

**КИЇВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ТАРАСА  
ШЕВЧЕНКА**

**В.О. Дорошук, С.А. Куліченко**

**КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ**

**МЕТОДИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ ДО СПЕЦКУРСУ**

**Для студентів хімічного факультету**

**КИЇВ-2024**

Рецензенти:

канд. хім. наук, доц. Кеда Т.Є. (Київський національний університет імені Тараса Шевченка)

доктор хім. наук, проф. Блажієвський М.Є. (Національний фармацевтичний університет, Харків)

*Рекомендовано до друку вченою радою хімічного факультету  
від 24 квітня 2024 року (протокол № 10)*

В.О. Дорощук., С.А. Куліченко. Фармацевтичний аналіз. Методичні рекомендації до спецкурсу.

© С.А. Куліченко, В.О. Дорощук,

© Київський національний університет імені Тараса Шевченка

## ЗМІСТ

ВСТУП	
РОЗДІЛ 1. ОРГАНІЗАЦІЯ СИСТЕМИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ	
РОЗДІЛ 2. ДЕРЖАВНА ФАРМАКОПЕЯ УКРАЇНИ	
РОЗДІЛ 3. ГРАВИМЕТРИЧНИЙ АНАЛІЗ	
<i>Лабораторна робота №1. Визначення сульфатної золи при аналізі субстанції ампіциліну тригідрату</i>	
РОЗДІЛ 4. ТИТРИМЕТРИЧНИЙ АНАЛІЗ	
4.1. Кисотно-основне титрування	
<i>Лабораторна робота №2. Титриметричне визначення соди в препараті «Бекарбон, таблетки»</i>	
4.2. Окисно-відновне титрування	
<i>Лабораторна робота №3. Йодометричне визначення вмісту основної речовини в субстанції аскорбінової кислоти</i>	
4.3. Комплексонометричне титрування	
<i>Лабораторна робота №4. Комплексонометричне визначення допоміжної речовини магнію карбонату</i>	
4.4. Аргентометричне титрування	
<i>Лабораторна робота №5. Аргентометричне визначення допоміжної речовини натрію хлориду</i>	
РОЗДІЛ 5. СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧНИЙ АНАЛІЗ	
<i>Лабораторна робота №6. Спектрофотометричне визначення рифампіцину в препараті «Рифампіцин, капсули по 150 мг»</i>	
<i>Лабораторна робота №7. Спектрофотометричне визначення заліза (III) в препараті «Фероплект, таблетки»</i>	
РОЗДІЛ 6. ЛЮМІНІСЦЕНТНИЙ АНАЛІЗ	
<i>Лабораторна робота №8. Флуориметричне визначення основної речовини в тесті «Розчинення» препарату «Дигоксин, таблетки по 0,25 мг»</i>	
РОЗДІЛ 7. РЕФРАКТОМЕТРИЧНИЙ ТА ПОЛЯРИМЕТРИЧНИЙ АНАЛІЗ	
<i>Лабораторна робота №9. Визначення питомого оптичного обертання субстанції доксицикліну хіклат</i>	
РОЗДІЛ 8. АТОМНО-АБСОРБЦІЙНИЙ ТА АТОМНО-ЕМІСІЙНИЙ АНАЛІЗ	
<i>Лабораторна робота №10. Атомно-абсорбційне визначення кальцію в тальку</i>	
РОЗДІЛ 9. ЕЛЕКТРОХІМІЧНІ МЕТОДИ АНАЛІЗУ	
9.1. Потенціометрія	
<i>Лабораторна робота №11. Потенціометричне визначення вмісту основної речовини верапамілу гідрохлориду у субстанції</i>	
9.2. Вольтамперометрія	

<i>Лабораторна робота №12.</i> Амперметричне визначення води у субстанції цефтріаксону натрієвої солі за методом К.Фішера	
9.3. Кондуктометрія	
<i>Лабораторна робота №13.</i> Кондуктометричне визначення іонних компонентів в субстанції йогексолу	
РОЗДІЛ 10. ХРОМАТОГРАФІЧНИЙ АНАЛІЗ	
10.1. Площинна хроматографія	
<i>Лабораторна робота №14.</i> Ідентифікація субстанції ібупрофену методом тонкошарової хроматографії	
10.2. Рідинна хроматографія	
<i>Лабораторна робота №15.</i> ВЕРХ-визначення вмісту основної речовини ізосорбїду динітрату в препараті «Нітросорбїд, таблетки по 10 мг»	
<i>Лабораторна робота №16.</i> ВЕРХ-визначення вмісту основної речовини цефазолїну в субстанції	
10.3. Газова хроматографія	
<i>Лабораторна робота №17.</i> Визначення залишкових кількостей органічних розчинників в субстанції етамбутолу гідрохлориду методом газової хроматографії	
ЛІТЕРАТУРА	

