{20} - C, \%_{\text{заявл}}},$$

где  $\rho_{20}$  — плотность раствора при 20 °С, г/см<sup>3</sup>.

Таблица 13

**Показатели преломления и рефрактометрические факторы  
для некоторых концентрированных растворов**

Раствор	Концентрация, C, %	<i>n</i>	<i>F</i>
Глюкозы безводной	3,52	1,3380	Для 5 % раствора 0,00142
	4,23	1,3390	
	4,93	1,3400	
	5,63	1,3410	
	6,34	1,3420	
	7,04	1,3430	
	7,75	1,3440	
Натрия хлористого	8,51	1,3470	Для 10 % раствора 0,00164
	9,14	1,3480	
	9,78	1,3490	
	10,41	1,3500	
	11,05	1,3510	
	11,70	1,3520	
	12,35	1,3530	
Натрия тиосульфата	27,8	1,3660	Для 30 % раствора 0,00120
	28,2	1,3670	
	29,0	1,3680	
	30,0	1,3690	
	31,0	1,3700	
	32,0	1,3710	
	33,0	1,3720	
Гексаметилен- тетрамина	36,68	1,3960	Для 40 % раствора 0,00172
	37,24	1,3970	
	37,81	1,3980	
	38,37	1,3990	
	38,94	1,4000	
	39,50	1,4010	
	40,07	1,4020	

В соответствии с расчетами проводят необходимые действия — разбавляют или укрепляют растворы, после чего опять измеряют их показатели преломления и сравнивают с табличными.

В **выводах** делают заключение о соответствии заявленной и действительной концентрации растворов.

### **Опыт 3. Экспресс-анализ подлинности и свежести масел, используемых в фармации**

Критерием чистоты фармацевтического масла служит совпадение его показателя преломления с надежно установленным и известным значением  $n_{\text{табл}}$  (табл. 14). По значению показателя преломления определяют подлинность масла и судят о его свежести, с порчей масла показатель преломления повышается.

*Таблица 14*

#### **Показатели преломления и плотности масел**

Масло	$n_{\text{табл}}$ (при 20 °С)	$\rho_{20}$ , г/дм <sup>3</sup>
Кокосовое	1,4497	925
Пальмовое	1,4545	923
Горчичное	1,470–1,474	913–923
Рапсовое	1,472–1,476	908–915
Подсолнечное	1,470–1,475	917–920
Льняное	1,480–1,487	926–936
Пихтовое	1,469–1,472	897
Репейное	1,476–1,479	860

**Объекты анализа** (масло по выбору преподавателя):

- подсолнечное;
- репейное;
- пихтовое;
- горчичное.



### Ход анализа

Измеряют показатели преломления двух масел с использованием рефрактометра AR-4. Каждое измерение проводят не менее трех раз и вычисляют среднее значение  $\bar{n}$  до четвертого знака после запятой. Сравнивают полученное значение с табличным (см. табл. 14). Заполняют табл. 15.

Таблица 15

### Результаты анализа фармацевтических масел

Масло	$n$ (3 измерения)	$\bar{n}$	$n_{\text{табл}}$	$\Delta n$

В **выводах** делают заключение о подлинности и свежести исследованных масел.

## Лабораторная работа 6

### Количественное определение лекарственных веществ в многокомпонентных лекарственных препаратах

**Цель работы:** усвоить навыки рефрактометрического определения двухкомпонентных лекарственных форм в порошках. Усвоить навыки анализа лекарственных препаратов, основанного на сочетании рефрактометрии и титриметрии.

#### Сущность метода определения

Анализ двухкомпонентных порошков методом рефрактометрии основан на различной растворимости ингредиентов в воде и органических растворителях (этаноле). В зависимости от растворимости ингредиентов порошка возможны следующие случаи:

- один ингредиент растворим в воде, другой — в этаноле;
- оба ингредиента растворимы в воде, один из них растворим в этаноле;
- оба ингредиента растворимы в этаноле, один из них растворим в воде.

#### **Оборудование:**

- рефрактометр AR-4;
- рефрактометрические таблицы;
- пипетки по ГОСТ 20292-74, колбы по ГОСТ 1770-74;
- установка для титрования;
- микробюретка по ГОСТ 29251-91.

Подготовка прибора и ход выполнения измерений описаны в теоретической части раздела «Рефрактометрия».

### **Опыт 1. Один ингредиент растворим в воде, другой — в этаноле**

**Объект анализа:** лекарственная форма состава:

- бромкамфоры 0,3;
- натрия гидрокарбоната 0,3.

В состав данной ЛФ входят ингредиенты, отличающиеся между собой растворимостью: бромкамфора малорастворима в воде и легко — в спирте; натрия гидрокарбонат малорастворим в спирте, но хорошо растворим в воде. Поэтому раствор, полученный обработкой навески порошка спиртом, будет содержать бромкамфору, а раствор, полученный обработкой навески порошка водой, — натрия гидрокарбонат.

#### **Ход анализа**

Берут две навески порошка лекарственной формы массой по 0,25 г и обрабатывают одну 2 см<sup>3</sup> воды, другую — 2 см<sup>3</sup> этанола 95 %. Растворы фильтруют. Дальнейшему исследованию подвергают фильтраты.

С помощью рефрактометра AR-4 измеряют показатели преломления приготовленных водного и спиртового растворов.

Содержание вещества ( $m_{\text{вещ}}$ , г), растворимого в воде (этаноле), рассчитывают по формуле

$$m_{\text{вещ}} = \frac{(n - n_0) \cdot m_{\text{преп}} \cdot V_{\text{р-ля}}}{F \cdot m_{\text{нав}} \cdot 100}, \quad (1)$$

где  $n$  — показатель преломления водного (спиртового) раствора;  $n_0$  — показатель преломления воды (этанола);  $m_{\text{преп}}$  — средняя масса лекарственного препарата, г;  $m_{\text{нав}}$  — масса навески порошка, взятая для приготовления раствора, г;  $V_{\text{р-ля}}$  — объем воды (этанола), взятый для приготовления раствора, см<sup>3</sup>;  $F$  — фактор показателя преломления водного (спиртового) раствора вещества, растворимого в воде (этаноле).

Заполняют табл. 16. Рассчитывают параметры отклонений (ДИО) в массе отдельных ингредиентов (приказ МЗ РФ № 305 от 16.10.97 г., см. прил. 3).

Таблица 16

**Результаты анализа двухкомпонентной смеси  
(при 20 °С для воды  $n_0 = 1,3330$ , для этанола  $n_0 = 1,3634$ )**

Раствор	$n$	$F_{\text{табл}}$	$m_{\text{вещ}}$ , г по формуле (1)	ДИО
Водный		0,00125 (NaHCO <sub>3</sub> )	$m_{\text{NaHCO}_3} =$	
Спиртовый		0,00107 (бр.камф.)	$m_{\text{бр.камф}} =$	

В **выводах** делают заключение о качестве лекарственного препарата.

