

МЕТОДЫ КОЛИЧЕСТВЕННОГО АНАЛИЗА, ПРИМЕНЯЕМЫЕ В ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ ХИМИИ

*Лекция для студентов 3 курса
фармацевтического факультета*

КЛАССИФИКАЦИЯ

I. ХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА

1. Гравиметрический (весовой) метод

2. Газометрический метод

3. Титриметрические методы

- Осадительное титрование (аргентометрия, тиоцианатометрия, меркурометрия)

- Кислотно-основное титрование (метод нейтрализации)

- ✓ Титрование в водной среде (алкалиметрия, ацидиметрия)

- ✓ Титрование в среде неводных растворителей (неводное титрование)

- Окислительно-восстановительное титрование (йодометрия, йодхлорометрия, йодатометрия, броматометрия, цериметрия, перманганатометрия,)

- Комплексонометрия

- Нитритометрия

4. Элементный анализ

- Определение азота в органических соединениях (метод Кьельдаля)

- Метод сжигания в колбе с кислородом



II. ФИЗИЧЕСКИЕ И ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА

1. Оптические методы (рефрактометрия, поляриметрия)
2. Методы, основанные на поглощении электромагнитного излучения (спектрофотометрия, фотоколориметрия, атомно-абсорбционная спектрометрия)
3. Методы основанные на испускании излучения (атомно-эмиссионная спектрометрия, флуориметрия)
4. Методы, основанные на использовании магнитного поля (спектроскопия ядерного магнитного резонанса, масс-спектроскопия)
5. Электрохимические методы (потенциометрия, полярография)
6. Методы разделения (хроматография, электрофорез)

III. БИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ

(например, оценка активности лекарственного растительного сырья и лекарственных препаратов, содержащих сердечные гликозиды)



ХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ КОЛИЧЕСТВЕННОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ

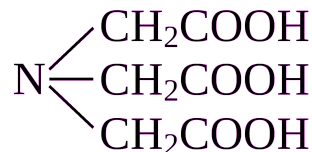


КОМПЛЕКСОНОМЕТРИЯ

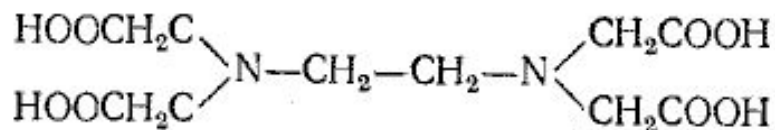
Комплексонометрический метод основан на реакции образования прочных комплексов полиаминокарбоновых кислот (комплексоны) с ионами металлов.

Комплексоны:

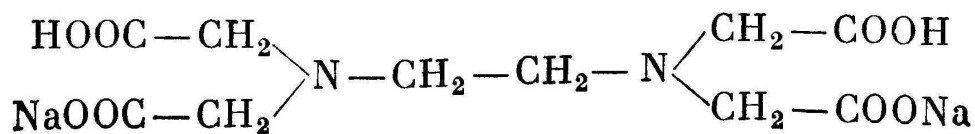
Трехосновная нитрилотриуксусная кислота (НТА) или H_3Y , где Y^{3+} анион (комплексон I)



Этилендиаминтетрауксусная кислота (ЭДТУ) или ЭДТУК (комплексон II, трилон А)

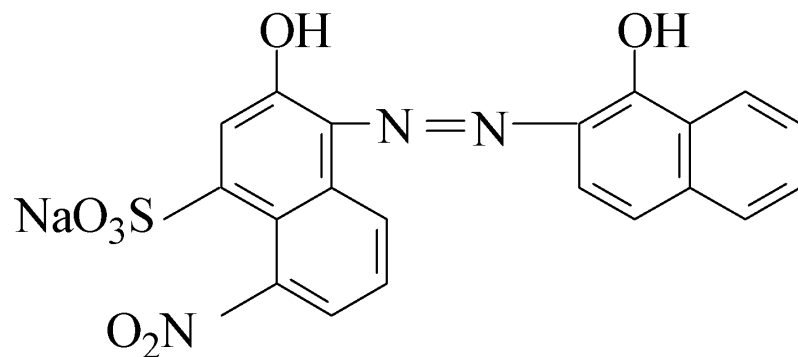


Динатриевая соль этилендиаминтетрауксусной кислоты Na_2H_2Y – ЭДТА (комплексон III, трилон Б)

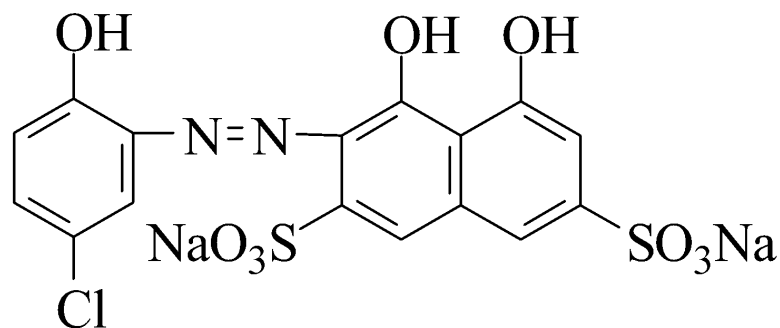


Диаминциклогексантауксусная кислота (ДЦТУ) - комплексон IV

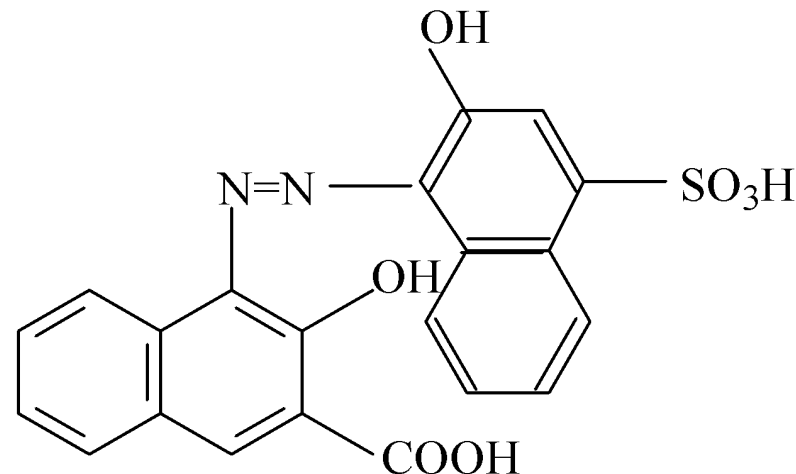
МЕТАЛЛОИНДИКАТОРЫ



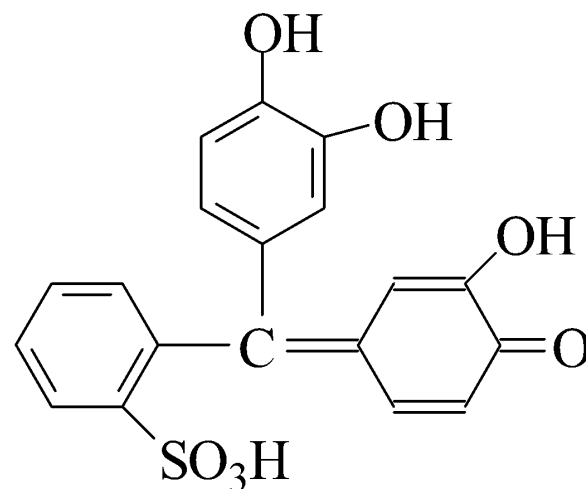
Эрихром черный Т
(окраска свободного индикатора синяя
pH=9,5-10)



Кислотный хром темно-синий
(окраска свободного индикатора
сине-фиолетовая pH=9,5-10)



Кальконкарбоновая кислота
(окраска свободного
индикатора синяя pH=12-14)



Пирокатехиновый фиолетовый
(окраска свободного
индикатора желтая pH=2-3)

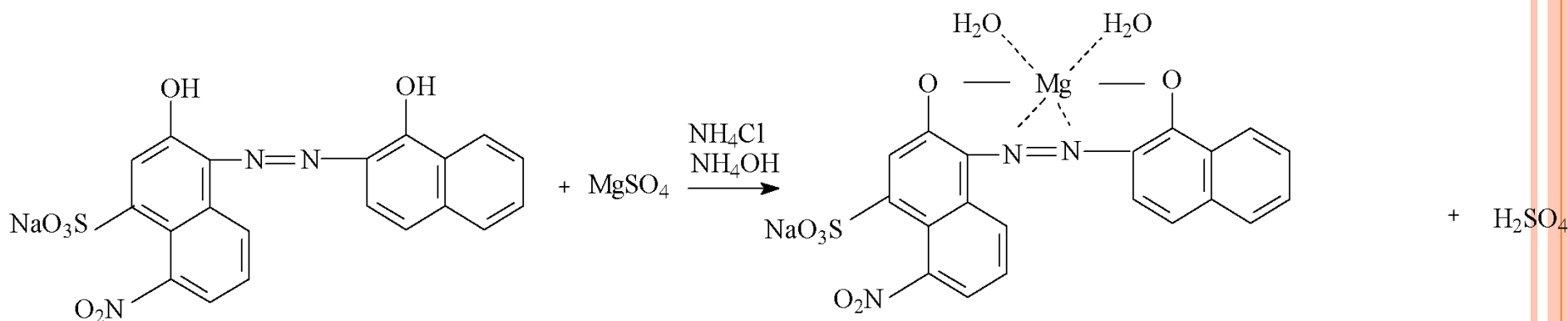
КОМПЛЕКСОНОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ НА ПРИМЕРЕ МАГНИЯ СУЛЬФАТА

Среда – pH=9,5-10,0 (аммиачный буфер: NH_4OH ; NH_4Cl)