## ВСТУП

Фармацевтичний аналіз розглядає весь спектр проблем, пов'язаних з організацією контролю якості лікарських засобів, починаю з синтезу біологічно-активної субстанції до питань розповсюдження готових лікарських форм. Серед цих аспектів особливе місце посідають питання хімічного аналізу сировини, фармацевтичних препаратів і готових лікарських засобів. Бурхливий розвиток фармацевтичної промисловості в Україні обумовлює зростання попиту на високо кваліфікованих фахівців в галузі як класичної аналітичної хімії, так і професіоналів в області безпосередньо фармацевтичного аналізу. Підготовка таких кадрів повинна проводитись з урахуванням існуючих міжнародних та національних стандартів, новітніх досягнень науки та техніки приладобудування. Загальна зацікавленість у покращенні якості лікарських засобів, запобігання їх фальсифікації підіймає проблему до рівня державного значення.

Фармацевтичний аналіз є одним з найбільш складних аналітичних завдань. Головною складовою фармацевтичного аналізу є хімічний аналіз. Різноманітність матриць та великий спектр визначуваних речовин стимулюють появу та розвиток нових методів та методик. Крім цього виникає потреба адаптації існуючих нормативних методів аналізу до складу і фізико-хімічної структури кожного фармацевтичного препарату, що передбачає проведення у кожному конкретному випадку аналітичної дослідницької роботи (наприклад, визначення основної речовини у субстанції, таблетках, розчинах для ін'єкцій, супозиторіях, спреях тощо). Своєрідність складу та форм знаходження визначуваних компонентів ускладнює також проблему пробопідготовки. Разом з цим, сучасний рівень фармацевтичного аналізу та його організація в Україні і у світі значно вищий у порівнянні з аналізом харчових продуктів, товарів широкого вжитку тощо.

Посібник написаний спільно фахівцями кафедри аналітичної хімії Київського національного університету імені Тараса Шевченка. Автори намагалися передати специфіку хімічних і фізико-хімічних методів аналізу у реальному фармацевтичному аналізі, а запропоновані лабораторні роботи показують як сучасні досягнення фармацевтичного аналізу так і класичної аналітичної хімії.

Автори

## РОЗДІЛ 1. ОРГАНІЗАЦІЯ СИСТЕМИ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ

Якість фармацевтичних препаратів - це їх придатність до призначеного використання та відповідність усім вимогам національної реєстрації, здатність проявляти передбачений терапевтичний або профілактичний ефект після застосування однакових дозованих форм (таблеток, капсул, ампул тощо). Такий ефект можливий лише у випадку відповідності кожного препарату, який продається до препарату, що пройшов клінічні випробування, оцінку та реєстрацію. Така уніфікація забезпечується постійним дотриманням технологічних процесів та відповідністю препарату вимогам аналітичних специфікацій.

У розвинених країнах лікарські засоби виробляються приватними фірмами. У більшості з цих країн (США, Німеччина, Японія тощо) існує досконала законодавча база про лікарські засоби та нормативні документи, які визначають обов'язкові правила лабораторних та клінічних випробувань, виробництва, розповсюдження та реалізації лікарських препаратів (так звані GMP, GLP, GDP, та GPP). Важливими елементами забезпечення якості є ліцензування виробництва окремих дозованих форм при відповідності його вимогам GMP та реєстрація лікарських препаратів, які виробляються конкретним підприємством.

*Належна виробнича практика (GMP)* - сукупність організаційно-технічних заходів яка є частиною системи забезпечення якості, і гарантує, що продукція постійно вироблюється і контролюється за стандартами якості, які відповідають її призначенню та відповідно до вимог реєстраційного досьє.