**Опыт 2. Оба ингредиента растворимы в воде,  
один из них растворим в этаноле**

**Объект анализа:** лекарственная форма состава:

- гексаметилентетрамина 0,5;
- натрия гидрокарбоната 0,3.

**Ход анализа**

Берут две навески порошка лекарственной формы массой по 0,25 г и обрабатывают одну 2 см<sup>3</sup> воды, другую — 2 см<sup>3</sup> этанола

95 %. В водном растворе будут находиться оба ингредиента, в спиртовом растворе — один гексаметилентетрамин (уротропин).

Измеряют показатели преломления растворов, результаты заносят в табл. 17.

Таблица 17

**Результаты анализа двухкомпонентной смеси**

Раствор	$n$	$F_{\text{табл}}$	$n_0$ при 20 °С
Водный		0,00125 (NaHCO <sub>3</sub> )	1,3330
		0,00166 (уротропин)	
Спиртовый		0,00150 (уротропин)	1,3634

Содержание вещества ( $m_1$ , г), растворимого в воде и в спирте, рассчитывают по формуле (1) из опыта 1, где  $n$  и  $F$  — показатель преломления и фактор показателя преломления спиртового раствора вещества,  $n_0$  — показатель преломления этанола.

Содержание вещества ( $m_2$ , г), растворимого только в воде, рассчитывают по формуле (2):

$$m_2 = \frac{[n_2 - (n_0 + C_1 \cdot F_{1в})] \cdot m_{\text{преп}} \cdot V_{\text{р-ля}}}{F_{2в} \cdot m_{\text{нав}} \cdot 100}, \quad (2)$$

где  $n_2$  — показатель преломления водного раствора;  $n_0$  — показатель преломления воды;  $C_1$  — концентрация вещества, растворимого в обоих растворителях, %;  $F_{1в}$  — фактор показателя преломления водного раствора вещества, растворимого в обоих растворителях;  $F_{2в}$  — фактор показателя преломления водного раствора вещества, растворимого в воде.

*Примечание:* концентрацию вещества, растворимого в обоих растворителях ( $C_1$ , %), рассчитывают на основании ранее найденного содержания ( $m_1$ , г):

$$C_1 = \frac{m_1 \cdot m_{\text{нав}} \cdot 100 \%}{m_{\text{преп}} \cdot V_{\text{р-ля}}}.$$

Рассчитывают параметры отклонений (ДИО) в массе отдельных ингредиентов (приказ МЗ РФ № 305 от 16.10.97 г., см. прил. 3).

В **выводах** делают заключение о качестве лекарственного препарата.

**Опыт 3. Оба ингредиента растворимы в этаноле,  
один из них растворим в воде**

**Объект анализа:** лекарственная форма состава:

- бромкамфоры 0,3;
- гексаметилентетрамина 0,5.

**Ход анализа**

Для рефрактометрического определения берут две навески порошка лекарственной формы массой по 0,25 г и обрабатывают одну 2 см<sup>3</sup> воды, другую — 2 см<sup>3</sup> этанола 95 %. В спиртовом растворе будут находиться оба ингредиента, в водном — один гексаметилентетрамин (уротропин). Измеряют показатели преломления растворов, результаты заносят в табл. 18.

*Таблица 18*

**Результаты анализа двухкомпонентной смеси**

Раствор	$n$	$F_{\text{табл}}$	$n_0$ при 20 °С
Водный		0,00166 (уротропин)	1,3330
Спиртовый		0,00150 (уротропин)	1,3634
		0,00107 (бромкамфора)	

Содержание вещества ( $m_1$ , г), растворимого в воде и спирте, рассчитывают по формуле

$$m_1 = \frac{(n_1 - n_0) \cdot m_{\text{преп}} \cdot V_{\text{р-ля}}}{F_{1в} \cdot m_{\text{нав}} \cdot 100},$$

где  $n_1$  и  $n_0$  — показатели преломления водного раствора и воды;  $F_{1в}$  — фактор показателя преломления водного раствора определяемого вещества.

Содержание вещества ( $m_2$ , г), растворимого только в спирте, рассчитывают по формуле

$$m_2 = \frac{[n_2 - (n_0 + C_1 \cdot F_{1с})] \cdot m_{\text{преп}} \cdot V_{\text{р-ля}}}{F_{2с} \cdot m_{\text{нав}} \cdot 100},$$

где  $n_2$  и  $n_0$  — показатели преломления спиртового раствора и спирта;  $C_1$  — концентрация вещества, растворимого в обоих растворителях, в спиртовом растворе, %;  $F_{1с}$  — фактор показателя преломления спиртового раствора вещества, растворимого в обоих растворителях;  $F_{2с}$  — фактор показателя преломления спиртового раствора определяемого вещества.

Рассчитывают параметры отклонений (ДИО) в массе отдельных ингредиентов (приказ МЗ РФ № 305 от 16.10.97 г., см. прил. 3).

В **выводах** делают заключение о качестве лекарственного препарата.

#### **Опыт 4. Анализ двухкомпонентных лекарственных форм методами рефрактометрии и титриметрии**

Сочетание разных методов анализа используют в случае, если количественное определение всех компонентов в анализируемой лекарственной форме затруднено только химическими методами. Например, в многокомпонентном растворе содержание всех ингредиентов, кроме одного, определяют титриметрически, а содержание оставшегося, наиболее трудно поддающегося химическому анализу, — рефрактометрически.

Различают анализ жидких и порошкообразных лекарственных форм.

**Объект анализа:** лекарственная форма состава:

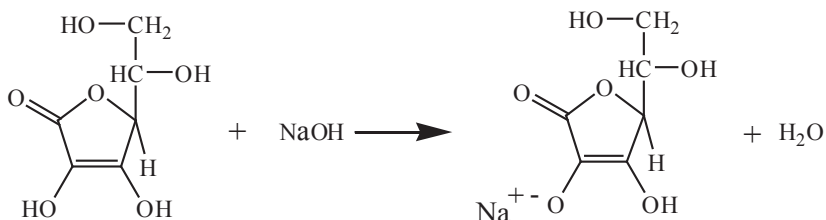
- кислоты аскорбиновой 1,0;
- раствора глюкозы 5 % до 100 см<sup>3</sup>.

## Ход анализа

Аскорбиновую кислоту определяют путем кислотно-основного титрования раствором гидроксида натрия. Глюкозу определяют рефрактометрически.

