**Лабораторно-практическое занятие №6.**

**Тема:** **Методы анализа однокомпонентных лекарственных форм.**

**Методы анализа многокомпонентных лекарственных форм. Проводить экспресс-анализ скоропортящихся и нестойких препаратов. Раствор йода спиртовой 5%**

**Цель работы:-**изучить теоретических основ и представлений о качестве лекарственных форм, использовать нормативные требования к качеству лекарственных форм при анализе.

**Материалы и оборудование**:

Реактивы:- раствор аммиака 10%, раствор йода спиртовой 5%, Конц. Соляная кислота 25%, серная кислота, метиоранж, крахмал, тиосульфат натрия, нитрат серебра.

**Теоретическое обоснование работы**

**Фармакопейный анализ однокомпонентных лекарственных форм.**

Основные этапы выполнения анализа. Систематизация сведений об испытаниях подлинности, чистоте и количественном определении однокомпонентных лекарственных форм позволяет сделать вывод об общих принципах оценки их качества.

Испытания на подлинность выполняют, как правило, с помощью химических реакций, указанных в ФС на индивидуальные вещества, входящие в состав данной лекарственной формы. Некоторые лекарственные вещества предварительно извлекают из лекарственной формы органическими растворителями.

Вещества в растворах для инъекций испытывают на подлинность так же, как индивидуальные лекарственные вещества. Таблетки и драже перед испытанием на подлинность растирают в порошок, взбалтывают с водой или другим растворителем и фильтруют. Затем с фильтратом проводят испытания, используя реакции, рекомендуемые ГФ для данного лекарственного вещества. При плохой растворимости процесс экстракции выполняют при нагревании до определенной температуры. Иногда реактив добавляют к порошку с остатком тертых таблеток или извлекают препарат и проводят испытание с остатком (после удаления органического экстрагента). Из мазей вещество предварительно экстрагируют эфиром или другим растворителем. Масляные растворы предварительно растворяют в бензоле, петролейном эфире, хлороформе или активное вещество извлекают смесью растворителей. Подлинность извлеченного вещества подтверждают либо по температуре плавления (самого препарата или его производного), либо цветными или осадочными реакциями, либо с помощью тонкослойной хроматографии.

**Количественный анализ однокомпонентных лекарственных форм** выполняют в несколько этапов: отбор пробы и взятие навески, подготовка лекарственной формы к анализу, извлечение лекарственного вещества из лекарственной формы, создание условий, необходимых для анализа, выполнение необходимых измерений, обработка результатов измерений. Все они в той или иной степени регламентированы соответствующей НТД.

Отбор пробы и взятие навески твердых или жидких лекарственных форм проводят по общим правилам отбора проб. Таблетки (необходимое количество) и драже растираются, а затем из них берут навеску.

Подготовка лекарственной формы к анализу осуществляется растворением (иногда с нагреванием) навески, после чего отбирается аликвотная часть для проведения измерения. Растворитель выбирают с учетом растворимости лекарственного вещества и других компонентов лекарственной формы, а также используемого метода определения. Например, димедрол в таблетках количественно определяют методом нейтрализации в неводной среде, поэтому в качестве растворителя берут безводную уксусную кислоту. Для растворения жидких лекарственных форм чаще применяют воду, а масляных растворов -- этиловый или метиловый спирт, бензол, петролейный эфир.

Извлечение лекарственного вещества из лекарственной формы бывает неизбежным, когда в лекарственной форме присутствуют ингредиенты, мешающие количественному определению лекарственного вещества, поэтому либо выделяют лекарственное вещество, либо отделяют мешающие компоненты, используя различные способы: фильтрование, центрифугирование, экстракцию, бу- мажную хроматографию, ТСХ и др.

Создание условий, необходимых для проведения анализа, диктуется методом, с помощью которого проводят исследования данной лекарственной формы. Например, для комплексономет-рии создают необходимый показатель рН среды, для метода нейтрализации в неводных средах добавляют ацетат ртути (II) и т. д.

Выполнение измерений проводят гравиметрическим, титриметрическим, физико-химическим и биологическим методами. Все они были рассмотрены ранее. Однако из-за того что на исследуемое вещество влияет ряд факторов (наполнители, стабилизаторы и др.), нередко используют не тот метод, который изложен в НТД для той же субстанции индивидуального вещества, а применяют различные модификации, либо дополнительные методы, которые обычно изложены и частных статьях, а также в ТФ XI, вып. 2.

Обработка результатов измерений, т.е. расчет концентрации лекарственного вещества в лекарственной форме имеет свои особенности. В ФС указаны нижний и верхний пределы содержания лекарственного вещества в граммах на определенное количество лекарственной формы. Для растворов приведены пределы содержания в 1 мл; для таблеток в пересчете на содержание в 1 таблетке, покрытой оболочкой; для мазей и присыпок даны пределы содержания лекарственного вещества в процентах.