*Належна клінічна практика (GCP)* - сукупність правил з планування, виконання, оцінки і документування клінічних випробувань лікарських засобів, додержання яких забезпечує точність отриманих даних, захист прав осіб, які беруть участь у випробуваннях, конфіденційність даних про цих осіб.

*Належна лабораторна практика* (GLP) - сукупність правил з планування, виконання, контролю, оцінки і документування лабораторних досліджень, які є частиною доклінічного вивчення і клінічних випробувань лікарських засобів і які забезпечують якість, точність і повноту отриманих даних.

*Належна практика дистрибуції* (GDP) - сукупність правил і вимог до дистрибуції, дотримання яких забезпечує якість лікарських засобів в процесі управління та організації їх оптової торгівлі на усіх її етапах.

Аналіз окремих серій препаратів - це надто дорога і неефективна форма державного контролю. Головним інструментом забезпечення якості вважається дотримання виробництвом вимог GMP та періодичне інспектування підприємств відповідними державними органами. Кожна виявлена серія субстандартної продукції є підставою для ретельної інспекції підприємства для встановлення проблем виробництва. Таким чином, при виробництві субстандартної продукції підприємство, крім фінансових збитків, може втратити ліцензію на виробництво лікарських засобів. Поєднання раціонального використання регулярних інспекцій фармацевтичних підприємств та методів аналітичного контролю гарантує більш ефективний та дешевий шлях до високої якості лікарських засобів, ніж аналіз окремих серій у державних лабораторіях. Тому органи контролю розвинених країн основні зусилля спрямовують на інспектування виробництва ліків, у тому числі, і у країнах-експортерах.

За часів незалежності України були створені нові національні органи з реєстрації, ліцензування, стандартизації та контролю якості лікарських засобів: Державна інспекція з контролю якості лікарських засобів та Центральна лабораторія з аналізу якості лікарських засобів. Був розроблений та впроваджений порядок ліцензування підприємств на право здійснення виробництва та реалізації ліків.

Зазнала змін форма власності фармацевтичних підприємств та аптечних закладів. Було створено багато недержавних фірм, які одержали

ліцензії і почали займатися виробництвом, оптовою та роздрібною реалізацією лікарських засобів. При цьому, ліцензії можуть отримати лише підприємства, які працюють відповідно до вимог GMP.

В середині 90-х років в Україні було прийнято Закон «Про лікарські засоби», яким закріплено ряд прогресивних положень з питань розробки, випробувань, реєстрації, виробництва та контролю якості лікарських засобів. Відповідно до Закону спеціальним органом державного контролю лікарських засобів є Державна інспекція з контролю якості лікарських засобів Міністерства охорони здоров'я України. Прийняття цього Закону наблизило умови виробництва лікарської продукції в Україні до передових країн світу.

Останнім часом спостерігається бурхливий розвиток української фармацевтичної промисловості. Однак, якість ліків в Україні залишається проблемною. Значна кількість українських підприємств працює не за стандартами GMP, а кошти, необхідні для проведення модернізації виробництва, у них відсутні. Крім того, до останнього часу при реєстрації лікарських засобів в Україні не вимагалися результати проведення досліджень з біоеквівалентності генеричних препаратів. Це призвело до відсутності кількісної оцінки ефективності вітчизняних ліків. На даний час залишається відкритою і проблема фальсифікації лікарських засобів, як вітчизняних, так і імпортованих з інших країн.

Актуальною є проблема відсутності багатьох нормативних актів щодо організації та регулювання діяльності у сфері фармації, дублювання багатьох функцій в Положеннях Державного департаменту з контролю за якістю, безпекою та виробництвом лікарських засобів і виробів медичного призначення МОЗ України та Державної інспекції.

Можна виділити три умови, що забезпечують якість, ефективність та безпечність лікарських препаратів:

1. Препарат виробництва окремої фірми у встановленому порядку зареєстрований в Україні;
2. фірма, яка виробляє або реалізує препарат, має ліцензію та проходить



регулярне інспектування стосовно дотримання належних умов виробництва та реалізації лікарських засобів;

3. препарат, що реалізується на ринку, відповідає всім вимогам, на підставі яких він був зареєстрований.

Для контролю цих умов Державна інспекція з контролю якості лікарських засобів повинна мати штат підготовлених інспекторів, мережу лабораторій з аналізу якості ліків і необхідну інформаційну підтримку. В АР Крим, областях, м. Києві і Севастополі були створені територіальні Державні інспекції з контролю якості лікарських засобів.