Титрант – Трилон Б 0,05 моль/л

Индикатор – Эрихром черный Т (фармакопейный для солей магния и цинка)

1 стадия. Реакция взаимодействия $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ с эрихром черным Т

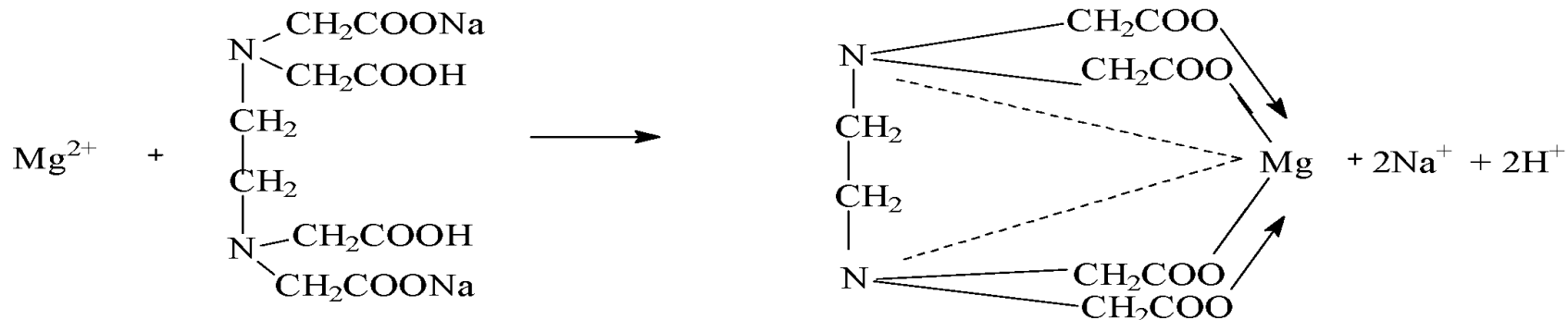


окраска синяя

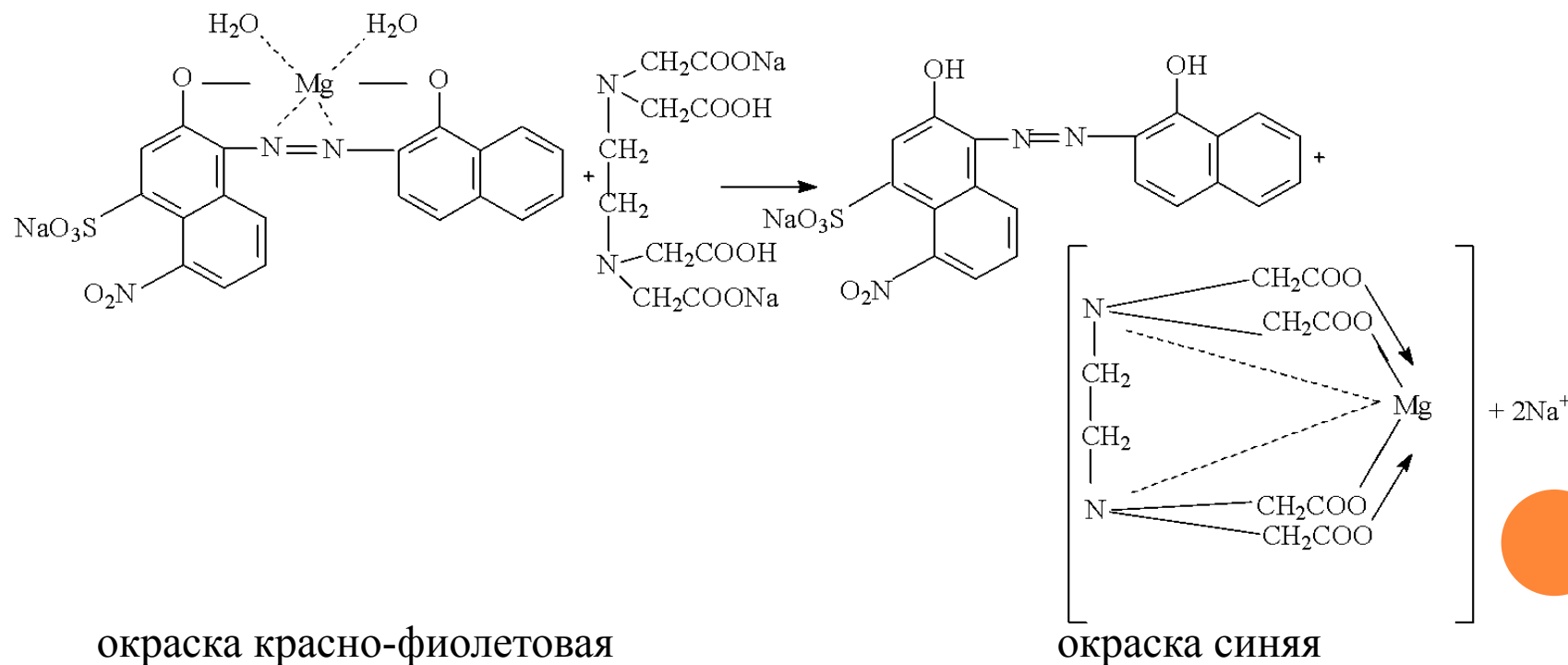
окраска красно-фиолетовая



2 стадия. Реакция титрования (взаимодействие трилона Б с Mg^{2+})



3 стадия. Разрушение комплекса металл-индикатор; образование комплекса металл-трилон Б и свободного индикатора



Способы титрования

- *Прямое титрование* (определение ионов быстро реагирующих с ЭДТА и при условии существования подходящего индикатора)
- *Обратное титрование*
 - 1) при отсутствии подходящего индикатора для прямого титрования
 - 2) реакция ЭДТА с металлом протекает медленно
 - 3) гидролиз ионов металла при оптимальной величине pH образования комплексоната
- *Титрование по заместителю*



Кислотно-основное титрование

- Прямое титрование
- Обратное титрование (если вещества реагируют со щелочами и сильными кислотами медленно, но практически необратимо). Например, малорастворимые в воде оксиды и карбонаты - магнезия оксид, магнезия карбонат основной.
- Титрование по заместителю (косвенное титрование) (если вещества обладают слабо выраженными кислотно-основными свойствами или практически не обладают ими). Например, титрование теофиллина, теобромина, прегнина по кислоте азотной, которая выделяется при реакции указанных веществ с серебра нитратом.



КЛАССИФИКАЦИЯ КИСЛОТНО-ОСНОВНЫХ ИНДИКАТОРОВ

- ❑ Фталеиновые индикаторы (бесцветны в умеренно кислых растворах и окрашены в щелочных)
 - ❑ фенолфталеин (бесцветная→красная окраска $pH=8,2-10,0$)
 - ❑ тимолфталеин (бесцветная→синяя окраска $pH=9,3-10,5$)
- ❑ Сульфопфталеиновые индикаторы
 - ❑ феноловый красный (желтая→красная окраска $pH=6,8-8,4$)
- ❑ Азоиндикаторы (с увеличением щелочности среды меняют окраску – становятся не красными, а желтыми; точка перехода окраски индикатора несколько смещена в кислую область).
 - ❑ метиловый оранжевый (красная→желтая окраска $pH=3,0-4,4$)
 - ❑ метиловый красный (красная→желтая окраска $pH=4,2-6,3$)

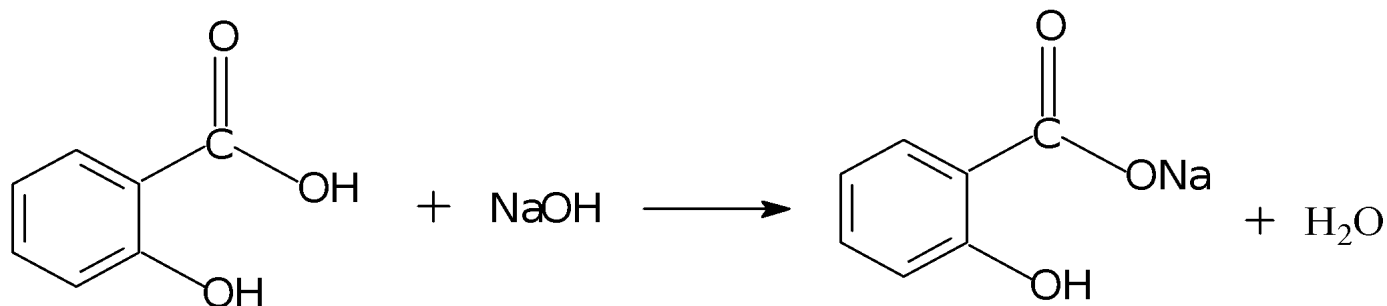
ТИТРОВАНИЕ КИСЛОТ И СОЛЕЙ СЛАБЫХ ОСНОВАНИЙ И СИЛЬНЫХ КИСЛОТ

- Кислоты (борная, салициловая, аскорбиновая кислота).
- Соли органических оснований (титрование по кислотной части молекулы HNO_3 , H_2SO_4) – атропина сульфат и другие соли алкалоидов, прокаина гидрохлорид.
- Основания косвенным методом (определение кислоты азотной, образующейся при взаимодействии препаратов с серебра нитратом).

