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)

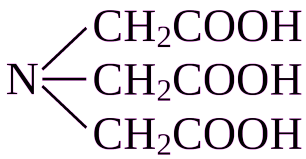
III. БИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ

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

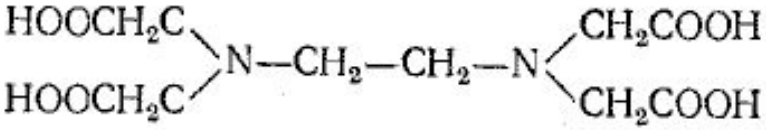
Химические методы количественного определения лекарственных веществ

Комплексонометрия

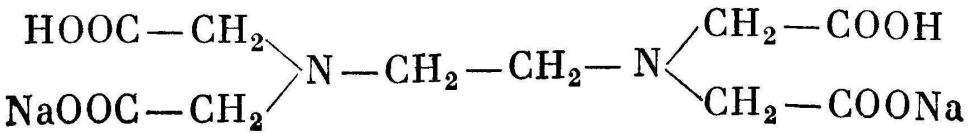
- Комплексонометрический метод основан на реакции образования прочных комплексов полиаминокарбоновых кислот (комплексоны) с ионами металлов.
- Комплексоны:
  - Трехосновная нитрилотриуксусная кислота (НТА) или H_3Y, где Y^{3+} анион (комплексон I)



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

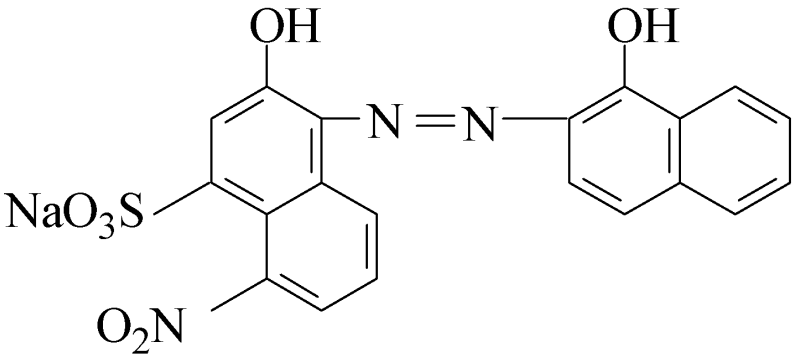


  - Динатриевая соль этелендиаминтетрауксусной кислоты Na_2H_2Y – ЭДТА (комплексон III, трилон Б)

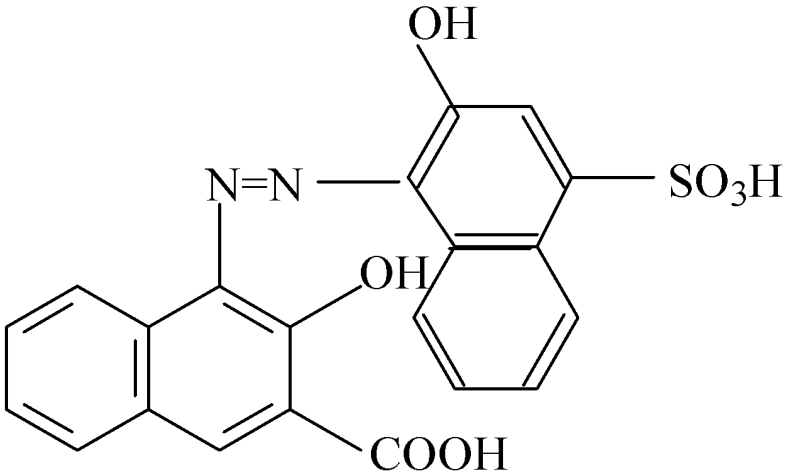


- Диаминциклогексантетрауксусная кислота (ДЦТУ) - комплексон IV

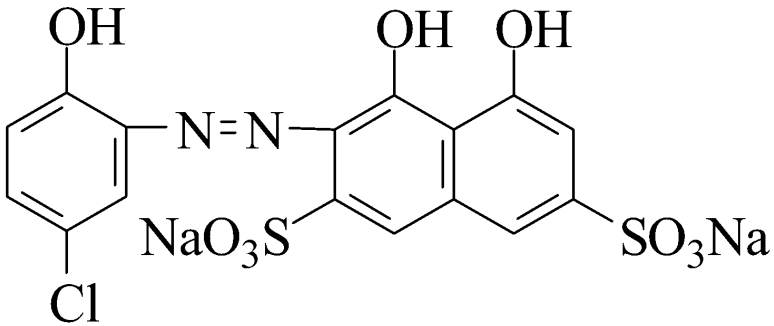
Металлоиндикаторы



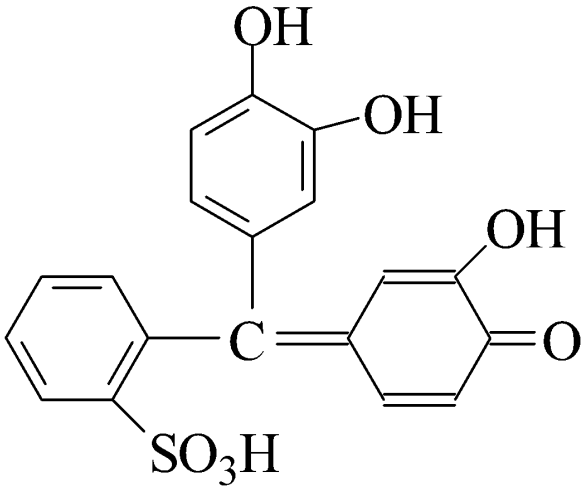
Эрихром черный Т
(окраска свободного индикатора синяя pH=9,5-10)



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



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

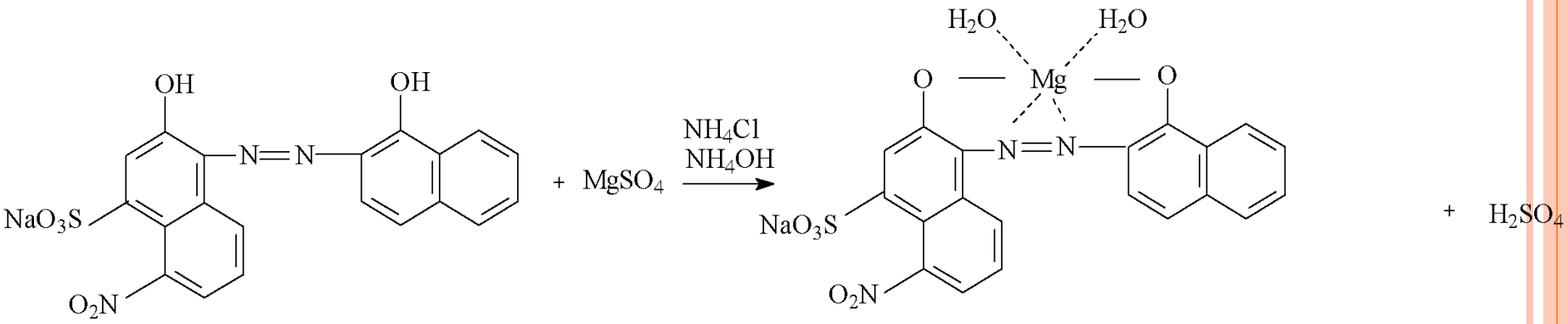


Пирокатехиновый фиолетовый
(окраска свободного индикатора желтая pH=2-3)

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)

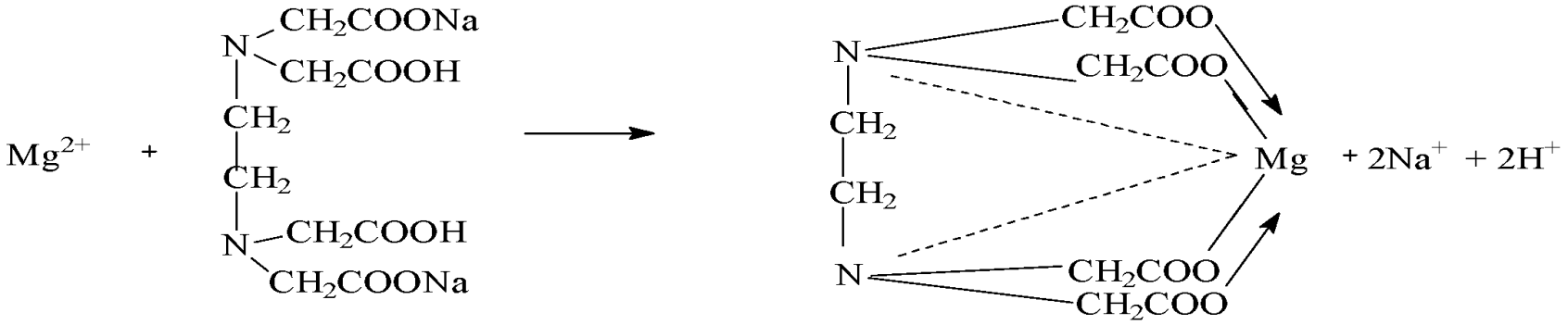
1 стадия. Реакция взаимодействие $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ с эрихром черным Т