Створена і підпорядкована Державній інспекції Центральна лабораторія з аналізу якості лікарських засобів МОЗ України, на сьогодні за рівнем підготовки керівників і фахівців, оснащенням сучасними аналітичними приладами та організацією роботи є найкращою в своїй галузі. Завершена програма акредитації лабораторій територіальних державних інспекцій. Створені механізми, які дозволяють виявляти та проводити оперативне вилучення з обігу фальсифікованих, незареєстрованих та неякісних лікарських засобів, зміцнена матеріальна база територіальних підрозділів Державної інспекції та Центральної лабораторії з контролю якості лікарських засобів.

***РОЛЬ ЛАБОРАТОРІЙ У СИСТЕМІ КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ.*** Поряд з позитивними змінами у галузі контролю якості лікарських засобів в Україні є ще багато проблемних питань. В першу чергу – це обладнання обласних контрольних-аналітичних лабораторій Державної інспекції з контролю якості лікарських засобів, які мають слабку матеріальну базу, в них часто відсутні сучасні аналітичні прилади, комп'ютерна техніка, стандартні речовини, немає можливості проводити біологічні та мікробіологічні випробування. Для контролю якості більшості іноземних лікарських засобів використовуються сучасні методи аналізу ліків, що ґрунтуються на вимогах провідних світових фармакопей. Це високоефективна рідинна (ВЕРХ) та газо-рідина хроматографія (ГРХ), інші

інструментальні методи аналізу.

З урахуванням існуючих правових положень та ситуації на фармацевтичному ринку України, найбільш раціональним є створення дворівневої системи контролю якості лікарських засобів - на національному і регіональному рівнях.

**GLP У ЛАБОРАТОРІЯХ З КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБІВ.** Лабораторія з аналізу лікарських засобів несе відповідальність за одержані результати та зроблені на їх основі висновки щодо відповідності перевірених зразків вимогам їх специфікацій. Правильність і точність одержаних аналітичних результатів залежить від багатьох факторів: якості управління лабораторією, правильного ведення документації, рівня підготовки фахівців, якості аналітичної роботи, матеріалів, програмного забезпечення тощо. На даний час розроблені рекомендації по плануванню, управлінню, проведенню, контролю та документуванню доклінічних, клінічних досліджень та виробництва лікарських засобів (GLP, GCP та GMP). Дотримання таких рекомендацій забезпечує одержання надійних та правильних результатів відповідних досліджень та якісне виробництво ліків.

GLP може вважатися набором критеріїв та правил, які дають основу для правильної оцінки результатів та висновків, одержаних в лабораторних дослідженнях. Це підхід до управління лабораторними дослідженнями, який забезпечує запис усього, що було зроблено, у вигляді, зрозумілому для будь-якої перевірки.

Правильна оцінка якості зразків лікарських засобів залежить від наступних факторів:

1. Надання представницького зразка в лабораторію разом з точною вказівкою причини необхідності випробування;
2. Точно спланованого та ретельно виконаного аналізу;
3. Компетентної оцінки результатів аналізу для визначення відповідності зразка вимогам специфікації.

**ОРГАНІЗАЦІЙНА СТРУКТУРА.** У невеликих лабораторіях один

аналітик може відповідати за проведення всіх хімічних і фізико-хімічних випробувань та оцінку одержаних результатів. У великих лабораторіях зразок може бути розподілений між кількома спеціалізованими підрозділами, кожен з яких, відповідно до його обладнання та підготовки персоналу, проводить тільки частину аналізів. Однак у кожному випадку повинен бути "провідний підрозділ" або особа, відповідальна за розповсюдження і аналіз зразка, збір та інтерпретацію результатів.

Поділ лабораторії на підрозділи може ґрунтуватися на методах, які здебільшого використовуються (наприклад, хімічний, інструментальний, мікробіологічний підрозділи, підрозділ для біологічних випробувань), або на типах продуктів, які аналізуються (наприклад, підрозділи антибіотиків, сировини тощо). Після планування роботи необхідно провести розподіл відповідальності між підрозділами, призначити провідні підрозділи для роботи з кожним видом лікарських засобів. Однак, поділ лабораторії на підрозділи не повинен перешкоджати спілкуванню персоналу, який бере участь у випробуваннях одного зразка. Взаємний зв'язок допомагає провідному підрозділу зібрати разом всю інформацію, на підставі якої робиться висновок про якість зразка.