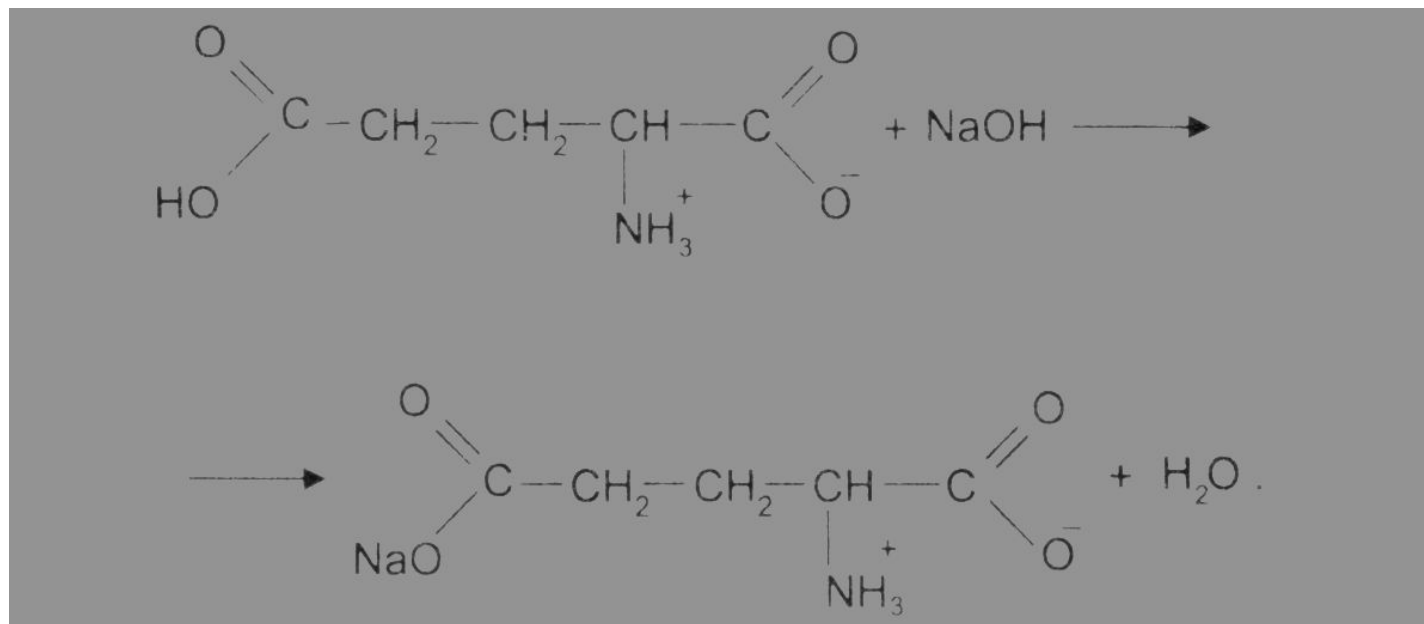


ОПРЕДЕЛЕНИЕ КИСЛОТ

- Алкалиметрия спиртового раствора с индикатором фенолфталеином

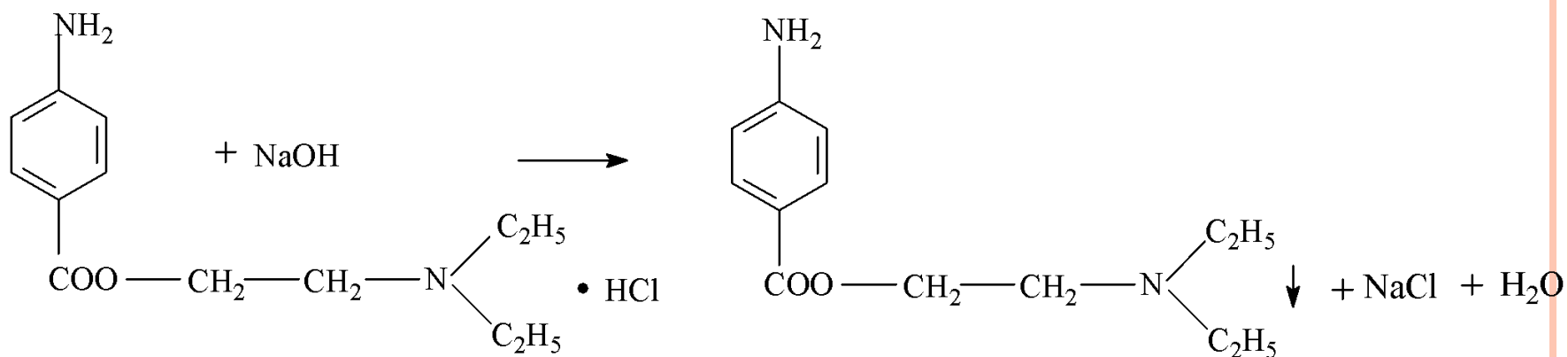


- Алкалиметрия кислоты глутаминовой с индикатором бромтимоловым синим

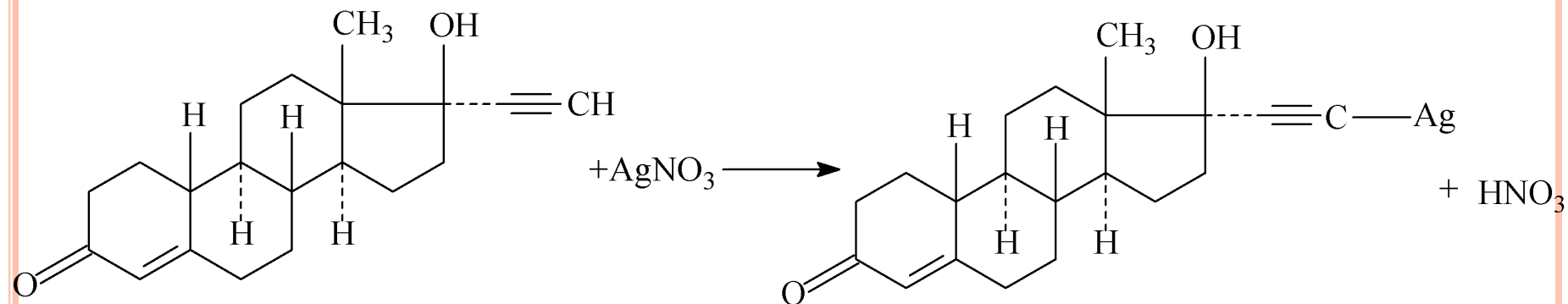


ОПРЕДЕЛЕНИЕ СОЛЕЙ ОРГАНИЧЕСКИХ ОСНОВАНИЙ (НА ПРИМЕРЕ НОВОКАИНА)

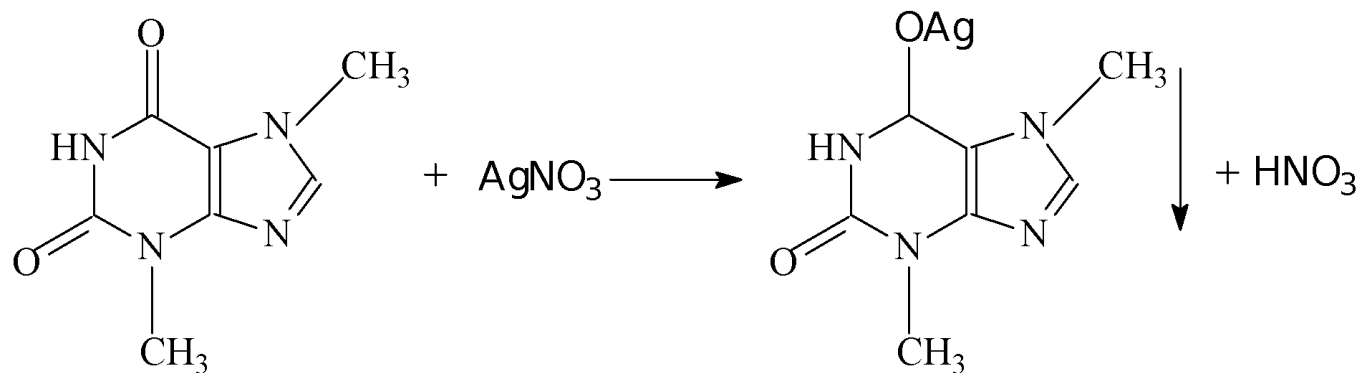
- Титрант – раствор NaOH
- Индикатор – фенолфталеин
- Титрование ведут в присутствии хлороформа, который извлекает выделяющееся основание.



ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОСНОВАНИЙ КОСВЕННЫМ МЕТОДОМ (НА ПРИМЕРЕ НОРЭТИСТЕРОНА И ТЕОБРОМИНА)