Для расчета используют специальные формулы, разработанные или модифицированные для применяемых методов и изложенные в НТД.

**Анализ многокомпонентных лекарственных форм.**

Качественный анализ лекарственных форм, содержащих различные лекарственные вещества, как уже указывалось ранее, затруднен из-за того, что один ингредиент может мешать обнаружению другого или реактив одновременно реагирует с несколькими компонентами. Поэтому в отличие от анализа однокомпонентных лекарственных форм возможны следующие варианты:

1) ала идентификации подобраны специфические реакции (на ионы или функциональные группы), при выполнении которых обнаружению одного компонента не мешают другие;

2) используют реактив, который последовательно реагирует сначала с одним, а затем с другим компонентом. Например, раствор формальдегида в концентрированной серной кислоте вначале образует сине-фиолетовое (кодеин), а затем красное окрашивание (кислота ацетилсалициловая);

3) реактив взаимодействует с обоими компонентами, но продукты взаимодействия можно легко разделить. Например, анализ смеси натрия бензоата и натрия салицилата при воздействии раствором сульфата меди в присутствии хлороформа: хлороформный слой приобретает голубое окрашивание (бензоат-ион), водный -- зеленое (салици-лат-ион);

4) один из компонентов смеси в присутствии реактива дает цветную реакцию на другой компонент. Так можно обнаружить первичные ароматические амины, если в смеси присутствует резорцин (отпадает необходимость в добавлении р-нафтола);

5) при добавлении реактивов для обнаружения одного компонента последовательно открывают остальные. Например, обнаружение анестезина в смеси с натрия гидрокарбонатом и анальгином реакцией образования азокрасителя. После добавления соляной кислоты выделяются пузырьки газа (гидрокарбонат-ион), при последующем добавлении раствора нитрита натрия появляется быстроисчезающее сине-фиолетовое окрашивание (анальгин) и, наконец, от добавления щелочного раствора р-нафтола смесь приобретает красный свет (анестезин);

обнаружить один компонент в присутствии других невозможно без предварительного их разделения. Для разделения используют различные растворители и затем в экстрактах идентифицируют каждый из компонентов;

использование различных видов хроматографии (ВЭЖХ, ГЖХ, ТСХ) для разделения и последующей идентификации компонентов;

при анализе жидких лекарственных форм присутствие в них галеновых препаратов (настоек, экстрактов), а также настоев и отваров нередко мешает определению других ингредиентов. В данном случае также проводят экстракцию или разделение компонентов, втом числе с помощью хроматографии;

в некоторых случаях, например, в присутствии настоя и настойки валерианы или пустырника, содержащиеся в них малые количества алкалоидов, тритерпеновых и других соединений не мешают идентификации других компонентов.

Количественный анализ лекарственных форм. Этот анализ лекарственных веществ в многокомпонентных смесях может быть выполнен без разделения компонентов смеси или после предварительного разделения.

Количественный анализ без разделения компонентов смеси можно выполнить при использовании титриметрических методов, основанных на различии свойств веществ, содержащихся в смеси (кислотно-основных свойств, констант комплексообразования, произведений растворимости и др.). Чаще применяют методы, основанные на одновременном титровании суммы двух компонентов. Затем количественно определяют содержание одного из этих компонентов, используя методы, основанные на свойствах, присущих только данному веществу. Расчет проводят по разности между количеством миллилитров титрантов (одинаковой молярности), затраченных на первое и второе титрование. Например, смеси хлоридов (натрия, калия, кальция) или бромидов (натрия, калия) определяют аргенто-метрически (индикатор хромат калия или бромфеноловый синий) по сумме их содержания. В этих же целях для других химических веществ используют методы нитритометрии, броматометрии или другие.

Комплексонометрию применяют тогда, когда один из компонентов смеси представляет собой соль кальция, магния, цинка, ртути или других тяжелых металлов. При этом используют различные приемы и индикаторы.