**ШТАТ ЛАБОРАТОРІЇ.** Керівник лабораторії та керівники підрозділів у великих лабораторіях повинні бути висококваліфікованими фахівцями, бажано з попереднім досвідом роботи в галузі аналізу лікарських засобів та управління лабораторії з аналізу ліків у регулюючих органах або промисловості. Некерівні аналітики повинні мати вищу освіту з фармації, аналітичної хімії, мікробіології або інших відповідних спеціальностей; технічний персонал - переважно дипломи технічної або професійної школи.

**АНАЛІТИЧНІ ЛИСТКИ.** Документальне підтвердження результатів аналізу оформлюється у вигляді аналітичного листка, що містить наступну інформацію:

- реєстраційний номер зразка;
- дату направлення на аналіз;

- опис одержаного зразка;
- специфікації, за якими проводився аналіз;
- одержані результати, у т. ч. будь-які необхідні розрахунки;
- інформацію про результати і кінцеві висновки.

**ВИПРОБУВАННЯ.** Випробування слід розпочинати відразу після завершення попередніх реєстраційних процедур. Якщо це неможливо, то причина повинна бути записана в аналітичному листку. Детальні рекомендації щодо методів випробування описані в загальних нотатках та монографіях офіційних фармакопей.

Якщо результат однозначно позитивний і аналітик добре володіє методикою, повторні хімічні або фізико-хімічні випробування, як правило, не потрібні для ідентифікаційних тестів, що ґрунтуються на кольорових реакціях, реакціях осадження, інфрачервоних спектрах, ультрафіолетовій ідентифікації або тонкошаровій хроматографії. Також вони не вимагаються для тестів на чистоту, що полягають у порівнянні кольору чи опалесценції із стандартами. У деяких лабораторіях, однак, тести на чистоту проводяться двічі для перевірки несподіваного забруднення. Аналізи для визначення рівня забруднення завжди повинні повторюватися, якщо вони ґрунтуються на титриметрії, гравіметрії, колориметрії, ультрафіолетовій спектрофотометрії, газорідинній або високоефективній рідинній хроматографії. Повторні вимірювання також слід проводити при дослідженні таких фізичних властивостей, як рН, оптичне обертання, показник заломлення, температура плавлення. Після проведення повторних вимірювань результати слід записувати у вигляді середнього арифметичного з одержаних значень.

Усі значення, одержані в кожному випробуванні, включаючи результати вимірювання контрольної проби, повинні відразу ж вноситися в аналітичний листок, усі графічні дані, одержані за допомогою інструментів або зроблені аналітиком, також слід додавати до аналітичного листка.

**ОЦІНКА РЕЗУЛЬТАТІВ ВИПРОБУВАННЯ.** Сертифікат аналізу лабораторії має базуватися на аналітичному листку. В ньому повинна

вказуватися назва зразка та реєстраційний номер та код, специфікація, за якою проводили випробування, перелік та результати усіх випробувань, що проводились, а також відповідність зразка вимогам специфікації. Сертифікат, який свідчить про відповідність та невідповідність зразка вимогам специфікації, повинен бути підписаний керівником лабораторії.

Зразок відповідає вимогам специфікації у випадку відповідності вимогам усіх її розділів. Будь-які розбіжності, підтвержені повторними випробуваннями, слід оцінювати з урахуванням отриманих результатів; зроблені висновки потрібно обговорити з керівником лабораторії. Зроблений запис має підписати кожен причетний до роботи аналітик.

У випадках, коли зразок препарату за отриманими результатами досліджень відповідає вимогам специфікацій, за прийняте рішення несе відповідальність керівник провідного підрозділу. Однак, у випадку невідповідності зразка за рекомендації щодо будь-яких регулюючих дій відповідає обов'язково керівник лабораторії.

**АРХІВНІ ЗРАЗКИ.** Архівні зразки лікарських препаратів та субстанцій повинні завжди зберігатися в лабораторії (при можливості в оригінальній упаковці) для використання у випадках, коли результати аналізу піддаються сумніву.