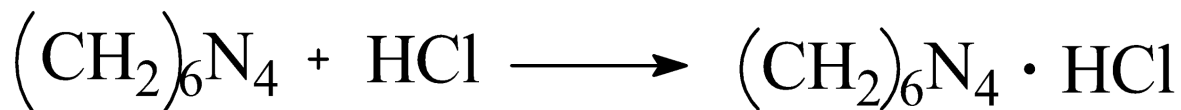


Точку эквивалентности определяют потенциометрически

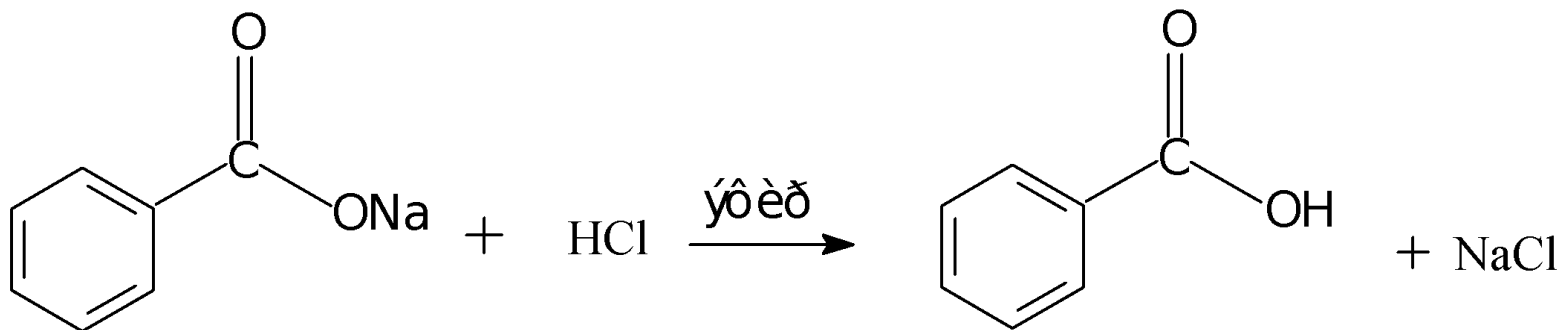


ТИТРОВАНИЕ ОСНОВАНИЙ И СОЛЕЙ СИЛЬНЫХ ОСНОВАНИЙ И СЛАБЫХ КИСЛОТ

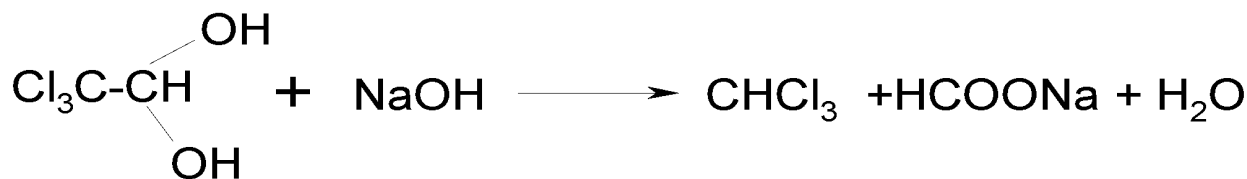
- Прямая ацидиметрия гексаметилентетрамина, индикатор - смесь метилового оранжевого и метиленового синего



- Ацидиметрия натрия бензоата, индикатор – смесь метилового оранжевого и метиленового синего



- Обратная ацидиметрия хлоралгидрата, индикатор – фенолфталеин



ОСОБЕННОСТИ ТИТРОВАНИЯ В НЕВОДНЫХ РАСТВОРИТЕЛЯХ

- Определение органических и неорганических кислот и оснований и смесей, которые при титровании в водной среде не дают резких конечных точек титрования.
- Определение соединений, которые нерастворимы в воде и образуют стойкие эмульсии или разлагаются водой.
- Определение смеси веществ без их предварительного разделения.
- Тщательное обезвоживание реактивов и защита их от влаги воздуха.



КЛАССИФИКАЦИЯ РАСТВОРИТЕЛЕЙ

I. По виду действия:

- Нивелирующее действие (уменьшают разницу в силе кислот и оснований)
- Дифференцирующее действие (повышают разницу в силе кислот и оснований)

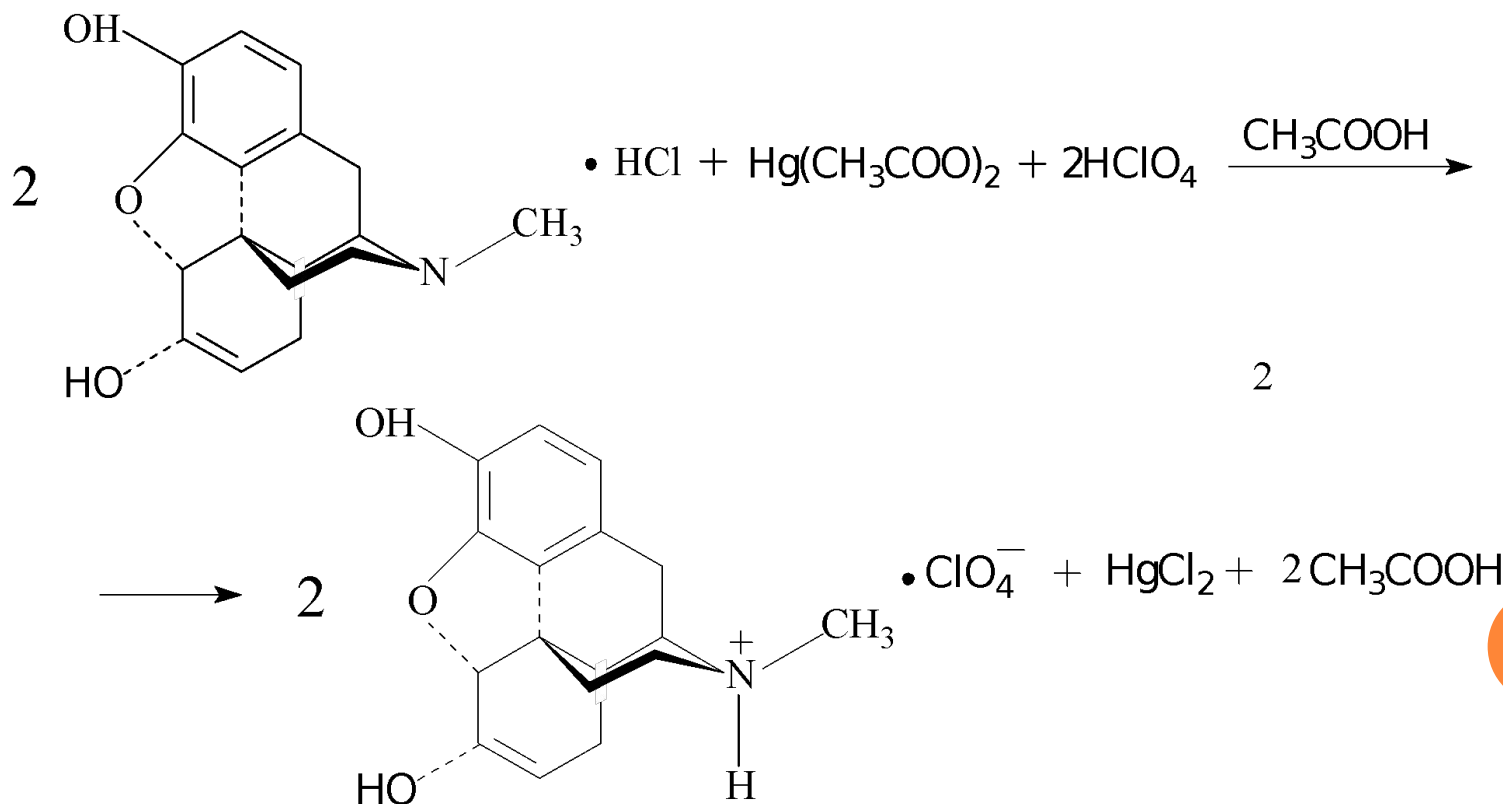
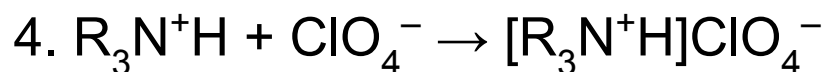
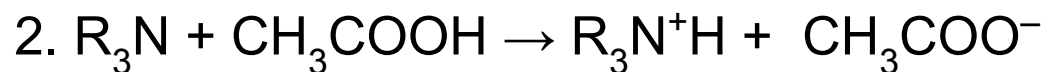
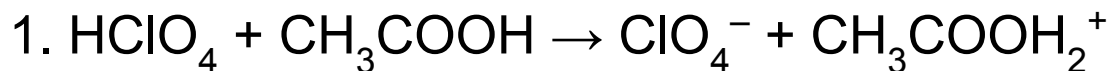
II. По участию растворителя в кислотно-основном процессе:

- Апротонные (нейтральные) – не участвуют в кислотно-основном взаимодействии – бензол, хлороформ, толуол, четыреххлористый углерод – применяют в качестве вспомогательных.
- Протолитические (способны отдавать или присоединять протоны)

Протолитические растворители:

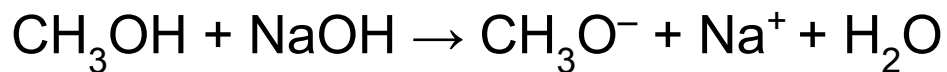
- амфотерные: вода, этанол
- протогенные (кислые: отдают протоны, усиливают основные свойства): муравьиная, ледяная уксусная кислоты, уксусный ангидрид
- протофильные (основные: принимают протоны, увеличивают силу слабых органических кислот): аммиак, пиридин, диметилформамид

КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОРГАНИЧЕСКИХ ОСНОВАНИЙ И ИХ СОЛЕЙ