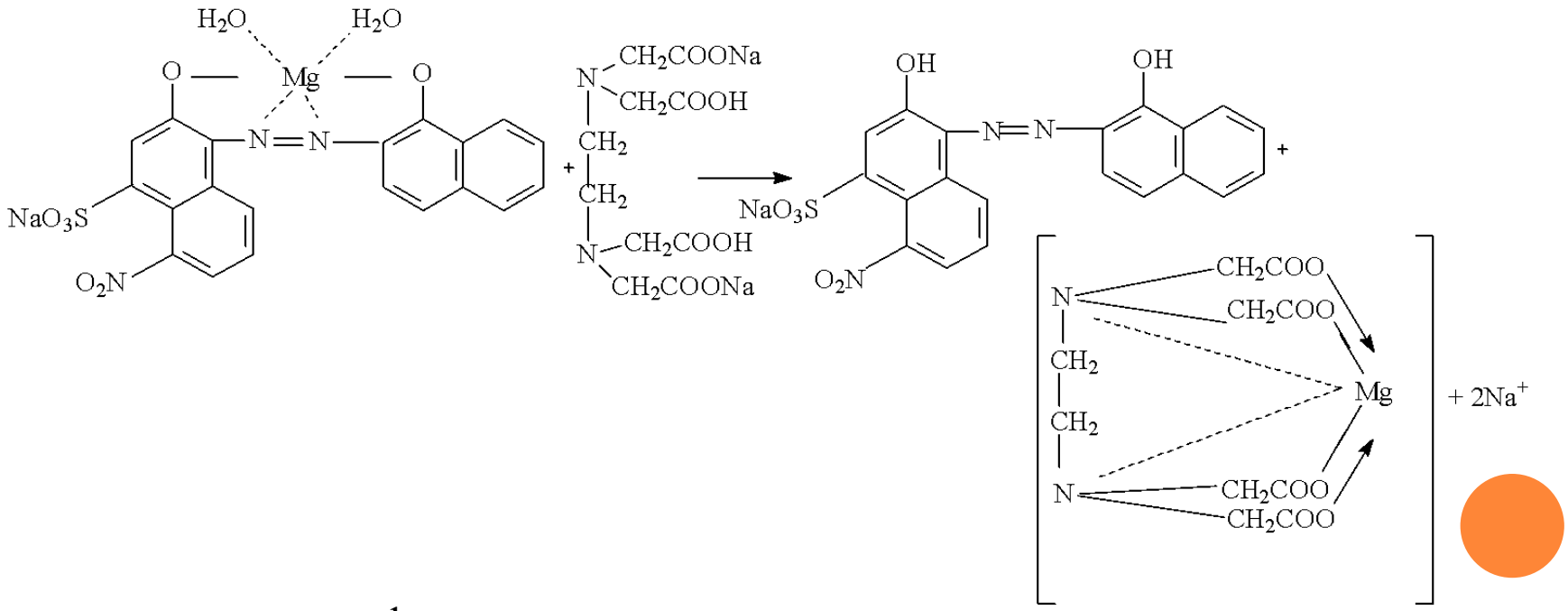
окраска синяя

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



окраска красно-фиолетовая

окраска синяя

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 - магния оксид, магния 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

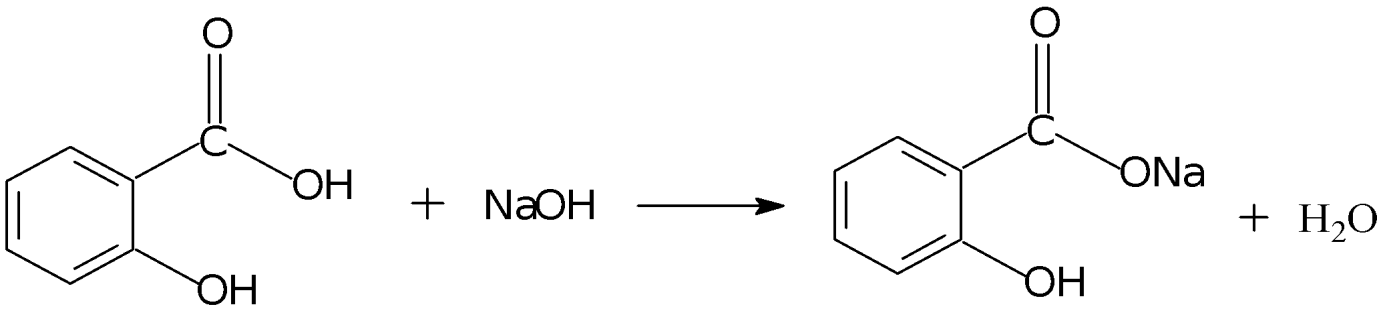
- Фталеиновые индикаторы (бесцветны в умеренно кислых растворах и окрашены в щелочных)
  - фенолфталеин (бесцветная→красная окраска pH=8,2-10,0)
  - тимолфталеин (бесцветная→синяя окраска pH=9,3-10,5)
- Сульфофталеиновые индикаторы
  - феноловый красный (желтая→красная окраска pH=6,8-8,4
- Азоиндикаторы (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

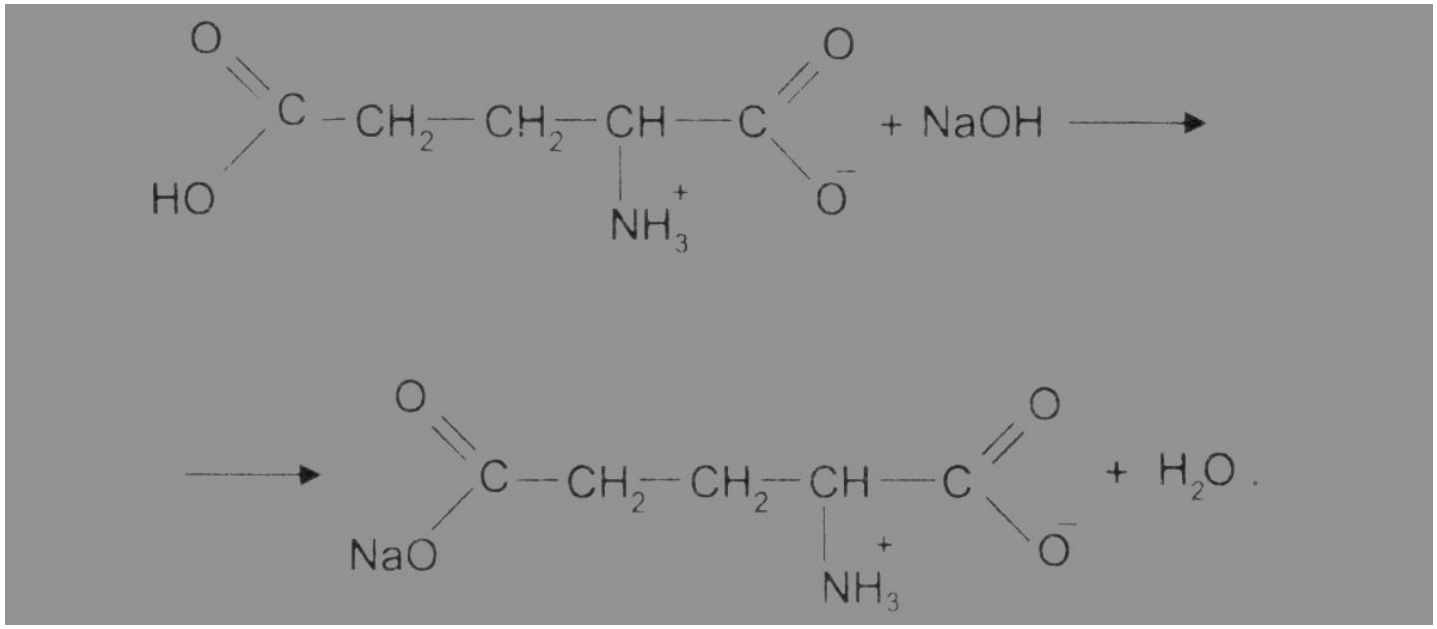
- Кислоты (борная, салициловая, аскорбиновая кислота.
- Соли органических оснований (титрование по кислотной части молекулы HNO_3, H_2SO_4) – атропина сульфат и другие соли алкалоидов, прокаина гидрохлорид.
- Основания косвенным методом (определение кислоты азотной, образующейся при взаимодействии препаратов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