### 1. Титриметрическое определение аскорбиновой кислоты

Для определения содержания аскорбиновой кислоты к 2 см<sup>3</sup> лекарственной формы прибавляют 1–2 капли фенолфталеина и титруют до розового окрашивания 0,1 М раствором NaOH, стандартизованным по янтарной кислоте или по титрованному раствору HCl. Во время титрования протекает реакция нейтрализации:



Содержание аскорбиновой кислоты ( $C_{1/2}$ , моль/дм<sup>3</sup> или  $m$ , г) вычисляют по закону эквивалентов для прямого титрования:

$$C_{1/2 \text{ аск.к}} = \frac{C_{1/2 \text{ NaOH}} \cdot V_{\text{NaOH}}}{V_{\text{аск.к}}},$$

$$m_{\text{аск.к}} = C_{1/2 \text{ NaOH}} \cdot V_{\text{NaOH}} \cdot M_{1/2 \text{ аск.к}} \cdot \frac{V_{\text{ЛФ}}}{V_{\text{п}}},$$

где  $M_{1/2}$  — молярная масса эквивалента аскорбиновой кислоты, г/моль;  $V_{\text{ЛФ}}$  — объем лекарственной формы, дм<sup>3</sup>;  $V_{\text{п}}$  — объем аликвоты ЛФ, отобранной пипеткой для анализа, дм<sup>3</sup>.

### 2. Рефрактометрическое определение глюкозы

Для определения содержания глюкозы измеряют показатель преломления раствора ( $n$ ) и вычисляют содержание глюкозы по формуле

$$m_{\text{глюк}} = \frac{(n - n_0 - C_{\text{аск.к}} \cdot F_{\text{аск.к}}) \cdot m_{\text{преп}}}{F_{\text{глюк}} \cdot 100},$$

где  $C_{\text{аск.к}}$  — концентрация аскорбиновой кислоты, найденная титрованием, % (м/о),  $C_{\text{аск.к}} = (m_{\text{аск.к}}/m_{\text{р-ра}}) \cdot 100$  %;  $F_{\text{аск.к}} = 0,00160$  и  $F_{\text{глюк}} = 0,00142$  (по рефрактометрическим таблицам).

Рассчитывают параметры отклонений (ДИО) в массе отдельных ингредиентов (приказ МЗ РФ № 305 от 16.10.97 г., см. прил. 3).

В **выводах** делают заключение о качестве лекарственного препарата.

## Лабораторная работа 7

### Анализ спиртовых растворов лекарственных средств

**Цель работы:** усвоить навыки рефрактометрического определения концентрации этилового спирта в водно-спиртовых и спиртовых растворах лекарственных средств.

#### Сущность метода определения

*Спирт этиловый* (этанол, *Spiritus aethylicus*) — один из наиболее широко используемых органических растворителей в медицинской и фармацевтической практике. Структурная формула этанола



Этанол обладает бактериостатическими и бактерицидными свойствами, широко используется для получения настоек, экстрактов, лекарственных форм для наружного применения. Качество спиртовых растворов зависит от концентрации спирта, в котором растворен препарат. В каждом случае необходима оптимальная концентрация, при которой лекарственное вещество не выделится в осадок. Поэтому готовятся водно-спиртовые растворы с различной концентрацией спирта.



Рефрактометрический метод определения количественного содержания этилового спирта заключается в установлении концентрации спирта в водно-спиртовых растворах с помощью измерения показателя преломления  $n$ . Экспериментально установлено, что показатель преломления водно-спиртовых растворов с ростом концентрации в интервале 1–55 % линейно увеличивается, в интервале 55–75 % увеличивается менее заметно, от 75 % до 90 % — не изменяется, а от 90 % до 96 % — уменьшается. Поэтому растворы с содержанием спирта более 55 % следует разводить перед анализом.

**Оборудование:**

- рефрактометр AR-4;
- пипетки по ГОСТ 20292-74, колбы по ГОСТ 1770-74;
- складчатый фильтр.

**Опыт 1. Определение концентрации этилового спирта  
в водно-спиртовых растворах**

**Объект анализа:** водно-спиртовой раствор с содержанием спирта этилового 1–75 % (о/о).

**Реактивы:**

- вода деионизированная по ТУ-9452-001-46824383-00.

**Ход анализа**

**1. Подготовка растворов и измерение показателя преломления**

Водно-спиртовые растворы с содержанием спирта более 55 % перед анализом разводят в соотношении 1 : 2. Коэффициент разведения при этом будет 1,47 (с учетом уменьшения объема раствора при смешивании спирта с водой).

Для рефрактометрического определения концентрации спирта на призму рефрактометра наносят 5–6 капель спиртового раствора, быстро закрывают ее и определяют показатель преломления  $n^t$ .

**2. Вычисления**

Если определение проводилось при температуре, отличной от 20 °С, рассчитывают  $n^{20}$  с учетом поправки на температуру:

$$n^{20} = n^t \pm (\Delta n^t \cdot \Delta t),$$

где  $\Delta n^t$  — поправка показателя преломления на 1 °С (табл. 19);  $\Delta t$  — разница между температурой эксперимента и 20 °С.

В случае проведения эксперимента при температуре выше 20 °С поправку прибавляют к найденной величине  $n^t$ , если анализ проведен при температуре ниже 20 °С, поправку вычитают.

Таблица 19

**Показатели преломления и поправки  
для водно-спиртовых растворов**

Концентрация спирта, $C_{\text{табл}}$ , % (о/о)	Показатель преломления при 20 °С, $n_{\text{табл}}^{20}$	Поправка показателя преломления на 1 % спирта, $\Delta n_{\text{спирта}}$	Поправка показателя преломления на 1 °С, $\Delta n^t$
0	1,33300		$1 \cdot 10^{-4}$
1	1,33345	$4,5 \cdot 10^{-4}$	$1 \cdot 10^{-4}$
2	1,33400	$5,5 \cdot 10^{-4}$	$1 \cdot 10^{-4}$
3	1,33444	$4,4 \cdot 10^{-4}$	$1,1 \cdot 10^{-4}$
4	1,33493	$4,9 \cdot 10^{-4}$	$1,1 \cdot 10^{-4}$
5	1,33535	$4,2 \cdot 10^{-4}$	$1,2 \cdot 10^{-4}$
6	1,33587	$5,2 \cdot 10^{-4}$	$1,2 \cdot 10^{-4}$
7	1,33641	$5,4 \cdot 10^{-4}$	$1,3 \cdot 10^{-4}$
8	1,33700	$5,9 \cdot 10^{-4}$	$1,3 \cdot 10^{-4}$
9	1,33760	$6,0 \cdot 10^{-4}$	$1,3 \cdot 10^{-4}$
10	1,33808	$4,8 \cdot 10^{-4}$	$1,4 \cdot 10^{-4}$
11	1,33870	$6,2 \cdot 10^{-4}$	$1,4 \cdot 10^{-4}$
12	1,33924	$5,4 \cdot 10^{-4}$	$1,4 \cdot 10^{-4}$
13	1,33977	$5,3 \cdot 10^{-4}$	$1,4 \cdot 10^{-4}$
14	1,34043	$6,6 \cdot 10^{-4}$	$1,4 \cdot 10^{-4}$
15	1,34096	$5,3 \cdot 10^{-4}$	$1,5 \cdot 10^{-4}$
16	1,34158	$6,2 \cdot 10^{-4}$	$1,5 \cdot 10^{-4}$
17	1,34209	$5,5 \cdot 10^{-4}$	$1,5 \cdot 10^{-4}$
18	1,34270	$6,1 \cdot 10^{-4}$	$1,5 \cdot 10^{-4}$
19	1,34330	$6,0 \cdot 10^{-4}$	$1,5 \cdot 10^{-4}$
20	1,34390	$6,0 \cdot 10^{-4}$	$1,6 \cdot 10^{-4}$
21	1,34452	$6,2 \cdot 10^{-4}$	$1,6 \cdot 10^{-4}$
22	1,34512	$6,0 \cdot 10^{-4}$	$1,7 \cdot 10^{-4}$
23	1,34573	$6,1 \cdot 10^{-4}$	$1,8 \cdot 10^{-4}$
24	1,34635	$6,2 \cdot 10^{-4}$	$1,9 \cdot 10^{-4}$
25	1,34697	$6,2 \cdot 10^{-4}$	$2,0 \cdot 10^{-4}$
30	1,35000	$6,0 \cdot 10^{-4}$	$2,0 \cdot 10^{-4}$