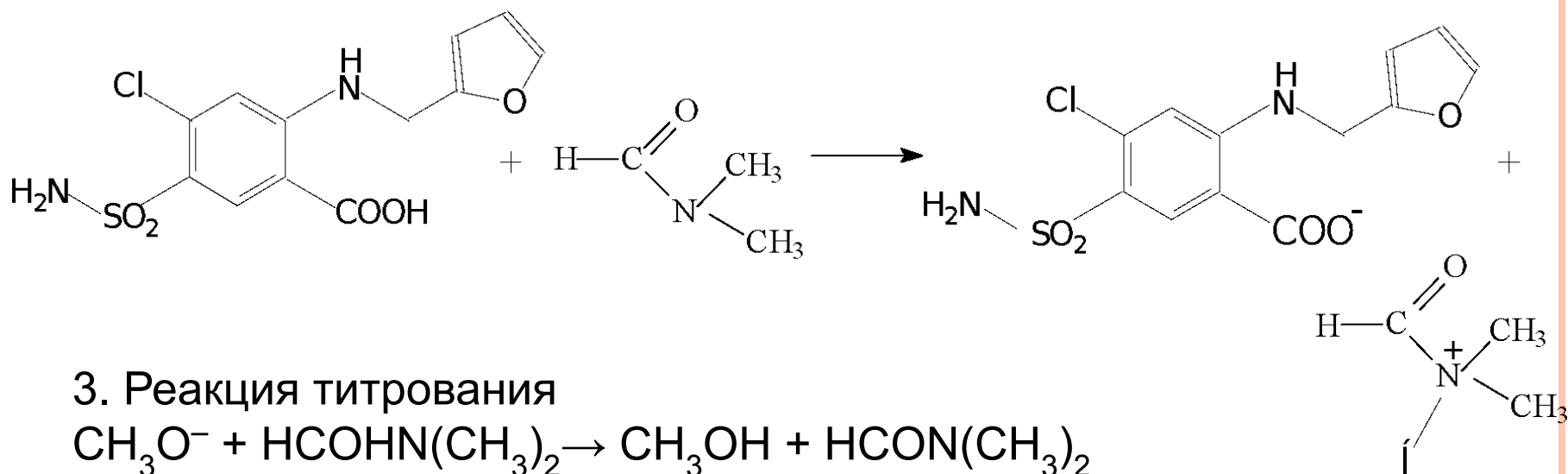


КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОРГАНИЧЕСКИХ КИСЛОТ

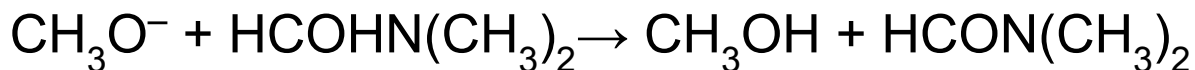
1. Получение титранта



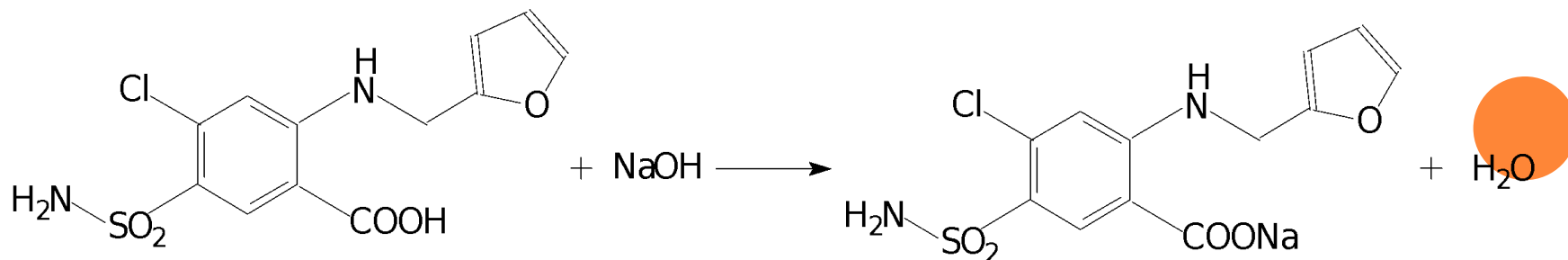
2. Реакция в колбе для титрования

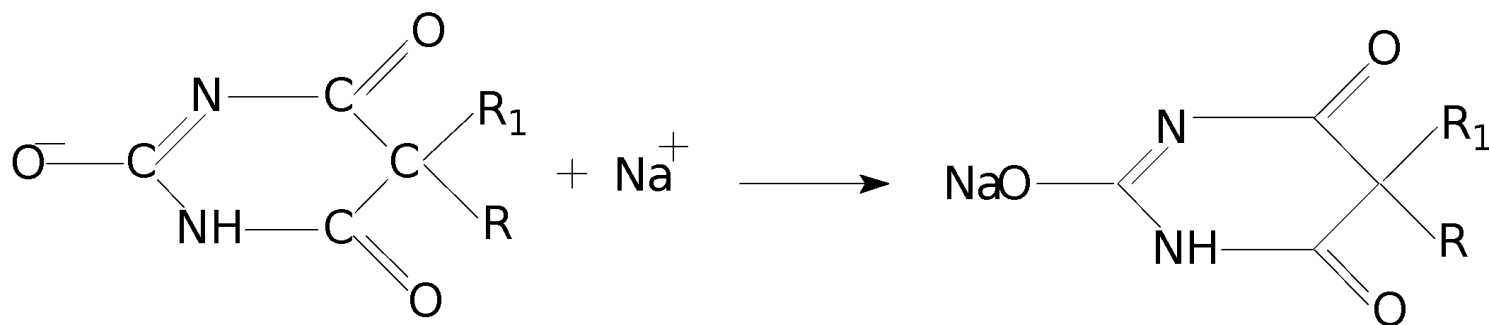
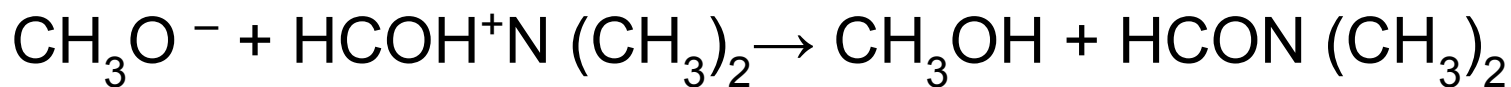
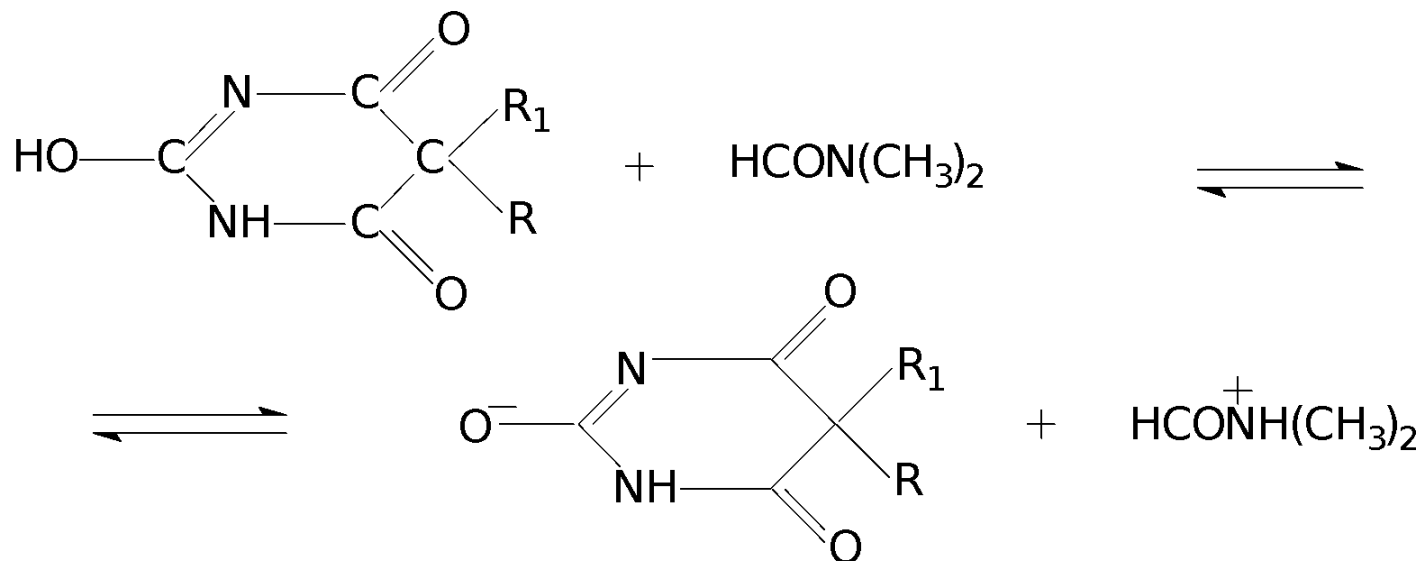
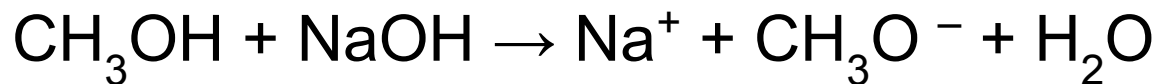


3. Реакция титрования



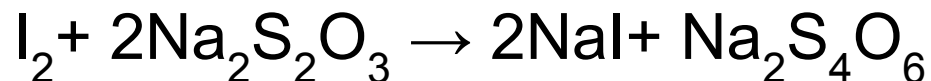
4. Реакция в точке эквивалентности





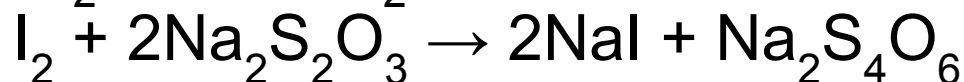
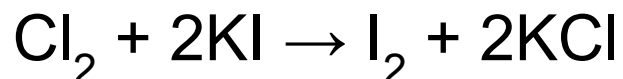
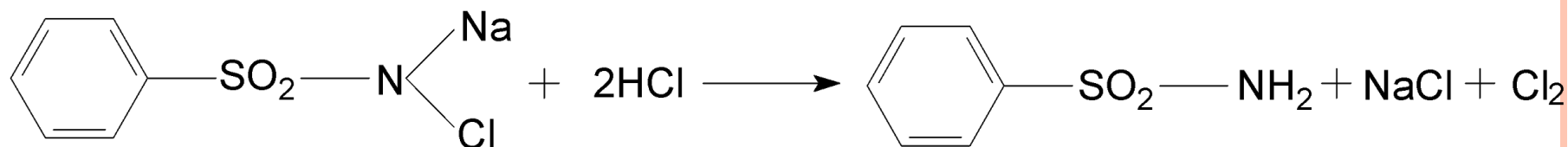
ЙОДОМЕТРИЯ