Определение кислот

- Алкалиметрия спиртового раствора с индикатором фенолфталеином

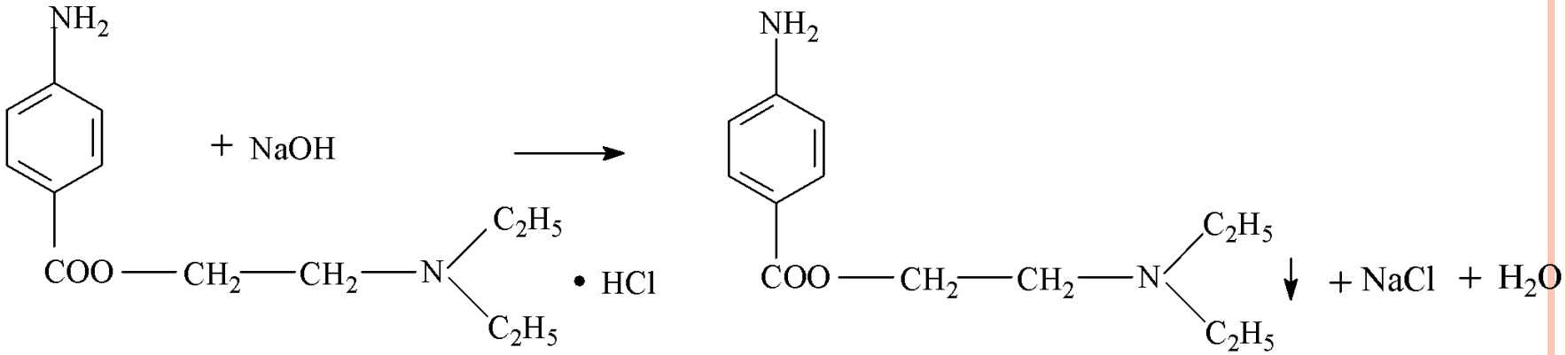


- Алкалиметрия кислоты глутаминовой с индикатором бромтимоловым синим

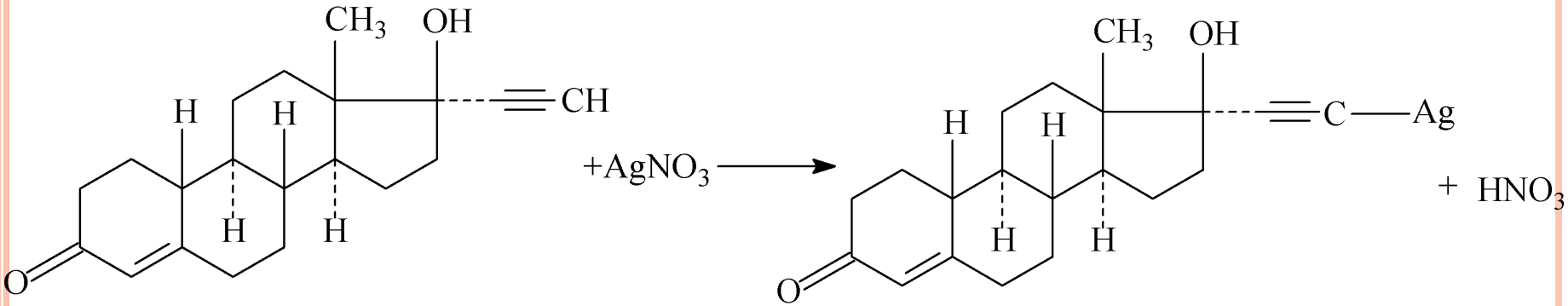


Определение солей органических оснований (на примере новокаина)

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

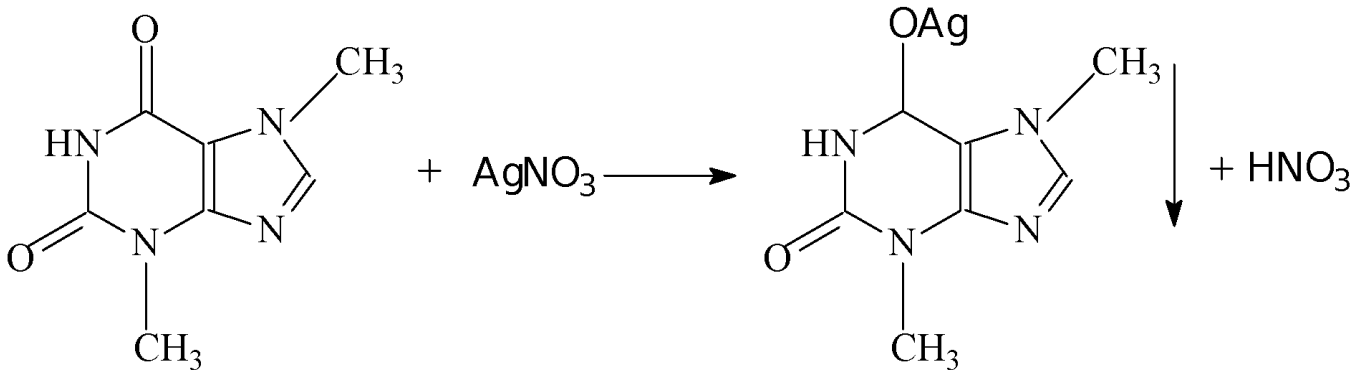


Определение оснований косвенным методом (на примере норэтистерона и теобромина)



$HNO_3 + NaOH \rightarrow NaNO_3 + H_2O$

Точку эквивалентности определяют потенциометрически



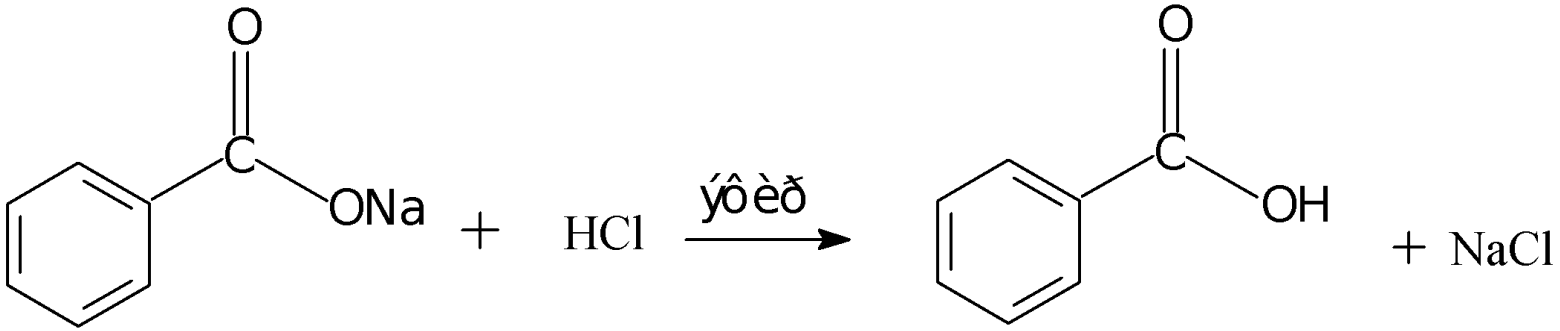
$HNO_3 + NaOH \rightarrow NaNO_3 + H_2O$