Концентрация спирта, $C_{\text{табл}}$ , % (о/о)	Показатель преломления при 20 °С, $n_{\text{табл}}^{20}$	Поправка показателя преломления на 1 % спирта, $\Delta n_{\text{спирта}}$	Поправка показателя преломления на 1 °С, $\Delta n^t$
35	1,35320	$6,4 \cdot 10^{-4}$	$2,1 \cdot 10^{-4}$
40	1,35500	$4,0 \cdot 10^{-4}$	$2,4 \cdot 10^{-4}$
45	1,35700	$4,0 \cdot 10^{-4}$	$2,4 \cdot 10^{-4}$
50	1,35900	$4,0 \cdot 10^{-4}$	$2,6 \cdot 10^{-4}$
55	1,36060	$3,2 \cdot 10^{-4}$	$2,6 \cdot 10^{-4}$
60	1,36180	$2,4 \cdot 10^{-4}$	$3,4 \cdot 10^{-4}$
65	1,36300	$2,4 \cdot 10^{-4}$	$3,6 \cdot 10^{-4}$
70	1,36380	$1,6 \cdot 10^{-4}$	$3,8 \cdot 10^{-4}$
75	1,36450	$1,4 \cdot 10^{-4}$	$4,0 \cdot 10^{-4}$

Затем находят по таблице концентрацию спирта, соответствующую полученной величине  $n^{20}$ . В случае отсутствия в таблице такой величины показателя преломления, находят ближайшую к ней величину  $n_{\text{табл}}^{20}$  и соответствующую ей концентрацию спирта ( $C_{\text{табл}}$ , %). Рассчитывают поправку концентрации спирта по формуле  $\Delta C = \frac{n^{20} - n_{\text{табл}}^{20}}{\Delta n_{\text{спирта}}}$ , которую прибавляют (или вычитают) к най-

денной концентрации:  $C, \% = C_{\text{табл}} \pm \Delta C$ . Если раствор спирта был разведен водой, полученное значение умножается на коэффициент разведения. Это и есть истинное содержание спирта в растворе:

$$C_{\text{ист}}, \% = C \cdot K_{\text{развед}}$$

*Пример* (колонка 2, табл. 20). Анализируют 40 % раствор спирта при 23 °С без разведения. Показания рефрактометра — 1,3541 ( $n^t$ ). Согласно табл. 19 поправка на 1 °С для  $n$ , близкого по величине к полученному, равна  $2,4 \cdot 10^{-4}$ , т. е.  $\Delta n^t = 0,00024$ . Поправка на 3 °С составляет  $\Delta n^t \cdot \Delta t = 0,00024 \cdot 3 = 0,00072$  со знаком «+», так как определение  $n$  проводили при температуре выше 20 °С. Показатель преломления  $n^{20}$  получается равным

$$n^{20} = 1,3541 + 0,00072 = 1,35482.$$

Далее вычисляют поправку концентрации и истинное содержание спирта. По табл. 19 рассчитанному значению  $n^{20}$  наиболее

близко соответствует концентрация спирта 40 % ( $n = 1,3550$ ). Чтобы узнать концентрацию спирта, соответствующую разности  $1,3550 - 1,34482 = 0,00018$ , надо  $0,00018$  разделить на поправку показателя преломления на 1 % спирта ( $\Delta n_{\text{спирта}}$  для 40 % из табл. 19 равна  $4,0 \cdot 10^{-4}$ ). Поправка концентрации  $\Delta C = 0,00018/0,0004 = 0,45$  %. Таким образом, истинное содержание спирта получается:  $C_{\text{ист}} = 40 - 0,45 = 39,55$  %.

Регистрируют значение показателя преломления испытуемого водно-спиртового раствора и заполняют табл. 20.

Таблица 20

**Результаты анализа водно-спиртового раствора**

Величина	Пример	Испытуемый раствор
Температура, $t$ °C	23 °C	
Показатель преломления водно-спиртового раствора, $n^t$	1,3541	
Поправка $n$ на температуру ( $\Delta n^t \cdot \Delta t$ )	$0,00024 \cdot 3 = 0,00072$	
Показатель преломления при 20 °C, $n^{20}$	$1,3541 + 0,00072 = 1,35482$	
Ближайшее к $n^{20}$ значение $n$ , $n_{\text{табл}}^{20}$	1,3550	
Концентрация спирта, соответствующая $n_{\text{табл}}^{20}$ , $C_{\text{табл}}$ , %	40	
Поправка показателя преломления на 1 % спирта для $C_{\text{табл}}$ , $\Delta n_{\text{спирта}}$	0,0004	
Поправка концентрации $\Delta C$ , %	$(1,35482 - 1,3550) / 0,0004 = -0,45$	
Концентрация спирта с учетом поправки, $C = C_{\text{табл}} \pm \Delta C$ , %	$40 - 0,45 = 39,55$	
Истинное содержание спирта с учетом разведения, $C_{\text{ист}} = C \cdot K_{\text{развед}}$ , %	39,55 (без разведения)	

В **выводах** делают заключение о качестве лекарственного препарата.

## **Опыт 2. Анализ спиртовых растворов лекарственных средств**

**Объект анализа:** раствор кислоты борной концентрации 1–4 % (приготовленный на 70 % спирте).

**Реактивы:**

- вода деионизированная по ТУ-9452-001-46824383-00.

**Ход анализа**

### **1. Подготовка раствора к анализу и измерение показателя преломления**

В сухую колбочку вносят пипеткой 1 см<sup>3</sup> раствора борной кислоты и 2 см<sup>3</sup> деионизированной воды (разведение 1 : 2, обычно используемое для лекарственных средств, приготовленных на 70 % спирте), перемешивают и определяют показатель преломления  $n^t$  полученного раствора, нанеся на призму рефрактометра 5–6 капель раствора.