Кислотно-основное титрование смесей основано на различии констант диссоциации компонентов. Поэтому данный метод используют при наличии в смеси не только одного, но и нескольких компонентов с кислотно-основными свойствами. При этом можно варьировать индикаторами в следующих случаях:

если смесь содержит два компонента, значительно различающихся по основности, то используют два различных индикатора и последовательно титруют вначале один, а затем второй ингредиент.Так титруют вначале кодеин кислотой с индикатором (метиловым красным), а затем амидопирин (индикаторная смесь метилового оранжевого и метиленового синего);

если один из компонентов представляет кислоту, а второй -- соль или другое основание, то в одной навеске вначале титруют кислоту, а затем сумму образовавшейся соли или основания. Расчет выполняют по разности количеств затраченных титрованных кислоты и щелочи (например, смесь ацетилсалициловой кислоты с амидопирином);

при анализе смеси веществ, одно из которых не растворимо или мало растворимо в воде, используют несмешивающиеся или смешивающиеся растворители (воду и спирт) и соответствующие индикаторы;

при количественном определении двухкомпонентных смесей используют метод неводного титрования, применяя два способа. При одном из них титруют каждый из компонентов в том растворителе, в котором проявляются только его кислотные или основные свойства(так можно определять смеси кислоты и основания, кислоты и соли, основания и соли). Второй способ основан на дифференцированном титровании в одном растворителе обоих веществ, имеющих разные константы ионизации (смеси оснований с солями и смесь оснований);

последовательное титрование навески вначале в водной, а затем в неводной среде применяют, когда в состав бинарной лекарственной формы входят слабые основания (пуриновые алкалоиды) и алкалоиды с более сильными основными свойствами.

Количественный анализ смесей после разделения компонентов чаще используют для многокомпонентных препаратов, проводя разделение с помощью экстракции. При этом многие лекарственные вещества по различию растворимости можно распределить на группы.

Неорганические вещества, как правило, не растворимы в органических растворителях, оксиды металлов не растворимы в воде, но растворимы в кислотах, соли большинства неорганических кислот и щелочных и щелочноземельных металлов, а также тяжелых металлов (за исключением сульфата кальция и бария) хорошо растворимы в воде и т. д. Все эти сведения по растворимости тех или иных соединений имеются в НТД и справочной литературе, например во многих справочниках лекарственных препаратов.

Используя различия в растворимости лекарственных веществ, можно разделить компоненты следующими методами:

1) при наличии в смеси веществ, хорошо растворимых и не растворимых в воде, разделение проводят растворением смеси в воде с последующей фильтрацией. На фильтре остаются нерастворимые вещества. Так отделяют от других компонентов растворимые в воде неорганические соли, соли органических кислот, соли азотсодержащих органических оснований; 2) вещества, растворимые в органических растворителях, не смешивающихся с водой (хлороформ, эфир), отделяют путем экстракции хлороформом или эфиром; 3) вещества, растворимые в органических растворителях, можно отделять от некоторых алифатических кислот и производных фенолов. Последние предварительным действием щелочей необходимо превратить в водорастворимые феноксиды (феноляты). Затем вещества, нерастворимые в воде, отделяют органическими растворителями, в которых они растворяются;

4) для отделения веществ, растворимых в хлороформе или эфире, от органических оснований последние предварительно нейтрализуют кислотами. Полученные соли оснований остаются в водном растворе;

5) соли органических оснований можно предварительно превратить в основания путем нейтрализации связанных кислот щелочами.Образующиеся органические основания затем экстрагируют хлороформом или эфиром.

Полученные вышеизложенными или другими методами компоненты определяют тем или иным титриметрическим методом. При разделении смесей, содержащих три компонента и более, нередко получаются двухкомпонентные экстракты веществ с одинаковой растворимостью. Их анализируют методами осаждения или кислотно-основного титрования, последовательно определяя каждый из компонентов.

В частных статьях изложены и другие методы модификации для разделения и количественного определения лекарственных веществ многокомпонентных смесей с различными нюансами выполнения исследований.

Расчет содержания компонентов в лекарственных формах, определяемых различными методами титриметрического анализа (прямое, обратное, заместительное, реверсивное титрования), производят определенными приемами для данного способа титрования.

Когда определение одного компонента в присутствии других доступными методами невозможно, используют различные приемы анализа и варианты расчетов. Наиболее часто в анализе многокомпонентных лекарственных форм применяют варианты определений по разности. Если один ингредиент титруют в сумме с другим, содержание которого определено иным методом, количество анализированного компонента рассчитывают по определенной формуле. Таких формул предложено несколько для каждого конкретного случая и различных нюансов, возникающих при количественном определении многокомпонентных смесей.

Физико-химические методы анализа многокомпонентных лекарственных форм. Эти методы позволяют анализировать двух- и даже трех-компонентные смеси без предварительного разделения с достаточной точностью. В этих целях практически используют те же методы с определенными модификациями, что и для анализа индивидуальных лекарственных веществ.

Количественный анализ смесей без предварительного разделения компонентов выполняют полярографией, спектрофо-тометрией и другими физико-химическими методами. Наиболее широко используют различные варианты спектрофотометрического метода.

Количественный анализ смесей после предварительного разделения компонентов, как правило, используют для многокомпонентных смесей. Растворение смеси основано на различии их растворимости и осуществляется теми же способами, что и при титриметрических методах. Для экстракции используют эфир, хлороформ, растворы кислот, щелочей и др.