Титрование оснований и солей сильных оснований и слабых кислот

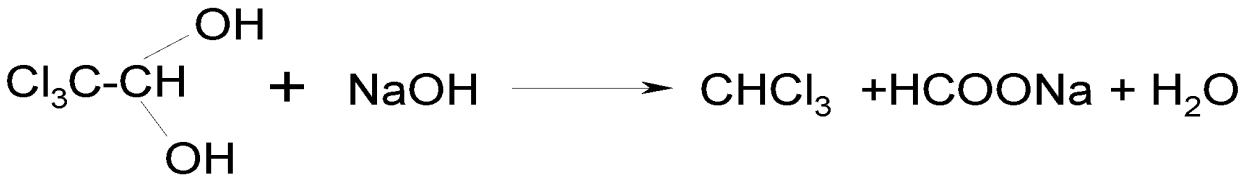
- Прямая ацидиметрия гексаметилентетрамина, индикатор - смесь метилового оранжевого и метиленового синего

$$(CH_2)_6N_4 + HCl \longrightarrow (CH_2)_6N_4 \cdot HCl$$

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



- Обратная ацидиметрия хлоралгидрата, индикатор – фенолфталеин



$$NaOH + HCl \longrightarrow NaCl + H_2O$$

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

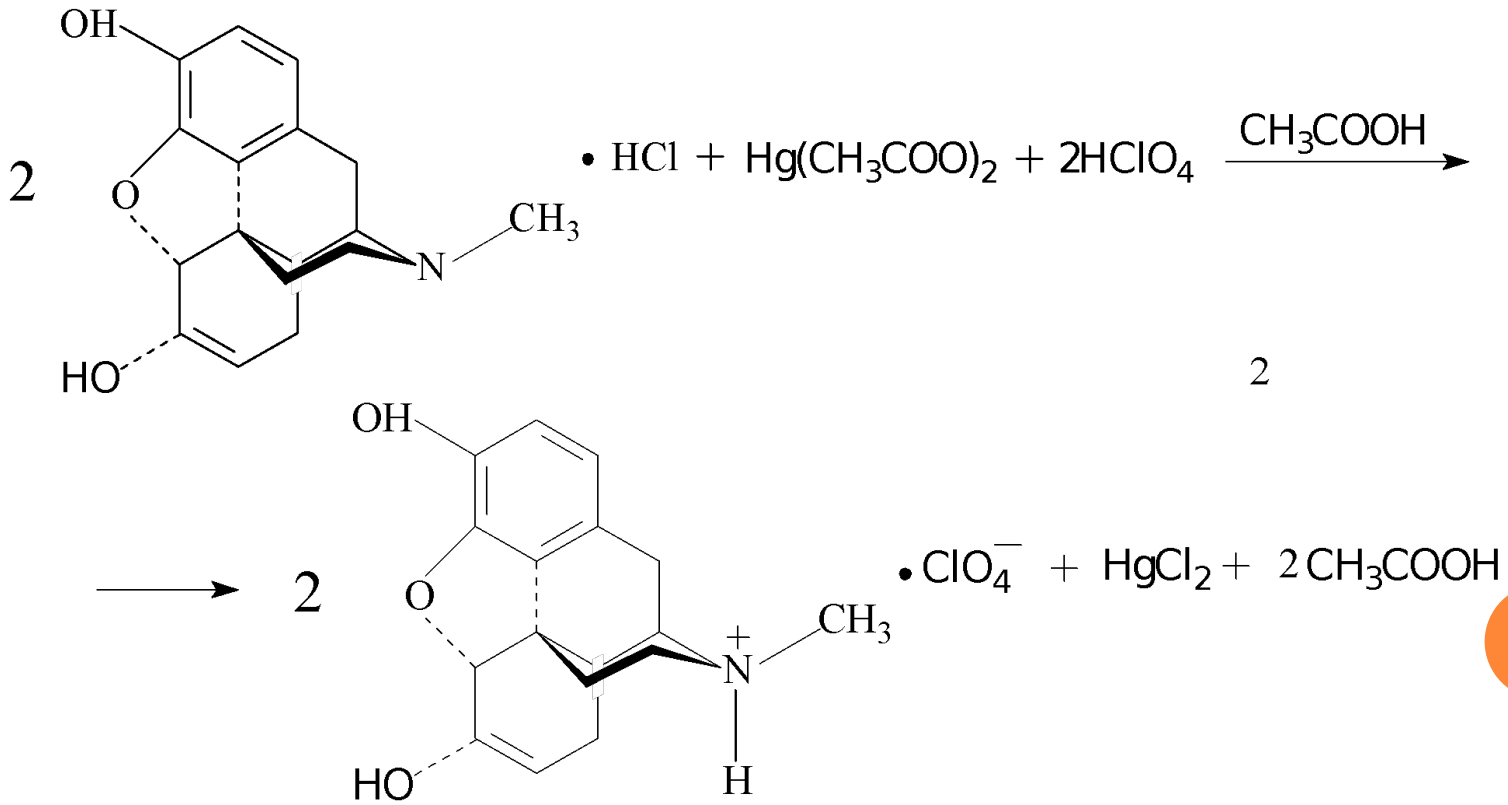
Количественное определение органических оснований и их солей