### **2. Вычисления**

Из полученного значения  $n^t$  вычитают поправку показателя преломления на содержание кислоты борной в разбавленном растворе ( $\Delta n_{\text{КБ}}$ , табл. 21) и, если необходимо, вносят поправку на температуру ( $\Delta n^t$ , табл. 19):

$$n^{20} = n^t - \Delta n_{\text{КБ}} \pm \Delta n^t.$$

*Таблица 21*

### **Поправки показателей преломления на содержание кислоты борной в разбавленном (1 : 2) водно-спиртовом растворе**

Концентрация кислоты борной, С % (м/о)	Поправка показателя преломления, $\Delta n_{\text{БК}}$
1	0,00014
2	0,00028
3	0,00042
4	0,00056

Полученное значение  $n^{20}$  — показатель преломления спирта в разбавленном растворе. Для вычисления содержания спирта ближайшее к этому значению  $n_{\text{табл}}^{20}$  соотносят по табл. 19 с концентрацией спирта ( $C_{\text{табл}}$ , %) и прибавляют (или вычитают) к нему (из него) поправку концентрации:

$$\Delta C = \frac{n^{20} - n_{\text{табл}}^{20}}{\Delta n_{\text{спирта}}}$$

Получается концентрация разбавленного водно-спиртового раствора. Для определения истинной крепости спирта в исходном растворе его умножают на коэффициент разведения ( $K_{\text{развед}} = 1,47$  вместо 2, так как при смешивании спирта с водой объем раствора несколько уменьшается). Заполняют табл. 22.

Таблица 22

**Результаты анализа спиртового раствора кислоты борной**

Величина	Значение величины
Температура, $t$ °C	
Измеренный показатель преломления спиртового раствора, $n^t$	
Поправка на содержание кислоты борной, $\Delta n_{\text{БК}}$	
Поправка на температуру, $(\Delta n^t \cdot \Delta t)$	
$n^{20}$ с учетом поправок на содержание кислоты борной и температуру	
Ближайшее к $n^{20}$ значение $n$ по таблице, $n_{\text{табл}}^{20}$	
Концентрация спирта, соответствующая $n_{\text{табл}}^{20}$ $C_{\text{табл}}$ , %	
Поправка концентрации $\Delta C$ , %	
Концентрация спирта с учетом поправки, $C = C_{\text{табл}} \pm \Delta C$ , %	
Истинное содержание спирта с учетом разведения, $C_{\text{ист}} = C \cdot K_{\text{развед}}$ , %	

В **выводах** делают заключение о качестве лекарственного препарата.

### **Опыт 3. Определение концентрации спирта в настойках**

Рефрактометрическое определение концентрации спирта в настойках заключается в удалении экстрактивных веществ настоек при помощи адсорбентов и последующем определении показателя преломления спиртового раствора.

**Объекты анализа:** настойка календулы, боярышника, эвкалипта или др. (по выбору преподавателя).

#### **Реактивы:**

- вода деионизированная по ТУ-9452-001-46824383-00;
- оксид алюминия активный по ГОСТ 8136-85;
- уголь активированный древесный БАУ-А по ГОСТ 6217-74.

#### **Ход анализа**

В колбочку вместимостью 20–25 см<sup>3</sup> отмеряют пипеткой 5 см<sup>3</sup> деионизированной воды и 2,5 см<sup>3</sup> настойки. Затем для адсорбции экстрактивных веществ прибавляют 0,5–1,0 г окиси алюминия, взбалтывают в течение 3–5 мин., сюда же вносят 0,5 г активированного угля и вновь взбалтывают 3–5 мин.

Жидкость фильтруют сквозь складчатый фильтр в мерную колбу вместимостью 25 см<sup>3</sup>. Фильтр с осадком промывают 3–5 раз небольшими порциями воды, сливая фильтрат в эту же колбу, доводят объем раствора до метки водой и тщательно перемешивают.

Определяют показатель преломления фильтрата, для чего на призму рефрактометра наносят 3–5 капель полученного раствора. Далее рассчитывают содержание спирта в растворе по алгоритму, описанному в опыте 1 данной лабораторной работы. В случае необходимости вносят температурную поправку, находят соответствующую концентрацию по табл. 19 и учитывают разведение.

Заполняют табл. 23.

## Результаты анализа спиртовой настойки

Величина	Значение величины
Температура, $t$ °С	
Измеренный показатель преломления спиртовой настойки, $n'$	
Поправка на температуру, $(\Delta n' \cdot \Delta t)$	
$n^{20}$ с учетом поправки на температуру	
Ближайшее к $n^{20}$ значение $n$ по таблице, $n_{\text{табл}}^{20}$	
Концентрация спирта, соответствующая $n_{\text{табл}}^{20}$ , $C_{\text{табл}}$ , %	
Поправка концентрации $\Delta C$ , %	
Концентрация спирта с учетом поправки, $C = C_{\text{табл}} \pm \Delta C$ , %	
Истинное содержание спирта с учетом разведения, $C_{\text{ист}} = C \cdot K_{\text{развед}}$ , %	

В **выводах** делают заключение о содержании спирта в настойке.





## **ПРИЛОЖЕНИЯ**



## Приложение 1

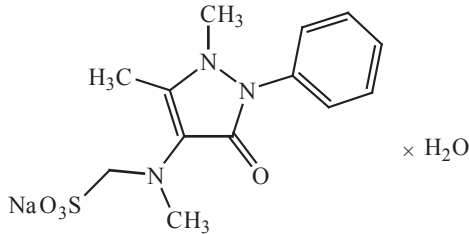
### Международные непатентованные названия (МНН) некоторых лекарственных веществ

№ п/п	Торговое название	МНН
1	Анальгин	Menamizone Sodium
2	Арбидол	Methylphenylthiomethyl-dimethylaminomethyl-hydroxy-bromindol carbonic acid ethyl ester
3	Аспирин (ацетилсалициловая кислота)	Acidum salicylicum
4	Адреналин	Adrenalini hydrochloridi
5	Аскорбиновая кислота	Ascorbic acid
6	Аммония хлорид	Ammonia chloride
7	Бромкамфора	Bromcamphor
8	Борная кислота	Boric acid
9	Бензокаин	Benzocaine
10	Глюкоза	Glucosum
11	Дибазола гидрохлорид	Bendazol hydrochloride
12	Дротаверина гидрохлорид	Drotaverine hydrochloride
13	Калия йодид	Potassium Iodide
14	Камфора	Camphor
15	Кодеина фосфат	Codeine phosphate
16	Левомецетин	Chloramphenicol
17	Магния сульфат	Magnesium sulfate
18	Ментол	Menthol
19	Натрия гидрокарбонат	Sodium hydrocarbonas
20	Натрия тиосульфат	Sodium thiosulfate
21	Натрия цитрат	Sodium citrate
22	Натрия хлорид	Sodium chloride
23	Новокаин	Novocainum
24	Папаверина гидрохлорид	Papaverine hydrochloride
25	Рибофлавин	Riboflavin
26	Уксусная кислота	Acetic acid
27	Уротропин	Hexamethylentetraminum
28	Фурацилин	Nitrofurul
29	Этиловый спирт	Ethanol
30	Эфедрина гидрохлорид	Ephedrine hydrochloride