Метод экстракционной фотометрии позволяет выделить вещества из смеси с последующим количественным определением, например препаратов алкалоидов. При этом возможно сочетание физико-химических методов с химическими.

Ионообменную хроматографию используют для разделения органических и неорганических смесей. После разделения на ионообменных колонках количественно определяют индивидуальные вещества титриметрическим или физико-химическими методами.

Тонкослойную хроматографию (ТСХ) особенно широко применяют при анализе лекарственных форм, содержащих практически все группы лекарственных веществ. Разделение с помощью ТСХ сочетают с количественным определением непосредственно на хромато-граммах или после элюирования веществ, используя для этих целей различные методы:

лекарственную форму хроматографируют, проявляют хроматограмму и проводят сравнительную оценку площади пятен анализируемого вещества и стандартного образца (так определяют пуриновые и опийные алкалоиды, токоферолы и др.);

сочетание разделения с помощью ТСХ и спектрофотометрического определения непосредственно на хроматограммах применяют для анализа смесей алкалоидов, сульфаниламидов, стероидных гормонов. Однако точность метода сравнительно мала;

измеряют интенсивность окраски пятна на хроматограмме, пользуясь денситометрическим методом, а также методами, основанными на измерении интенсивности отражения или флуоресценции.Способ применим для анализа витаминов, гликозидов;

элюируют лекарственные вещества из соответствующих зон тонкослойной хроматографии стандартного образца и лекарственной формы. Затем в каждом из элюатов устанавливают концентрацию веществ, используя для этого титриметрические оптические методы, полярографию и др.; объемными методами определяют в элюатах, например барбитураты. Но чаще анализ веществ в элюатах проводят методами УФ-спектрофотометрии или фотоколориметрии.

Разделения смесей достигают также с помощью капиллярного зонного электрофореза с флуориметрическим или электрохимическим детектором.

В последнее время для количественного анализа лекарственных форм, как и вообще для фармацевтического анализа, широко используют газожидкостную и жидкостную хроматографии, которые имеют ряд преимуществ перед ТСХ по более широкой анализацион-ной возможности, в том числе и для определения трехкомпонентных" смесей лекарственных веществ.

Сочетание химических и физико-химических методов нередко используют для анализа многокомпонентных смесей. Чаще применяют сочетание титриметрических методов с фотометрическими. Так, кислоту ацетилсалициловую в смеси с фенацетином и кофеин-бензоатом натрия титруют гидроксидом натрия. Кофеин-бен-зоат натрия определяют косвенным комплексонометрическим методом, а фенацетин -- колориметрическим по реакции с нитритом натрия и тимолом. При анализе смеси эфедрина, папаверина и натрия бензоата используют фотометрический метод для определения эфедрина, остальные компоненты титруют в неводной среде.

Перспективно комбинированное использование нескольких фотометрических методов для анализа многокомпонентных смесей, например сочетание производной и дифференциальной спектрофото-метрии, а также ряда других методов.

**Порядок выполнения лабораторной работы:**

**Проводить экспресс-анализ скоропортящихся и нестойких препаратов. Раствор йода спиртовой 5%**

**Испытание на подлинность:**

*Раствор йода спиртовой 5%.* К 2 каплям препарата прибавляют 10мл воды и 5-6 капель раствора крахмала – появляется синее окрашивание.

**Количественное определение:**

*Раствор йода спиртовой 5%.*1мл препарата помещают в колбу с притертой пробкой и титруют 0,1н раствором тиосульфата натрия до обесцвечивания. 1мл 0,1н раствора тиосульфата натрия соответствует 0,01269г йода, которого в препарате должно быть 4,9-5,2%.

К полученному раствору прибавляют 5-6мл воды, 1мл разведенной уксусной кислоты, 2-3 капли раствора эозината натрия и титруют 0,1н нитратом серебра до ярко-розового окрашивания осадка. Разность между количеством миллилитров тиосульфата натрия рассчитывают на йодид калия. 1мл 0,1н нитрата серебра соответствует 0,01660г калия йодида, которого в препарате должно быть 1,9-2,1%.

**Контрольные вопросы для самоподготовки:**

1.Укажите способы анализа однокомпонентных ЛС.

2.Перечислите какие методы используются для определения подлинности однокомпонентных ЛС

3. Какие способы существует анализа многокомпонентных ЛС.

4.Качественный анализ для определения подлинности многокомпонентных ЛС.

5. Количественное определение однокомпонентных ЛС.

6. Количественное определение многокомпонентных ЛС.

**Домашняя задания:**

Тема 1: Использование метода осадительного титрования

Тема2: Анализ жидких лекарственных средств физиологического раствора 0,9 %

**СРС:**Анализ жидких лекарственных веществ