1. $HClO_4 + CH_3COOH \rightarrow ClO_4^- + CH_3COOH_2^+$

2. $R_3N + CH_3COOH \rightarrow R_3N^+H + CH_3COO^-$

3. $CH_3COO^- + CH_3COOH_2^+ \rightarrow 2\ CH_3COOH$

4. $R_3N^+H + ClO_4^- \rightarrow [R_3N^+H]ClO_4^-$

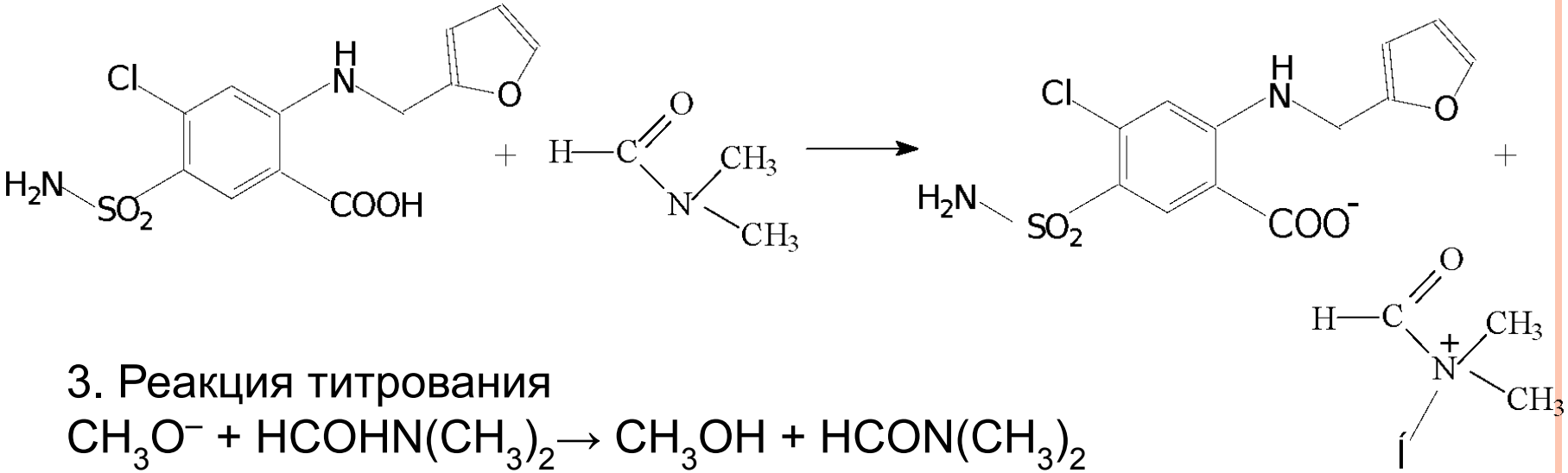


Количественное определение органических кислот

1. Получение титранта

$CH_3OH + NaOH \rightarrow CH_3O^- + Na^+ + H_2O$

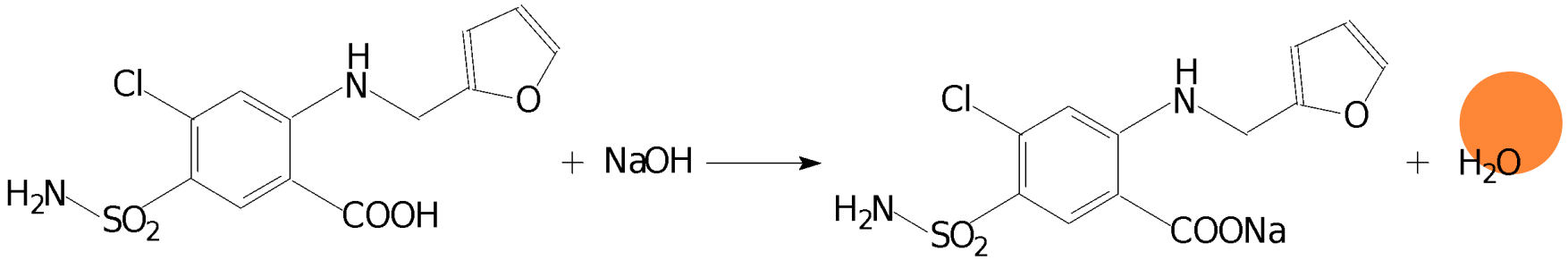
2. Реакция в колбе для титрования



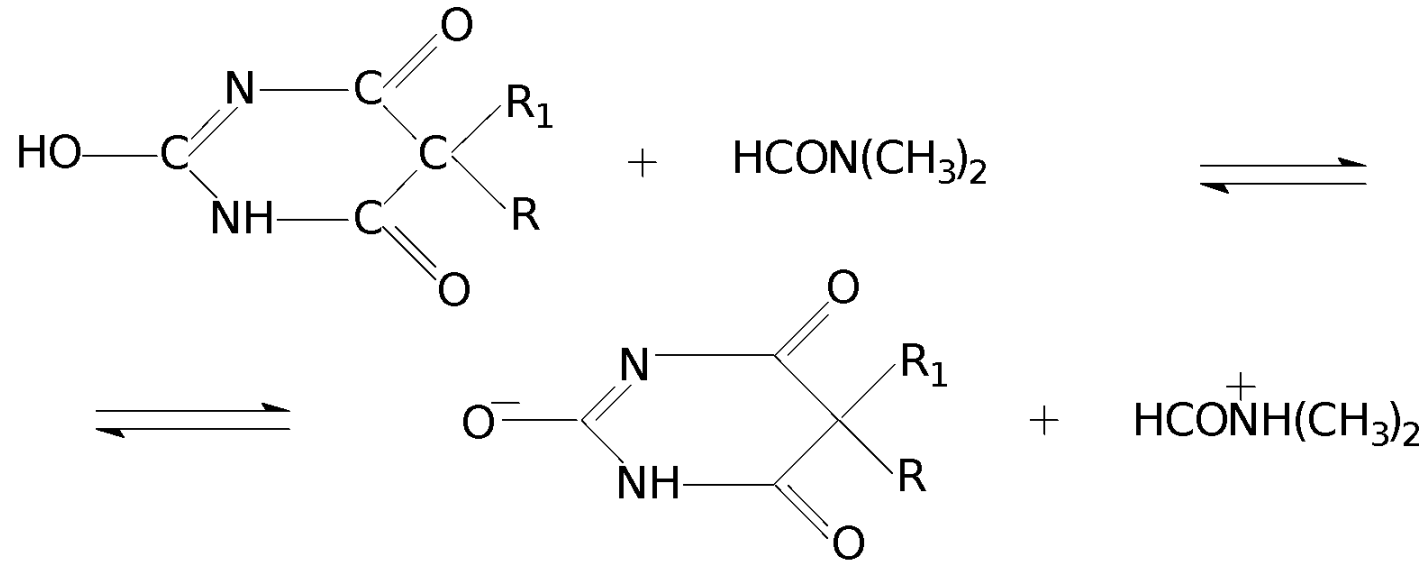
3. Реакция титрования

$CH_3O^- + HCOHN(CH_3)_2 \rightarrow CH_3OH + HCON(CH_3)_2$

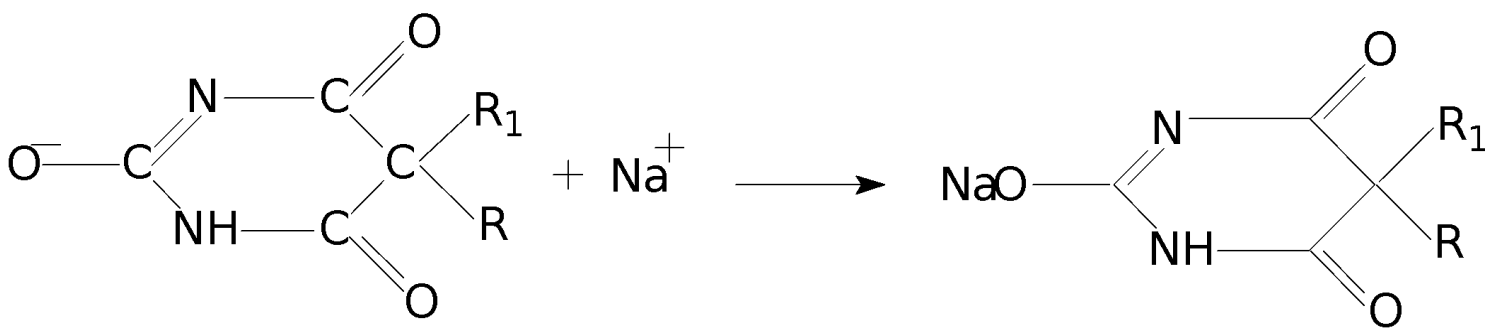
4. Реакция в точке эквивалентности



$$CH_3OH + NaOH \rightarrow Na^+ + CH_3O^- + H_2O$$



$$CH_3O^- + HCOH^+N(CH_3)_2 \rightarrow CH_3OH + HCON(CH_3)_2$$



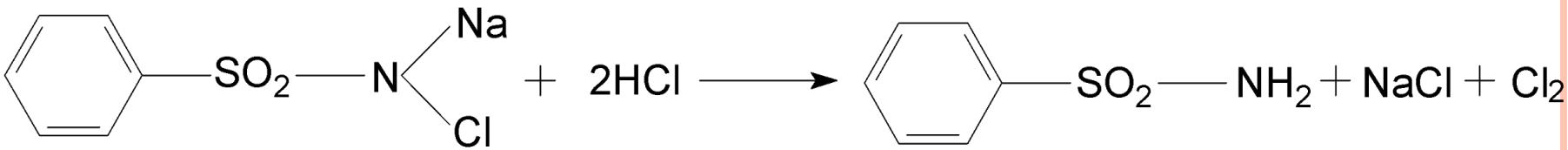
Йодометрия

1. Прямое титрование

$$I_2 + 2Na_2S_2O_3 \rightarrow 2NaI + Na_2S_4O_6$$

2. Заместительное титрование

Пример I

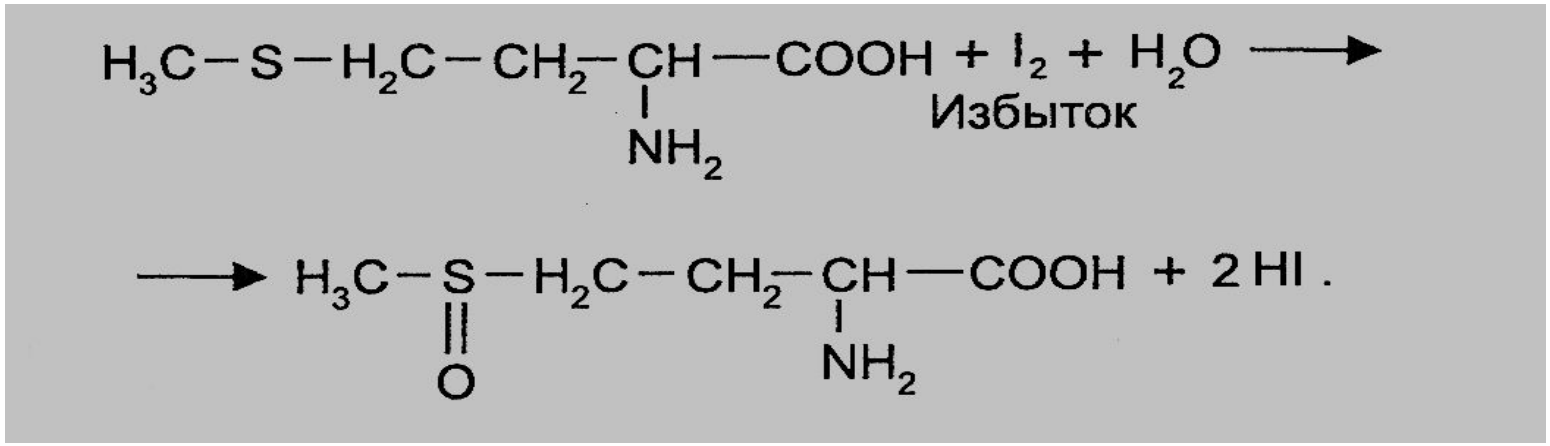


$$Cl_2 + 2KI \rightarrow I_2 + 2KCl$$
$$I_2 + 2Na_2S_2O_3 \rightarrow 2NaI + Na_2S_4O_6$$