**Выдержки из фармакопейных статей  
ГФ СССР X издания и ГФ РФ XII издания**

**Анальгин (ФС 42–0215-07)**

*Анальгин* — [(1,5-диметил-3-оксо-2-фенил-2,3-дигидро-1Н-пиразол-4-ил)(метил)амино]-метансульфонат натрия, моногидрат,  $C_{13}H_{16}N_3NaO_4S \cdot H_2O$ ,  $M = 351,36$  г/моль:



*Описание.* Белый или белый с едва заметным желтоватым оттенком кристаллический порошок без запаха.

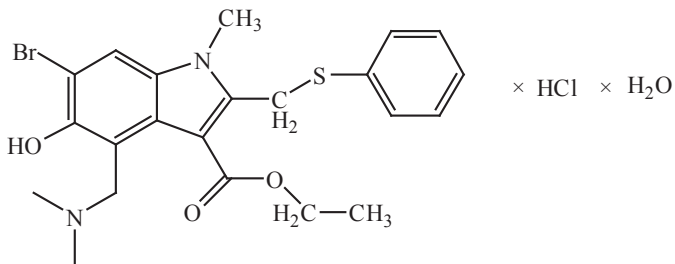
*Растворимость.* Легкорастворим в воде, умеренно растворим в спирте 96 %, практически нерастворим в хлороформе.

*Подлинность.* УФ-спектр поглощения 0,002 % раствора субстанции в 0,1 М растворе хлористоводородной кислоты в области от 245 до 280 нм должен иметь максимум при 258 нм.

*Цветность раствора.* 6,25 г субстанции помещают в мерную колбу вместимостью 25 см<sup>3</sup>, доводят объем раствора свежeproкипяченной и охлажденной водой до метки и перемешивают (испытуемый раствор). Не более чем через 10 мин. проводят испытание. Оптическая плотность испытуемого раствора, измеренная в кювете с толщиной слоя 1 см при длине волны 400 нм относительно воды, должна быть не более 0,1.

### Арбидол (ФС 42–0216–07)

*Арбидол* — этилового эфира 6-бром-5-гидрокси-1-метил-4-(диметиламинометил)-2-(фенилтиометил)индол-3-карбоновой кислоты гидрохлорид, моногидрат,  $C_{22}H_{25}BrN_2O_3S \cdot HCl \cdot H_2O$ ,  $M = 531,9$  г/моль:



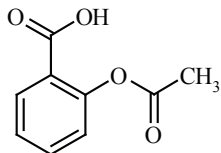
*Описание.* От белого до белого с зеленовато-желтоватым или кремовым оттенком кристаллический порошок.

*Растворимость.* Малорастворим в хлороформе и спирте 96 %, практически нерастворим в воде.

*Подлинность.* УФ-спектр поглощения 0,001 % раствора субстанции в смеси спирт 96 % — 0,1 М раствор хлористоводородной кислоты (9 : 1) в области от 210 до 400 нм должен иметь максимумы при 225 нм, 255 нм и 316 нм и минимумы при 244 нм и 284 нм.

### Ацетилсалициловая кислота (ФС 42–0220–07)

*Ацетилсалициловая кислота* — кислота 2-ацетокси-бензойная,  $C_9H_8O_4$ ,  $M = 180,15$  г/моль:



*Описание.* Бесцветные кристаллы или белый кристаллический порошок без запаха или со слабым запахом.

*Растворимость.* Легкорастворим в спирте 96 %, растворим в хлороформе, в растворах щелочей едких и углекислых, малорастворим в воде.

*Подлинность.* УФ-спектр поглощения 0,007 % раствора субстанции в хлороформе в области от 260 до 350 нм должен иметь максимум при 278 нм.

УФ-спектр поглощения 0,001 % раствора субстанции в 0,1 М растворе серной кислоты в области от 220 до 350 нм должен иметь максимумы при 228 нм и 276 нм и минимум при 257 нм.

*Салициловая кислота свободная.* Испытуемый раствор: около 0,3 г субстанции (точная навеска) помещают в мерную колбу вместимостью 25 см<sup>3</sup>, растворяют в 10 см<sup>3</sup> спирта 96 %, прибавляют 1 см<sup>3</sup> 0,2 % раствора квасцов железоммониевых, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают. Стандартный раствор: около 0,06 г (точная навеска) стандартного образца салициловой кислоты помещают в мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup>, растворяют в спирте 96 %, доводят объем раствора спиртом 96 % до метки и перемешивают. К 1 см<sup>3</sup> полученного раствора прибавляют 39 см<sup>3</sup> спирта 96 %, 4 см<sup>3</sup> 0,2 % раствора железоммониевых квасцов и количественно разбавляют водой до 100 см<sup>3</sup>.

Используют свежеприготовленные растворы.

Измеряют оптическую плотность испытуемого и стандартного растворов на спектрофотометре в максимуме поглощения при длине волны 520 нм в кювете с толщиной слоя 50 мм.

Содержание салициловой кислоты свободной в субстанции ( $C_{\text{сал.к.}}$ , %) вычисляют по формуле

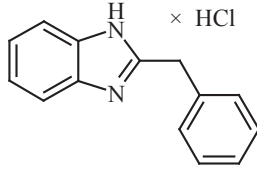
$$C_{\text{сал.к.}} = \frac{A_1 \cdot m_0 \cdot 0,25}{A_0 \cdot m_{\text{субст}}},$$

где  $A_1$  — оптическая плотность испытуемого раствора;  $A_0$  — оптическая плотность стандартного раствора;  $m_0$  — навеска стандартного образца салициловой кислоты, г;  $m_{\text{субст}}$  — навеска субстанции, г.

Содержание салициловой кислоты свободной должно быть не более 0,05 %.