1. Прямое титрование

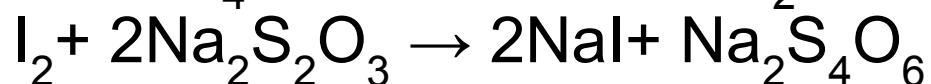


2. Заместительное титрование

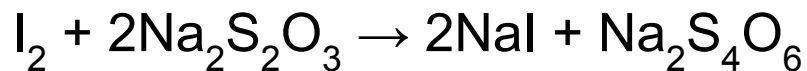
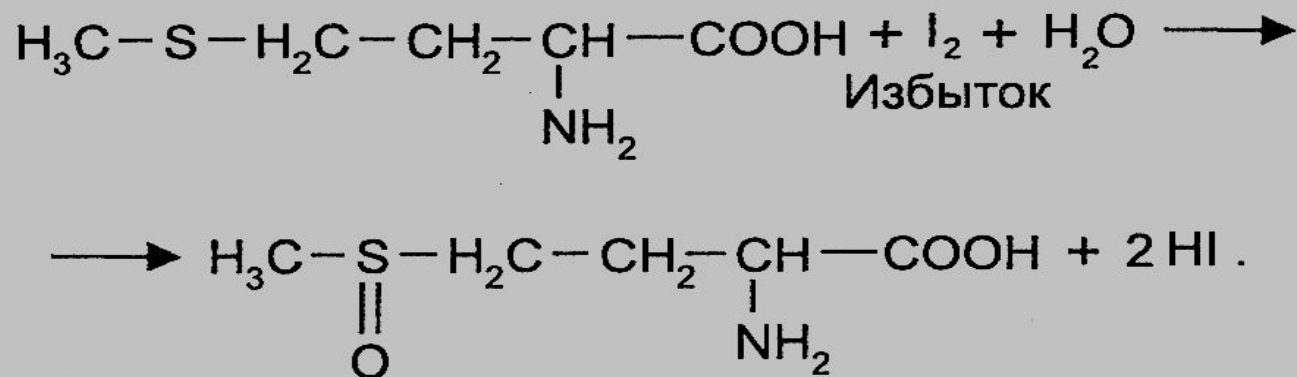
Пример I



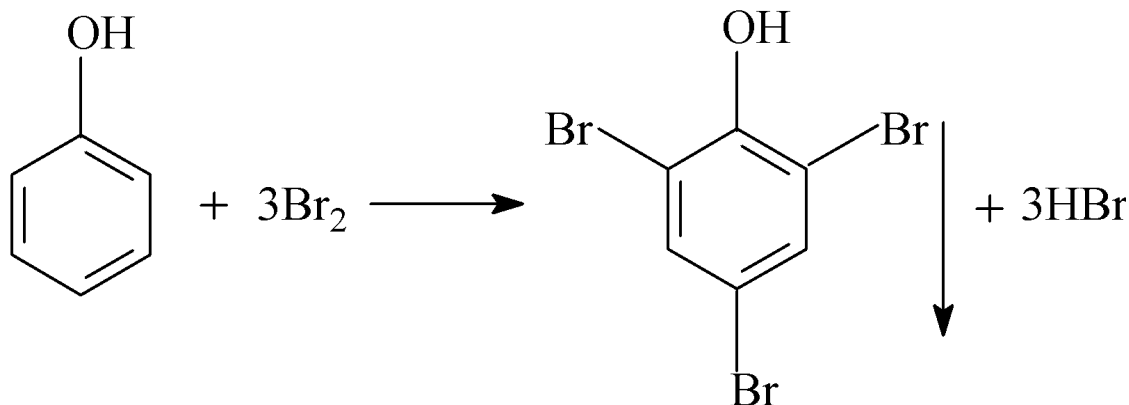
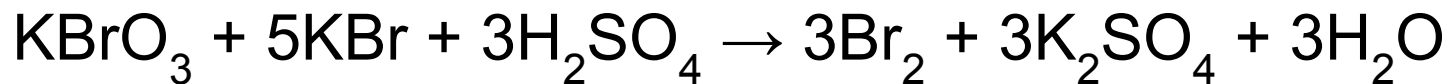
Пример II



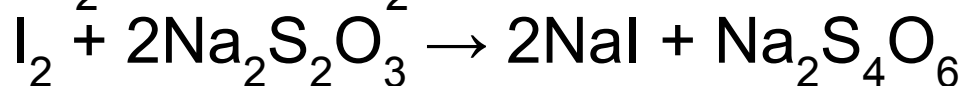
3. Обратное титрование



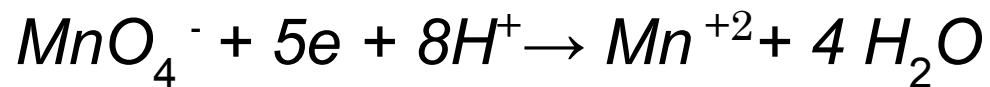
БРОМАТОМЕТРИЯ (ОБРАТНОЕ ТИТРОВАНИЕ)



Избыток брома определяют йодометрически:



Перманганатометрия



Цериметрия



Нитритометрия

Метод количественного определения:

- первичных ароматических аминов (стрептоцид, сульфацил-натрий),
- ацилированных производных первичных ароматических аминов (после предварительного гидролиза) – парацетамол,
- ароматических нитропроизводных, которые легко могут быть восстановлены до ароматических аминов (хлорамфеникол),
- вторичных ароматических и алифатических аминов (тетракаин),
- гидразидов и других соединений.



НИТРИТОМЕТРИЯ

Среда – кислая (pHCl)

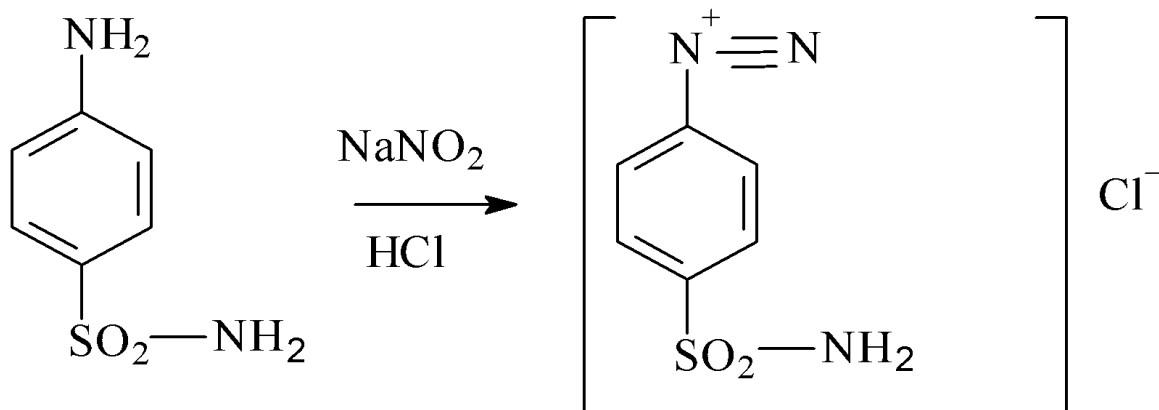
Условия – катализатор KBr; температура 18-20 °С или 0-10 °С

Титрант – NaNO_2

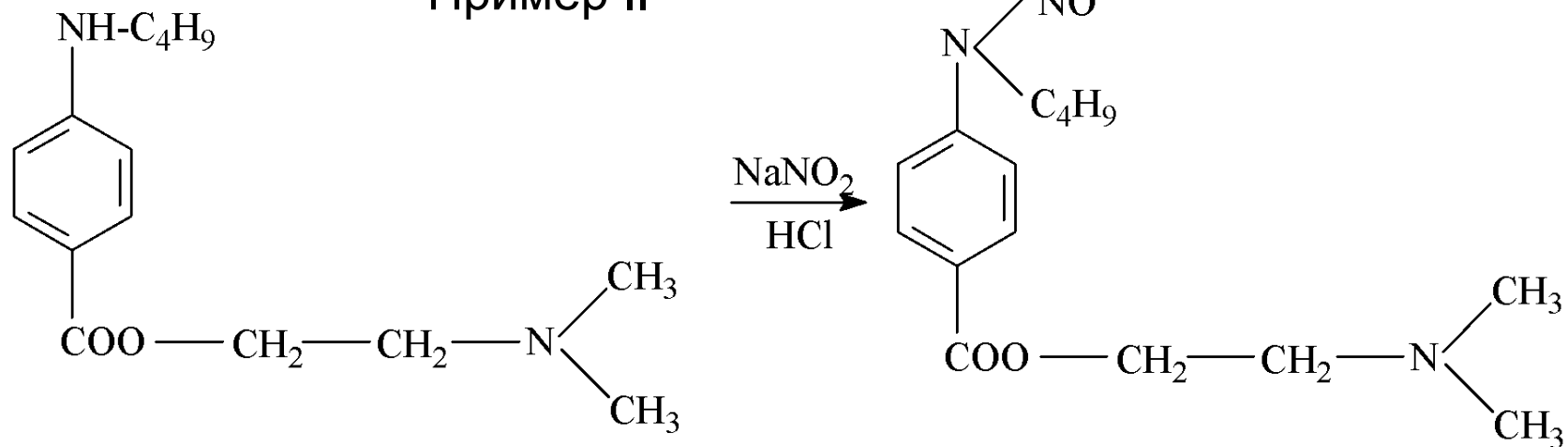
Индикатор – внутренний (тропеолин 00) или внешний (йодкрахмальная бумага)