Пример II

$$2CuSO_4 + 4KI \rightarrow 2CuI\downarrow + I_2 + 2K_2SO_4$$
$$I_2 + 2Na_2S_2O_3 \rightarrow 2NaI + Na_2S_4O_6$$

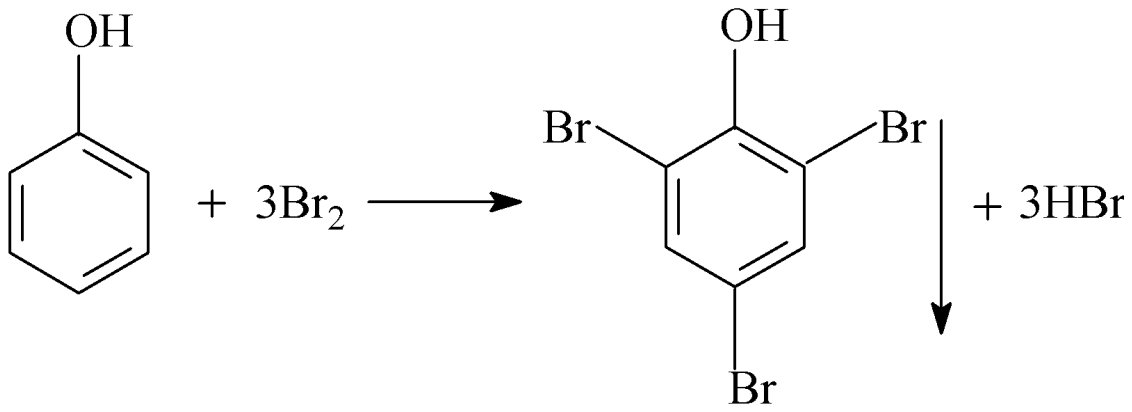
3. Обратное титрование



$$I_2 + 2Na_2S_2O_3 \rightarrow 2NaI + Na_2S_4O_6$$

Броматометрия (обратное титрование)

$$KBrO_3 + 5KBr + 3H_2SO_4 \rightarrow 3Br_2 + 3K_2SO_4 + 3H_2O$$



Избыток брома определяют йодометрически:

$$Br_2 + 2KI \rightarrow I_2 + 2KBr$$

$$I_2 + 2Na_2S_2O_3 \rightarrow 2NaI + Na_2S_4O_6$$

Перманганатометрия

$MnO_4^- + 5e + 8H^+ \rightarrow Mn^{+2} + 4\,H_2O$

Цериметрия

$Ce^{+4} + e \rightarrow Ce^{+3}$

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)

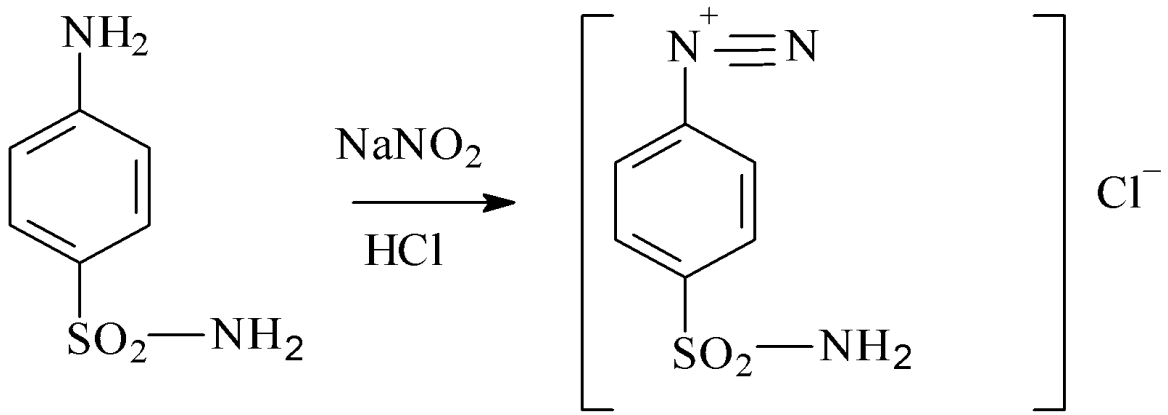
Условия – катализатор KBr; температура 18-20 ºС или 0-10ºС

Титрант – $NaNO_2$

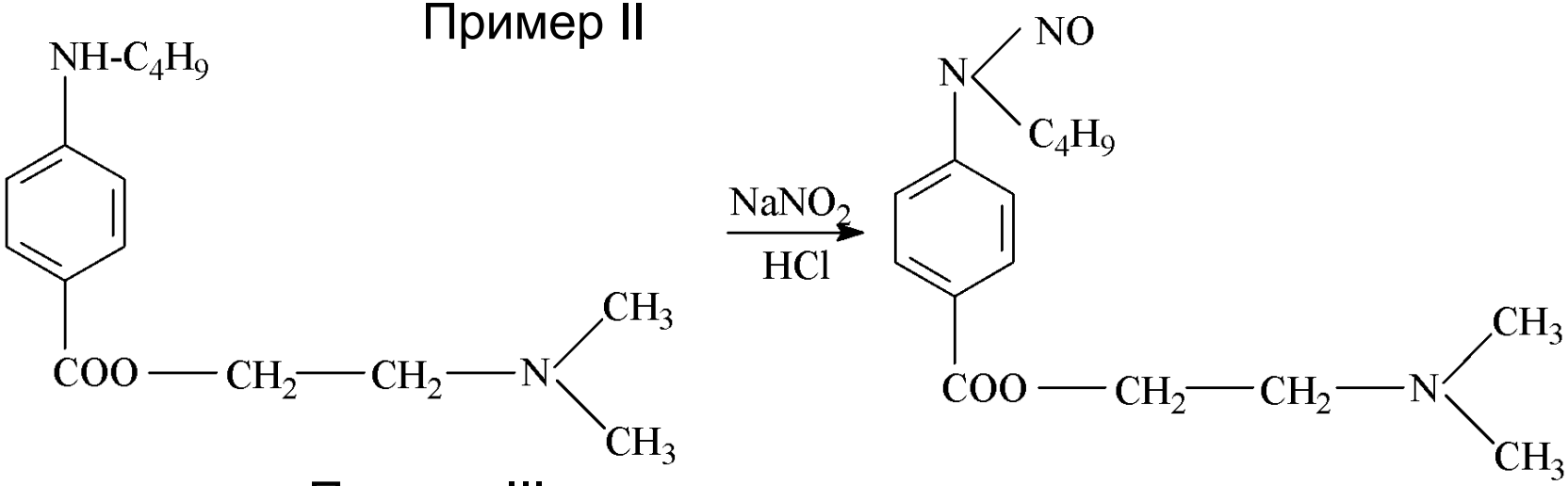
Индикатор – внутренний (тропеолин 00) или внешний (йодкрахмальная бумага)