### Дибазола гидрохлорид (ФС 212 ГФ X)

*Дибазола гидрохлорид* — 2-бензилбензимидазола гидрохлорид,  $C_{14}H_{20}N_2 \cdot HCl$ ,  $M = 244,73$  г/моль:

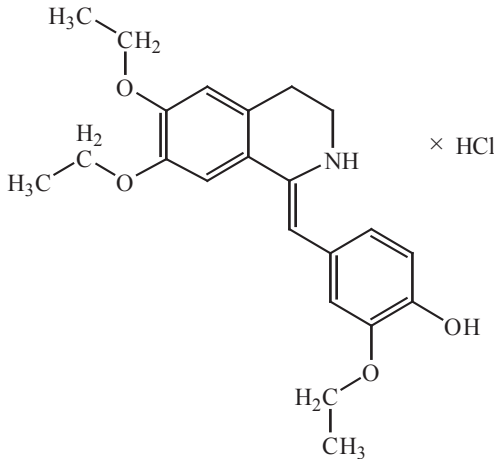


*Описание.* Белый или белый со слегка сероватым или желтоватым оттенком кристаллический порошок, горько-соленого вкуса. Гигроскопичен.

*Растворимость.* Труднорастворим в воде и хлороформе, легко растворим в спирте, малорастворим в ацетоне, практически нерастворим в эфире.

### Дротаверина гидрохлорид (ФС 42–0235–07)

*Дротаверина гидрохлорид* — 1-(3,4-диэтоксibenзил)-6,7-диэтокси-3,4-дигидроизохинолина гидрохлорид,  $C_{24}H_{31}NO_4$ ,  $M = 434,0$  г/моль:





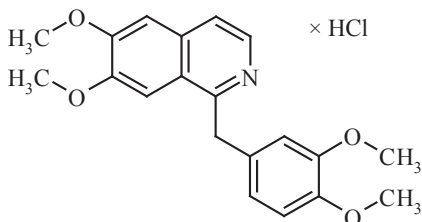
*Описание.* От светло-желтого до зеленовато-желтого цвета кристаллический порошок почти без запаха.

*Растворимость.* Легкорастворим в хлороформе, растворим в спирте 96 %, умеренно растворим в воде.

*Подлинность.* Спектр поглощения 0,0015 % раствора субстанции в 0,1 М растворе хлористоводородной кислоты в области от 210 до 440 нм должен иметь максимумы при 241 нм, 302 нм и 353 нм и минимумы при 223 нм, 262 нм и 322 нм.

### **Папаверина гидрохлорид (ФС 42–0267–07)**

*Папаверина гидрохлорид* — 6,7-диметокси-1-(3,4-диметоксибензил)изохинолина гидрохлорид,  $C_{20}H_{21}NO_4 \cdot HCl$ ,  $M = 375,84$ :



*Описание.* Белые или почти белые кристаллы или белый или почти белый кристаллический порошок без запаха.

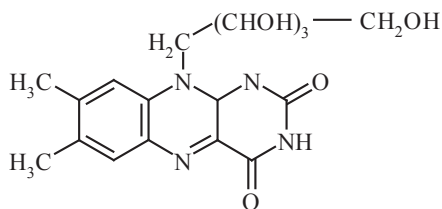
*Растворимость.* Растворим в хлороформе, умеренно растворим в воде, малорастворим в спирте 96 %.

*Подлинность.* УФ-спектр поглощения 0,0005 % раствора субстанции в 0,01 М растворе хлористоводородной кислоты в области от 230 до 270 нм должен иметь максимум при 251 нм.

УФ-спектр поглощения 0,0025 % раствора субстанции в 0,01 М растворе хлористоводородной кислоты в области от 270 до 350 нм должен иметь максимумы при 285 нм и 309 нм.

### **Рибофлавин (ФС 585 ГФ X)**

*Рибофлавин* — 6,7-диметил-9-(D-1-рибитил)-изоаллоксазин,  $C_{17}H_{20}N_4O_6$ ,  $M = 376,37$  г/моль:

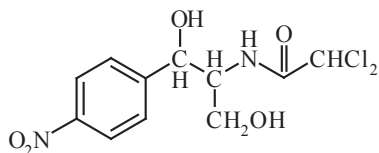


*Описание.* Желто-оранжевый кристаллический порошок со слабым специфическим запахом, горького вкуса. На свету неустойчив.

*Растворимость.* Малорастворим в воде, практически нерастворим в 95 % спирте, эфире, ацетоне, бензоле и хлороформе, растворим в растворах щелочей.

### Левомицетин (ФС 42-0250-07)

*Левомицетин* — D-(-)-трео-1-*n*-нитрофенил-2-дихлорацетил-аминопропандиол-1,3;  $C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$ ,  $M = 323,13$  г/моль:



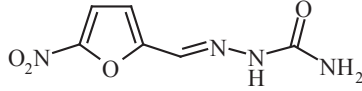
*Описание.* Белый или белый со слабым желтовато-зеленоватым оттенком кристаллический порошок без запаха, горького вкуса.

*Растворимость.* Малорастворим в воде, легко растворим в 95 % спирте, растворим в этилацетате, практически нерастворим в хлороформе.

*Подлинность.* Спектр поглощения 0,002 % раствора субстанции в 0,1 М растворе хлористоводородной кислоты в области от 220 до 400 нм должен иметь максимум при 278 нм и минимум при 237 нм.

### Фурацилин (ФС 295 ГФ X)

Фурацилин — 5-нитрофурфурола семикарбазон,  $C_6H_6N_4O_4$ ,  
 $M = 198,1$  г/моль:



*Описание.* Желтый или зеленовато-желтый мелкокристаллический порошок без запаха, горького вкуса.

*Растворимость.* Малорастворим в воде, малорастворим в 95 % спирте, практически нерастворим в эфире, растворим в щелочах.

### Магния сульфат (ФС 42-0253-07)

Магния сульфат, гептагидрат —  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ,  
 $M = 246,48$  г/моль.

*Описание.* Белый кристаллический порошок или бесцветные призматические кристаллы.

*Растворимость.* Легкорастворим в воде, очень легко растворим в кипящей воде, практически нерастворим в спирте 96 %.

### Натрия хлорид (ФС 42-2572-95)

Натрия хлорид —  $NaCl$ ,  $M = 58,44$  г/моль.

*Описание.* Белые кубические кристаллы или белый кристаллический порошок без запаха, соленого вкуса.

*Растворимость.* Растворим в 3 частях воды, малорастворим в спирте.

### Натрия гидрокарбонат (ФС 430 ГФ X)

Натрия гидрокарбонат — кислая натриевая соль угольной кислоты  $NaHCO_3$ ,  $M = 84,007$  г/моль.

*Описание.* Мелкокристаллический порошок белого цвета.

*Растворимость.* Хорошо растворим в воде.

### Глюкоза безводная (ФС 42-0004-00)

Глюкоза —  $C_6H_{12}O_6 \cdot H_2O$ ,  $M = 198,17$  г/моль.

*Описание.* Белый мелкокристаллический порошок без запаха, сладкого вкуса.

*Растворимость.* Легкорастворим в воде, малорастворим в 95 % спирте, практически нерастворим в эфире (ГФ XI, вып.1).