Без индикатора – потенциометрически

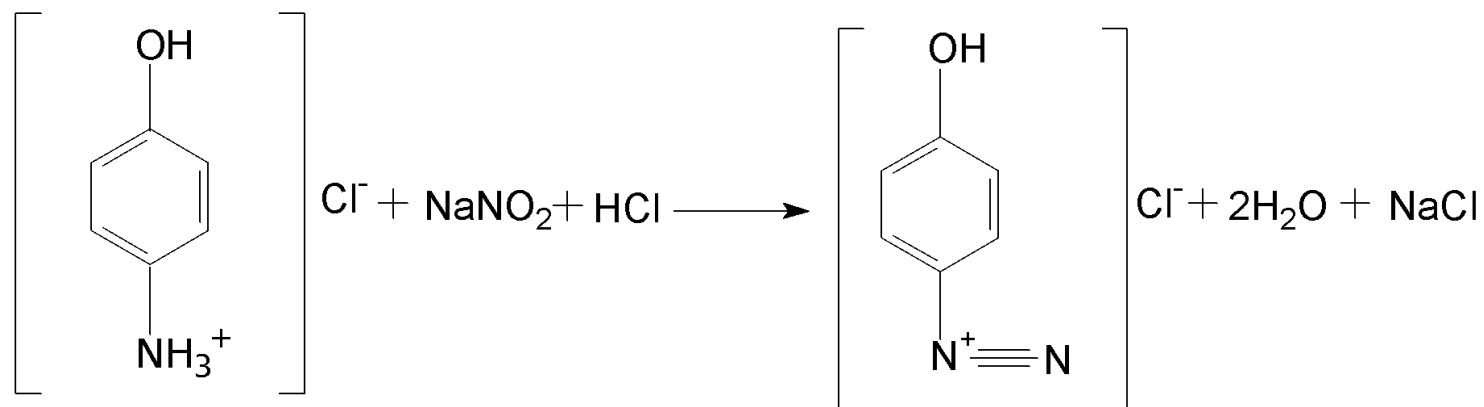
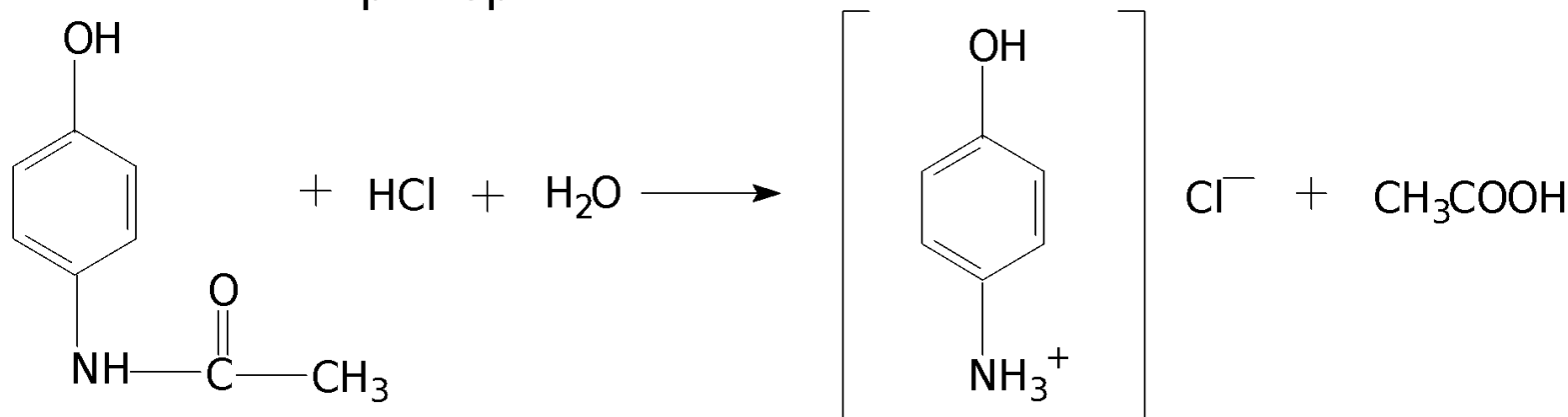
Пример I



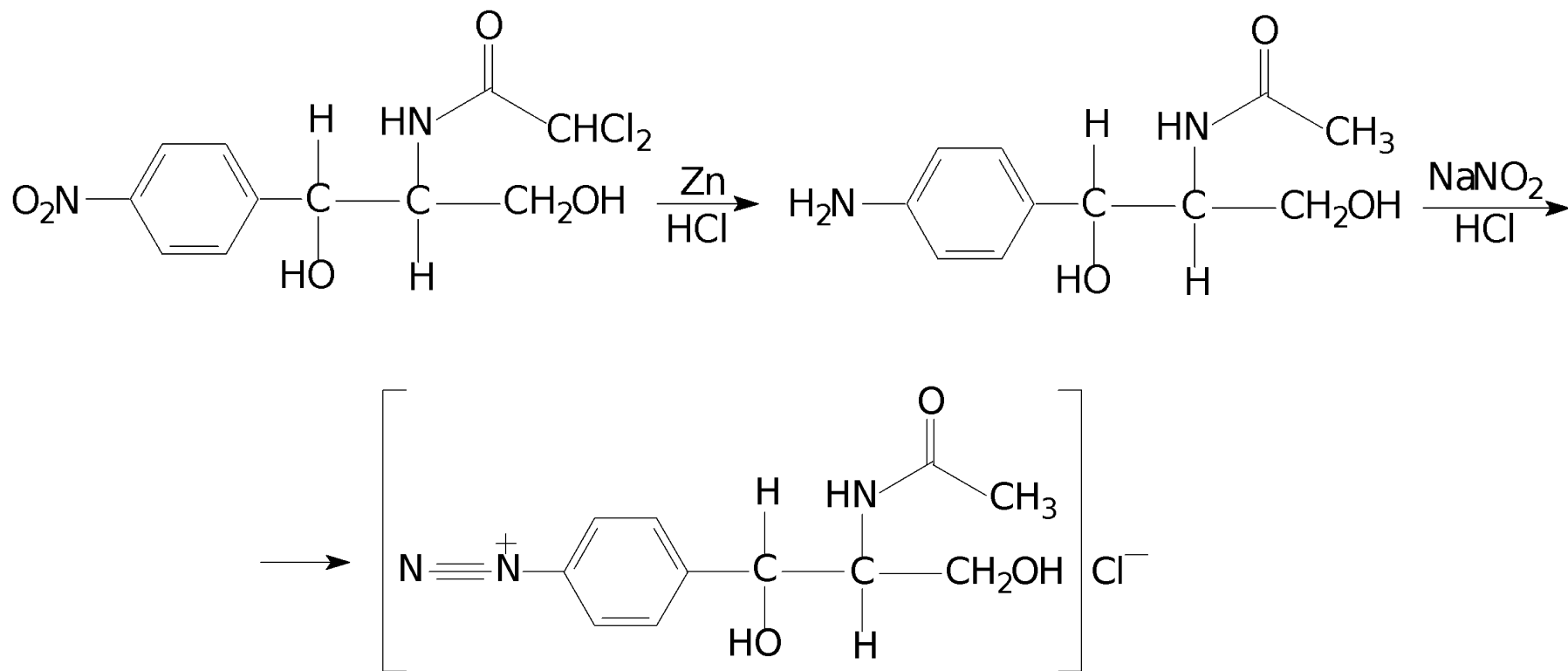
Пример II



Пример III



Пример IV



АРГЕНТОМЕТРИЯ

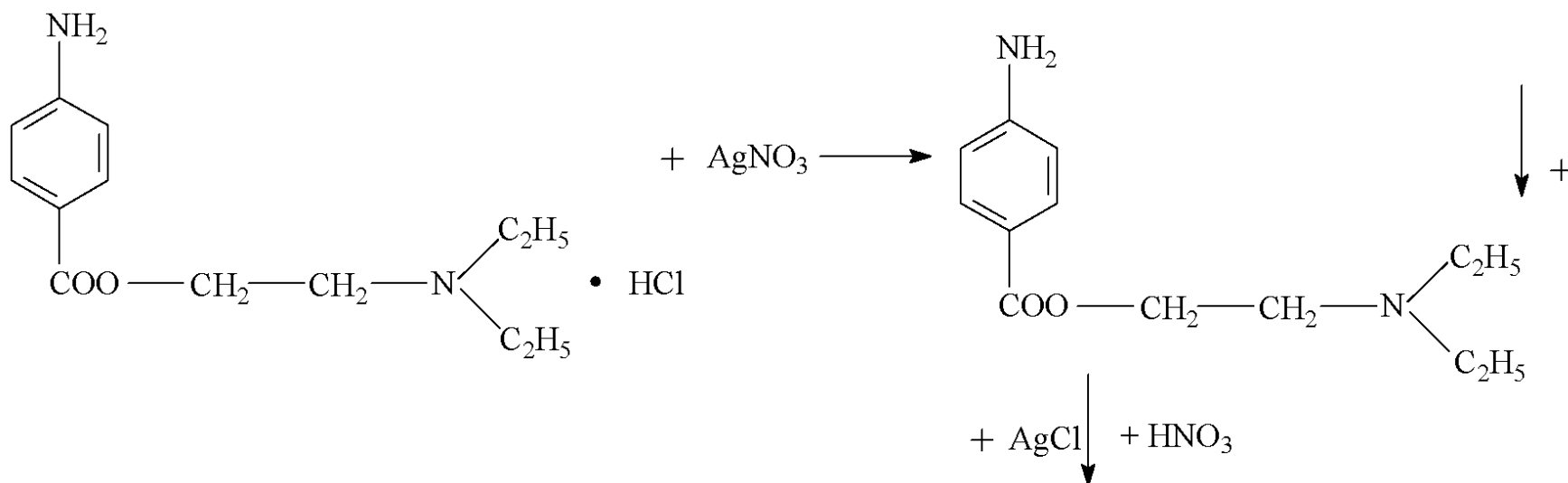
- Метод прямого аргентометрического титрования:
 - ✓ Метод Мора (фармакопейный метод для хлоридов и бромидов)
 - ✓ Метод Фаянса с адсорбционным индикатором эозинатом натрия (фармакопейный метод для йодидов, можно титровать бромиды)
 - ✓ Метод Фаянса с адсорбционным индикатором бромфеноловым синим (нефармакопейный для хлоридов и бромидов)
- Метод обратного аргентометрического титрования:
 - ✓ Метод Фольгарда (для титрования в сильноокислой среде)
 - ✓ Косвенный метод Фольгарда (метод Кольтгоффа-Стенгера) (для бромкамфоры)





КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ МЕТОДОМ АРГЕНТОМЕТРИИ

Новокаин (в присутствии эфира)

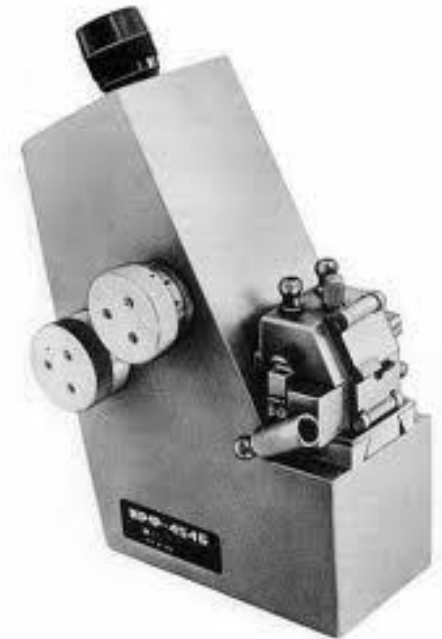


Инструментальные методы количественного определения лекарственных веществ



РЕФРАКТОМЕТРИЯ

- Метод анализа, основанный на измерении показателя преломления анализируемого вещества.
- Применение в фармацевтическом анализе - для идентификации лекарственных веществ, контроля их чистоты и количественного анализа.
- Показатель преломления (n) - отношение скорости света в воздухе к скорости света в испытуемом веществе.
- *Величина показателя преломления зависит от природы вещества, длины световой волны, концентрации раствора, температуры.*



РЕФРАКТОМЕТРИЯ

$$X = (n - n_o)/F$$

X – концентрация, в процентах;

n – показатель преломления раствора;

n_o – показатель преломления растворителя при той же температуре;

F – фактор, равный величине прироста показателя преломления при увеличении концентрации на 1 % (устанавливается экспериментально)



ФОТОМЕТРИЯ И СПЕКТРОФОТОМЕТРИЯ

Определения, связанные с измерением поглощения света, основаны на 2 законах Бугера-Ламберта и Бера. Закон Бугера-Ламберта-Бера:

$$D = \varepsilon \cdot C \cdot l$$

D – оптическая плотность (абсорбция A)

ε – показатель поглощения раствора (удельный и молярный)

C – концентрация раствора

l – толщина слоя вещества, см

1) Определения, связанные с измерением оптической плотности для монохроматического излучения – предмет спектрофотометрии

2) Определения, связанные с измерением оптической плотности для немонахроматического излучения – предмет фотометрии (обычно в видимой области)

ФОТОЭЛЕКТРОКОЛОРИМЕТРИЯ

Расчеты количественного содержания веществ:

1. С применением РСО (по величине его оптической плотности или величине удельного показателя поглощения).
2. По калибровочному графику.



СПЕКТРОФОТОМЕРИЯ

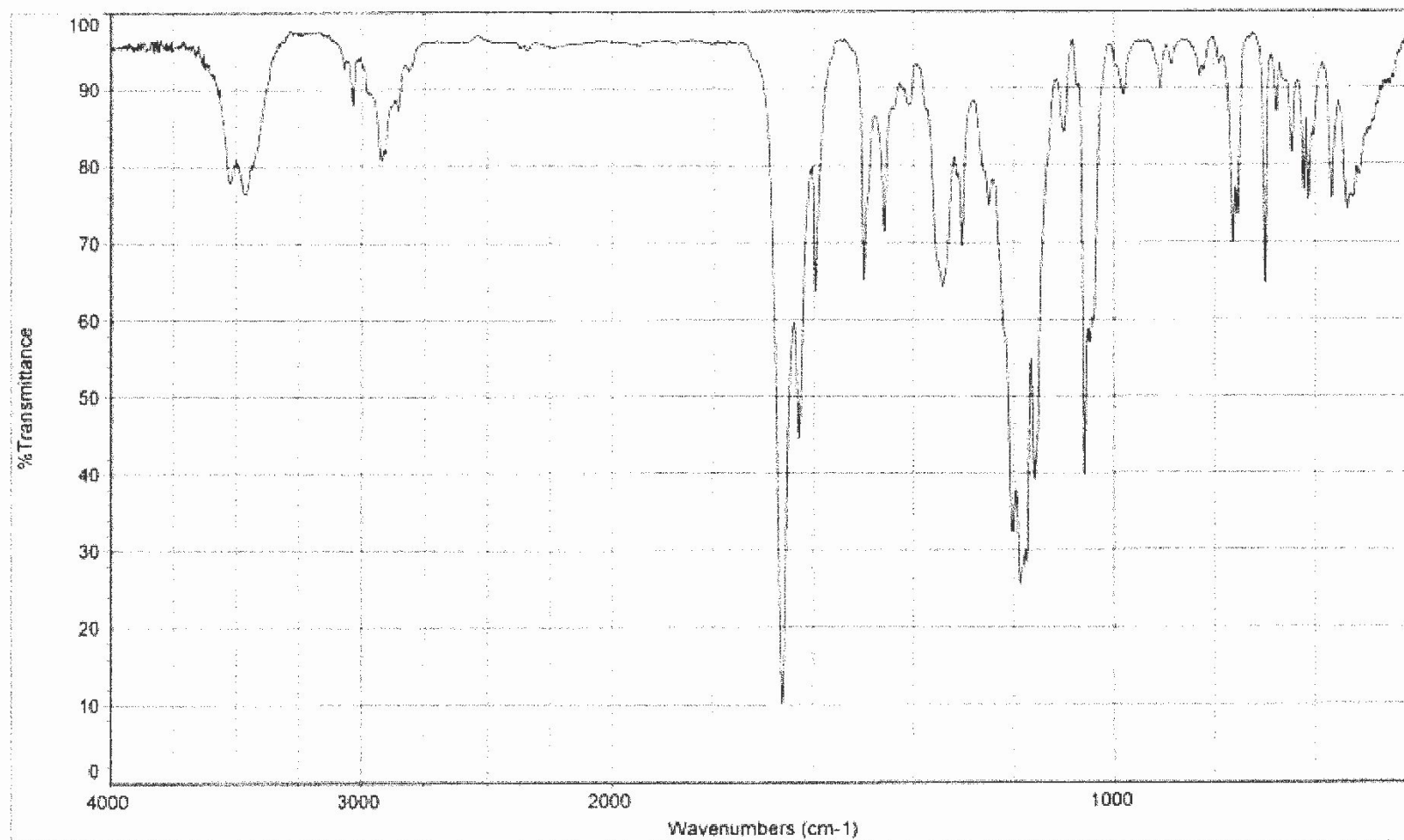
- Ультрафиолетовая (УФ) область электромагнитного спектра охватывает интервал - от 190 до 380 нм
- Видимая область – 380-780 нм
- Инфракрасная (ИК) область 700 нм (0,7 мкм)-30000 нм (30 мкм)
- Спектр поглощения — графическое выражение отношения поглощения к длине волны



ИК-СПЕКТР

АНАЛЬГИН

ДИСК С КАЛИЯ БРОМИДОМ



ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ ГРУППЫ И СООТВЕТСТВУЮЩИЕ ИМ ЧАСТОТЫ

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

РАСЧЕТЫ В СФМ

1. Используя величину поглощения ($E_{1\text{см}}^{1\%}$)

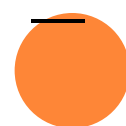
$$\tilde{N}\tilde{o} = \frac{\dot{A}}{A_{1\tilde{n}\tilde{i}}^{1\%} \cdot l}$$

A — оптическая плотность; $E_{1\text{см}}^{1\%}$ — удельный показатель поглощения; l — толщина оптического слоя (1 см)

2. Используя стандартные образцы

$$\tilde{N}\tilde{o} = \frac{\dot{A}_{\tilde{o}} \cdot \tilde{N}_{\tilde{n}\tilde{o}}}{\dot{A}_0}$$

A_x — оптическая плотность испытуемого раствора; A_0 — оптическая плотность раствора стандартного образца; $C_{\text{см}}$ — концентрация раствора стандартного образца, г/мл



3. Расчет содержания вещества в одной таблетке в граммах (х), считая на среднюю массу таблетки — при использовании стандартного образца, формуле:

$$\tilde{o} = \frac{A_{\tilde{o}} \cdot \tilde{N}_{\tilde{o}} \cdot b \cdot q}{A_{\tilde{n}\tilde{o}} \cdot a}$$

4. При использовании значения удельного показателя поглощения:

$$\tilde{o} = \frac{A \cdot b \cdot q}{A_{1\tilde{n}\tilde{i}}^{1\%} \cdot a \cdot 100}$$

A_x — оптическая плотность испытуемого раствора; A_{cm} — оптическая плотность раствора стандартного образца; C_{cm} — концентрация раствора стандартного образца, г/мл, b — разведение; a — навеска, г, q — средняя масса таблетки, г

Хроматография

Метод разделения и анализа смесей веществ, основанный на различном распределении компонентов между двумя фазами – неподвижной (носитель) и подвижной (элюент)

Виды

I. По принципу протекающих при разделении смеси веществ физико-химических процессов:

- распределительная
- адсорбционная
- ионообменная хроматография

II. По способу разделения компонентов анализируемой смеси

- хроматография на колонке
- хроматография на бумаге
- хроматография в тонком слое сорбента
- газовая хроматография
- высокоэффективная жидкостная хроматография и другие