Без индикатора – потенциометрически

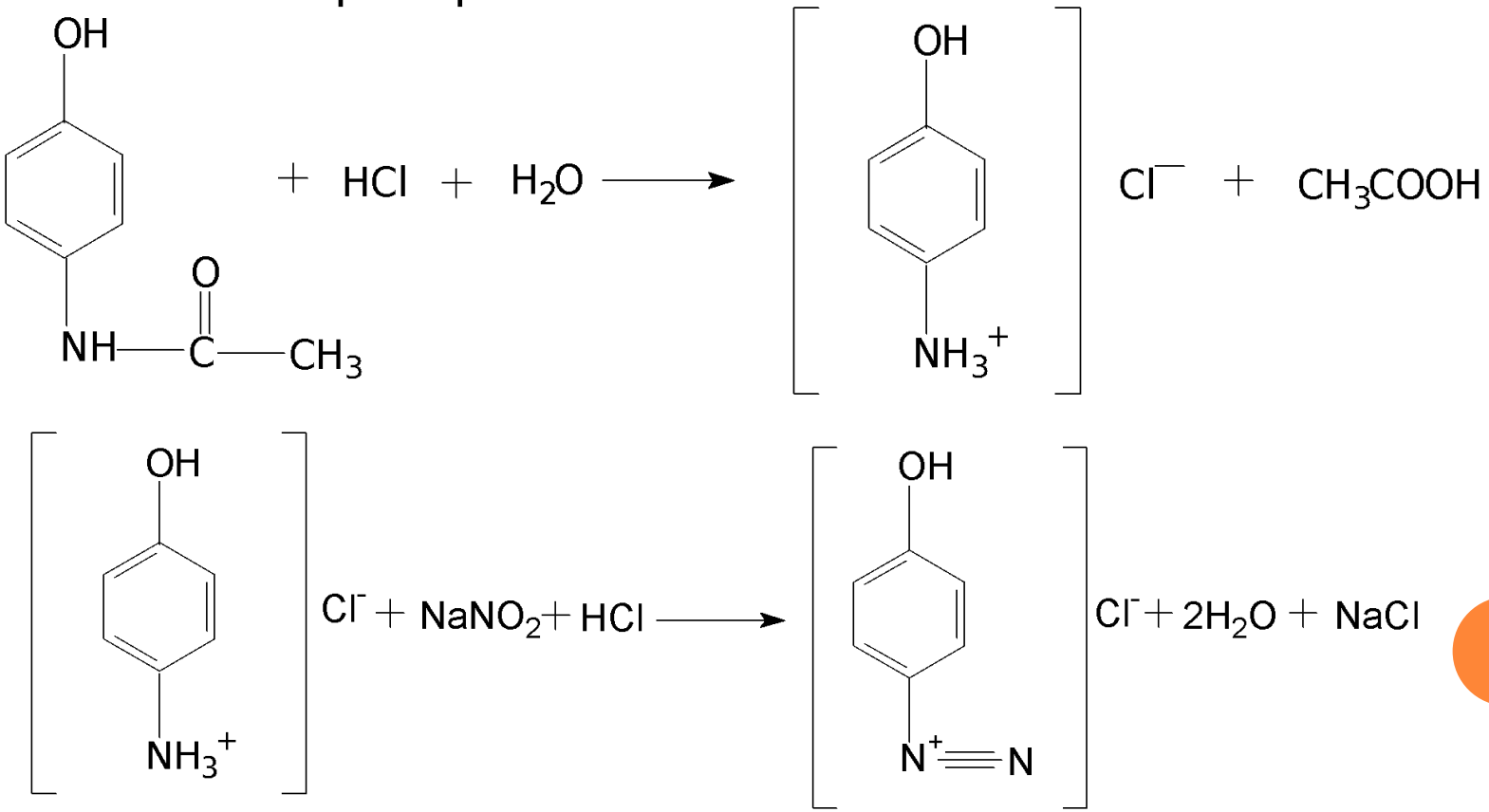
Пример I



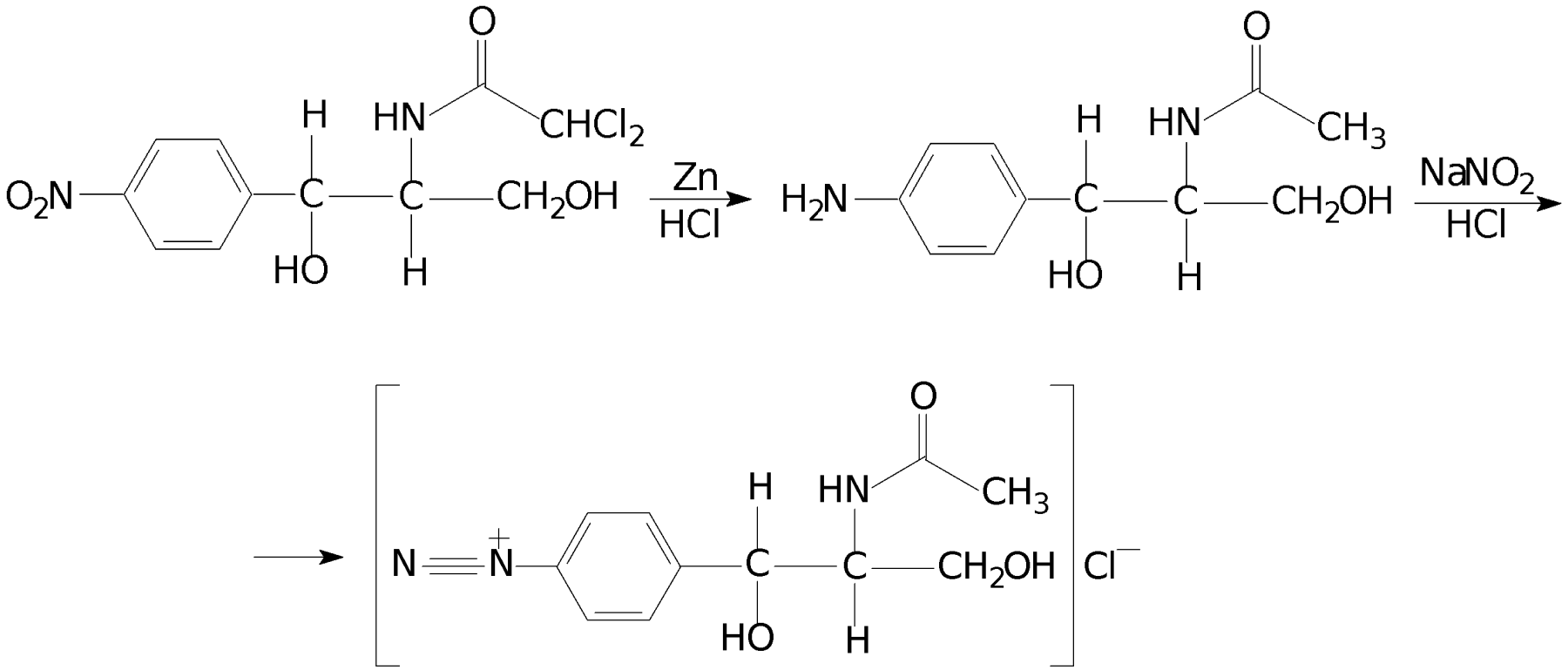
Пример II



Пример III



Пример IV


O
H
HN
CHCl2
O2N
C
C
CH2OH
HO
H
Zn
HCl
O
H
HN
CH3
H2N
C
C
CH2OH
HO
H
NaNO2
HCl
O
H
HN
CH3
N
N
C
C
CH2OH
Cl−
HO
H

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 сильнокислой среде)
  - Косвенный метод Фольгарда (метод Кольтгоффа-Стенгера) (для бромкамфоры)

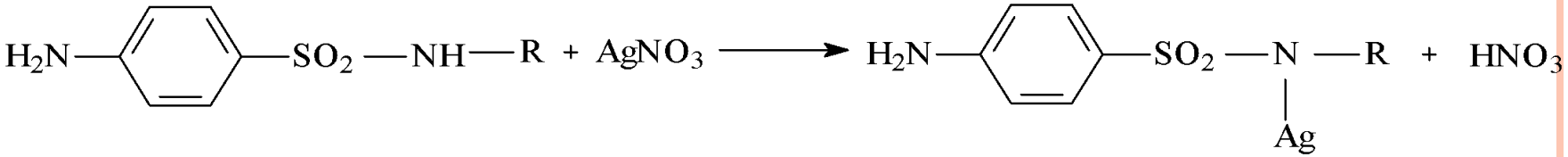
Количественное определение методом аргентометрии на примере сульфаниламидов