*Поляриметрическое определение.* Объем исследуемого раствора, эквивалентный 2,5 г глюкозы (50 см<sup>3</sup> — 5 %, 25 см<sup>3</sup> — 10 %, 10 см<sup>3</sup> — 25 %, 6,25 см<sup>3</sup> — 40 % растворов), помещают в мерную колбу вместимостью 100 см<sup>3</sup>, прибавляют 0,2 см<sup>3</sup> раствора гидроксида аммония, доводят водой до метки, перемешивают и оставляют на 40 мин. Измеряют угол вращения полученного раствора на поляриметре. Содержание глюкозы в 1 см<sup>3</sup> ( $m_{гг}$ , г) рассчитывают по формуле

$$m_{гг} = \frac{\alpha \cdot 100}{52,8 \cdot V \cdot \ell},$$

где  $\alpha$  — угол вращения испытуемого раствора, °;  $V$  — объем исследуемого раствора, взятый для определения, мл;  $\ell$  — толщина слоя, дм; 52,8 — удельное вращение глюкозы, °.

*Рефрактометрическое определение.* На призму рефрактометра наносят несколько капель воды и по шкале находят показатель преломления ( $n_0$ ). Осторожно вытирают призму досуха, наносят на нее несколько капель испытуемого раствора и находят его показатель преломления ( $n$ ).

Содержание глюкозы в 1 см<sup>3</sup> в граммах ( $m_{гг}$ , г) рассчитывают по формуле

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

где 0,00142 — фактор показателя преломления безводной глюкозы.

## Приложение 3

**Выдержки из Норм отклонений,  
допустимых при изготовлении лекарственных форм  
(в том числе гомеопатических) в аптеках**  
(утв. приказом Минздрава РФ от 16 октября 1997 г. № 305)

2.1. Отклонения, допустимые в массе навески отдельных лекарственных веществ в порошках, пилюлях и суппозиториях:

Прописанная масса, г	Отклонения, %
До 0,02	±20
Свыше 0,02 до 0,05	±15
Свыше 0,05 до 0,2	±10
Свыше 0,2 до 0,3	±8
Свыше 0,3 до 0,5	±6
Свыше 0,5 до 1	±5
Свыше 1 до 2	±4
Свыше 2 до 5	±3
Свыше 5 до 10	±2
Свыше 10	±1

2.2. Отклонения, допустимые в массе навески отдельных лекарственных веществ в жидких лекарственных формах при изготовлении массо-объемным способом:

Прописанная масса, г	Отклонения, %
До 0,02	$\pm 20$
Свыше 0,02 до 0,1	$\pm 15$
Свыше 0,1 до 0,2	$\pm 10$
Свыше 0,2 до 0,5	$\pm 8$
Свыше 0,5 до 0,8	$\pm 7$
Свыше 0,8 до 1	$\pm 6$
Свыше 1 до 2	$\pm 5$
Свыше 2 до 5	$\pm 4$
Свыше 5	$\pm 3$
Свыше 1 до 2	$\pm 6$
Свыше 2 до 10	$\pm 5$
Свыше 10	$\pm 3$

### 2.3. Отклонения, допустимые в концентратах:

- при содержании лекарственного вещества до 20 % — не более  $\pm 2$  % от обозначенного процента;
- при содержании лекарственного вещества свыше 20 % — не более  $\pm 1$  % от обозначенного процента.

### **Оформление отчетов**

В отчетах по лабораторным работам должно быть отражено:

1. Название работы (титульный лист).
2. Принцип и сущность метода определения.
3. Краткий алгоритм подготовки пробы к анализу.
4. Схема установки или прибора.
5. Таблица экспериментальных данных.
6. Градуировочные графики, построенные по экспериментальным данным.
7. Результаты вычислений и обработки данных.
8. Выводы по работе.

### **Требования к технике безопасности**

При выполнении анализов необходимо соблюдать требования техники безопасности согласно следующим ГОСТам:

- при работе с химическими реактивами по ГОСТ 12.1.007–76;
- электробезопасность при работе с электроустановками по ГОСТ 12.1.019–79;
- организация обучения работающих по технике безопасности труда — по ГОСТ 12.0.004–90;
- помещение лаборатории должно соответствовать требованиям пожарной безопасности по ГОСТ 12.1.004–91 и иметь средства пожаротушения по ГОСТ 12.4.009–83.

## Список рекомендуемой литературы

- Государственная фармакопея Российской Федерации. 12-е изд. М. : Изд-во «Научный центр экспертизы средств медицинского применения», 2008.
- Государственная фармакопея СССР. 10-е изд. М. : Медицина, 1968.
- О государственных стандартах качества лекарственных средств : приказ Минздрава РФ от 01.11.2001 г. № 388 // [www.консультант.ру](http://www.консультант.ру)
- Об обращении лекарственных средств : Федеральный закон Российской Федерации от 12.04.2010 г. № 61 // [www.консультант.ру](http://www.консультант.ру)
- О нормах отклонений, допустимых при изготовлении лекарственных средств и фасовке промышленной продукции в аптеках : приказ Минздрава РФ от 16.10.1997 г. № 305 // [www.консультант.ру](http://www.консультант.ру)
- Беликов В. Г.* Фармацевтическая химия : в 2 ч. 3-е изд. М. : «МЕДпресс-информ», 2009.
- Основы аналитической химии : в 2 кн. Кн. 2: Методы химического анализа / под ред. Ю. А. Золотова. 2-е изд. М. : Высш. шк., 2010.
- Руководство к лабораторным занятиям по фармацевтической химии / сост. Э. Н. Аксенова, О. П. Андрианова, А. П. Арзамасцев и др. М. : Медицина, 2000.
- Вилков Л. В.* Физические методы исследования в химии / Л. В. Вилков, Ю. Л. Пентин. М. : Мир, 2003.



Учебное издание

Глазырина Юлия Александровна  
Сараева Светлана Юрьевна  
Козицина Алиса Николаевна  
Герасимова Елена Леонидовна  
Матерн Анатолий Иванович

## ОПТИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ В ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОМ АНАЛИЗЕ

Лабораторный практикум

Зав. редакцией *М. А. Овечкина*  
Редактор *В. И. Попова*  
Корректор *В. И. Попова*  
Компьютерная верстка *Н. Ю. Михайлов*

План выпуска 2015 г. Подписано в печать 25.06.2015.  
Формат 60 × 84 <sup>1</sup>/<sub>16</sub>. Бумага офсетная. Гарнитура Times.  
Уч.-изд. л. 5,0. Усл. печ. л. 5,58. Тираж 60 экз. Заказ № 215.

Издательство Уральского университета  
620000, Екатеринбург, ул. Тургенева, 4

Отпечатано в Издательско-полиграфическом центре УрФУ.  
620000, Екатеринбург, ул. Тургенева, 4.  
Тел.: +7 (343) 350-56-64, 350-90-13.  
Факс: +7 (343) 358-93-06.  
E-mail: [press-urfu@mail.ru](mailto:press-urfu@mail.ru)