Среда – нейтральная

Титрант – $AgNO_3$

Индикатор – K_2CrO_4

1. Реакция титрования



$$2HNO_3 + Na_2B_4O_7 + 5H_2O \longrightarrow 4H_3BO_3 + 2NaNO_3$$

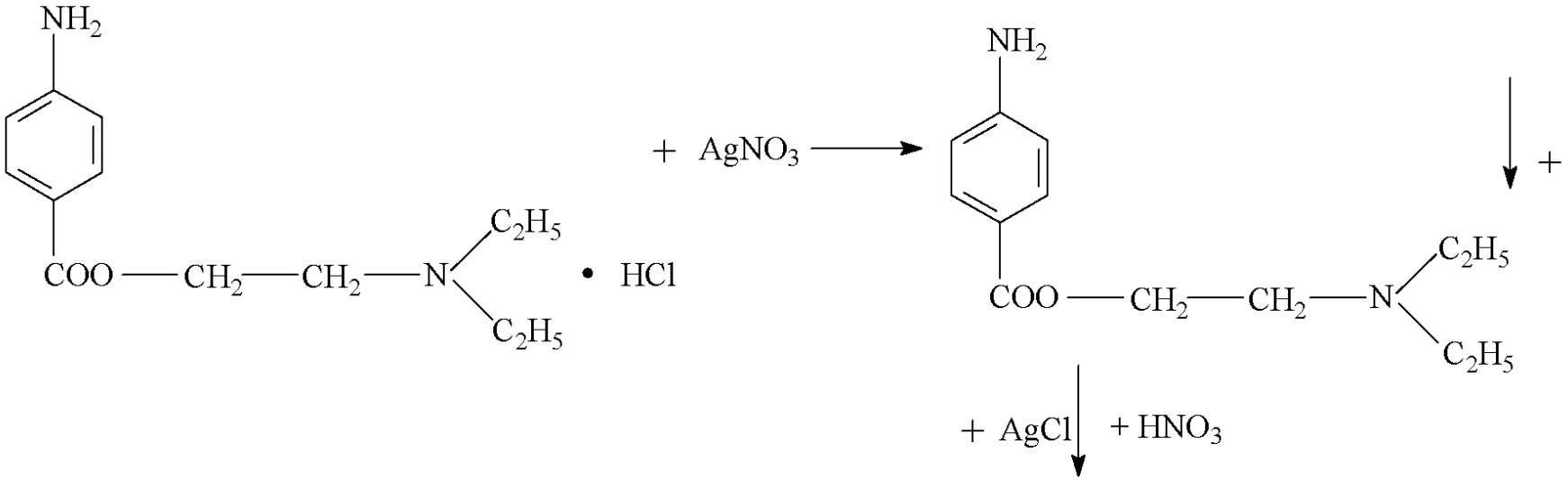
2. Реакция в точке эквивалентности

$2AgNO_3 + K_2CrO_4 \rightarrow Ag_2CrO_4 \downarrow + 2KNO_3$

избыток оранжево-желтый

Количественное определение методом аргентометрии

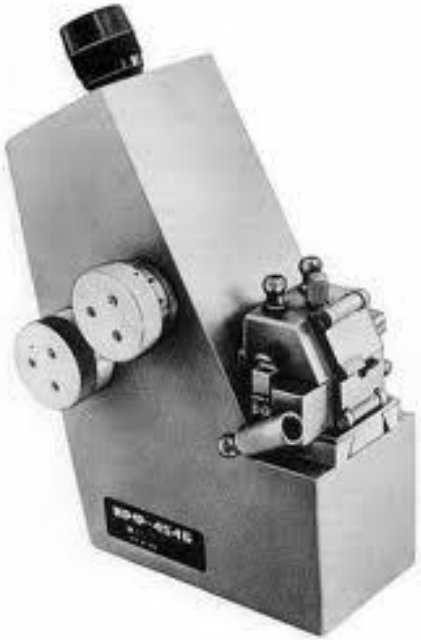
Новокаин (в присутствии эфира)



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 немонохроматического излучения – предмет фотометрии (обычно в видимой области)

Фотоэлектроколориметрия

Расчеты количественного содержания веществ:

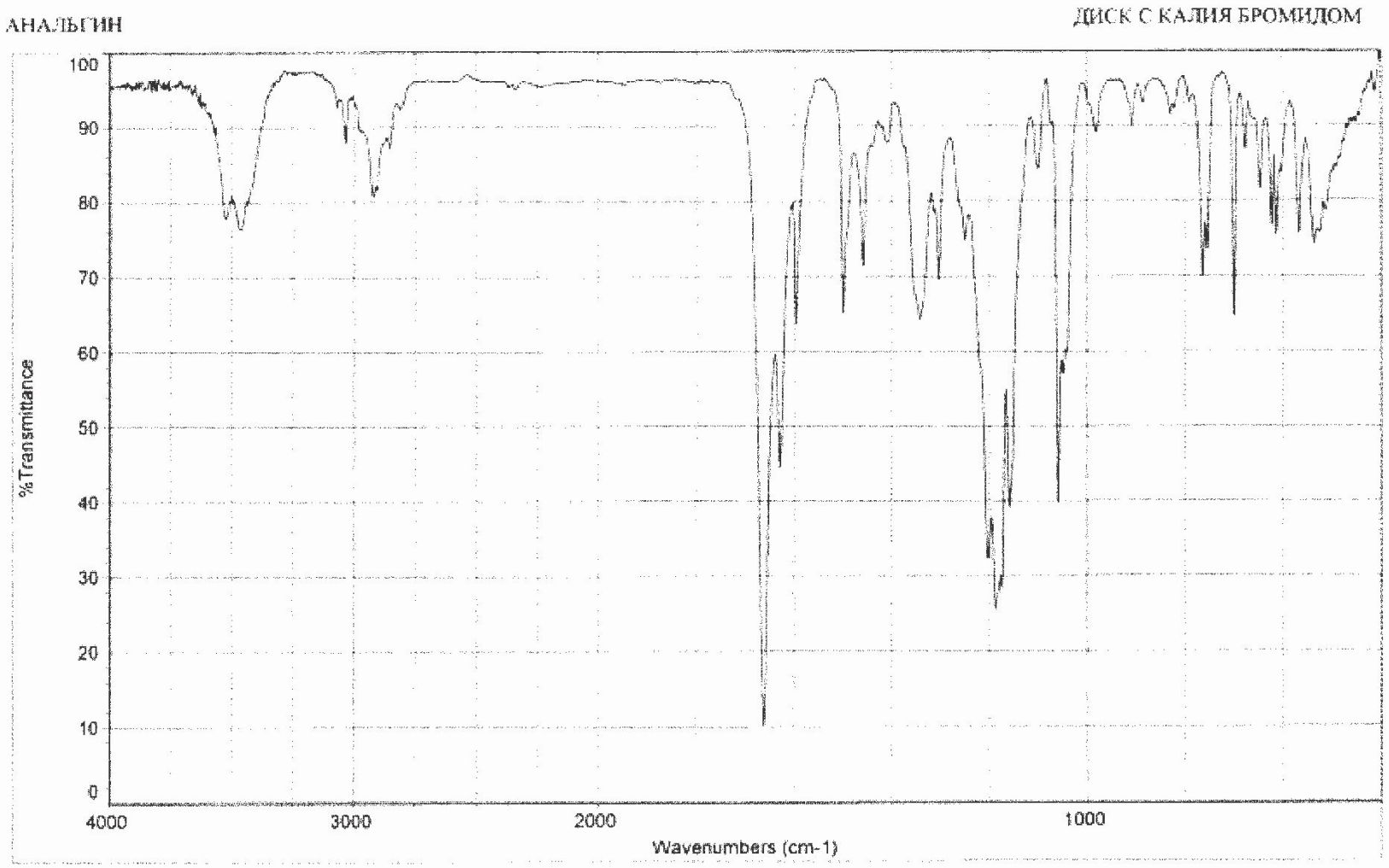
1. С применением РСО (по величине его оптической плотности или величине удельного показателя поглощения).
2. По калибровочному графику.

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
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
0
% Transmittance
4000
3000
2000
1000
Wavenumbers (cm-1)

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 ($E_{1см}^{1\%}$)

$$\tilde{N}\tilde{o} = \frac{\grave{A}}{\mathring{A}_{1\tilde{n}\grave{i}}^{1\%} \cdot l}$$

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

2. Используя стандартные образцы

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

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

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

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

4. При использовании значения удельного показателя поглощения:

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

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

Agilent
Post time 0.21 min
Method: FLY+
23.00
230
72
0

Agilent