**БІБЛІОТЕКА СПЕЦИФІКАЦІЙ.** Кожна лабораторія з контролю якості ліків повинна користуватися поточними версіями всіх необхідних специфікацій, які містяться у фармакопях або реєстраційних документах виробників. У великих лабораторіях за бібліотеку специфікацій відповідає служба документації, яка забезпечує своєчасне оновлення всіх фармакопей та підготовку збірки специфікацій для всіх ліків.

Специфікації виробника є власністю компанії і в деяких країнах надаються державним органам виключно для реєстрації. У цьому випадку лабораторії з контролю якості необхідно домовлятися про їх використання або навіть в окремих випадках розробляти незалежні специфікації. В інших країнах Державну лабораторію звичайно просять дати для відповідних

національних органів оцінку специфікаціям на кожен новий продукт при його реєстрації.

**РЕАКТИВИ.** Усі реактиви, у тому числі розчинники, що використовують в аналізах повинні мати необхідну якість. Повинні бути розроблені та обов'язково виконуватися правила безпеки при зберіганні або використанні токсичних чи вогненебезпечних реагентів. Ємності з отруйними речовинами і прекурсорами, наркотичними або психотропними засобами повинні бути відповідно марковані та зберігатися окремо від інших реактивів у закритих камерах. Реєстр цих речовин має вести відповідальна особа. Керівник кожного підрозділу повинен персонально відповідати за безпеку знаходження будь-якого з цих реактивів у робочій зоні.

Реактиви, що готують в лабораторії, повинні вироблятися відповідно до встановлених процедур та опублікованих фармакопейних або інших стандартів. На кожній етикетці слід позначати склад, виробника, дату одержання; за можливості, концентрацію, коефіцієнт перерахунку, термін придатності та умови зберігання. На етикетках до титрованих розчинів, приготованих шляхом розведення, слід наводити назву виробника концентрату, дату приготування та прізвище відповідального технічного співробітника або використовувати відповідні шифри та коди.

**СТАНДАРТНІ РЕЧОВИНИ.** Інформація про всі стандартні речовини повинна зберігатись у центральному реєстрі. У великій лабораторії ці обов'язки мають бути покладені на спеціальну особу, яку називають координатором по стандартних речовинах. Національна лабораторія, яка планує постачати стандартні речовини для інших інститутів або виробників, повинна створити окремий підрозділ стандартних речовин, який буде виконувати всі обов'язки координатора.

Реєстр повинен містити інформацію не тільки про офіційні стандартні речовини та стандартні еталони, але і про вторинні стандартні зразки та неофіційні матеріали, приготовлені в лабораторії як робочі стандарти. Кожній серії стандарту, що надходить, слід присвоювати номер і додавати до

неї точний опис матеріалу, джерело його надходження, дату одержання, номер серії та ідентифікаційний код, вірогідне використання матеріалу (стандарт для інфрачервоного спектра, стандарт домішок для тонкошарової хроматографії та ін.), місце в лабораторії, де він зберігається, та особливі умови зберігання.

До реєстру повинна бути повна інформація про властивості стандартної речовини (у вигляді листків безпеки SDS). У випадку робочого стандарту, виготовленого в лабораторії, інформація повинна включати результати всіх проведених випробувань та перевірок і підпис відповідального аналітика.

**ІНСТРУМЕНТИ ТА ЇХ КАЛІБРУВАННЯ.** Аналітичні інструменти можуть бути згруповані разом, або розподілені між різними підрозділами. Вибір буде залежати від типів інструментів, їх вартості, терміну їх використання та підготовки персоналу, який з ними працює.

Суттєвим є регулярне калібрування всіх інструментів, які використовують для вимірювання фізичних властивостей речовин. Повинен бути встановлений спеціальний розклад калібрування для всіх типів інструментів протягом усього часу їх використання. Точний детальний опис алгоритму роботи повинен бути розміщений поряд з кожним інструментом разом з розкладом дат обов'язкового калібрування, картою обслуговування приладу.

## **РОЗДІЛ 2. ДЕРЖАВНА ФАРМАКОПЕЯ УКРАЇНИ**

У кожній країні основним документом, що нормує та визначає якість лікарських засобів, є Державна фармакопея (національна). Окрім національних, існують фармакопеї, які сприяють уніфікації номенклатури і вимог до якості лікарських засобів, що виробляються в різних країнах регіону. На даний час розроблені Міжнародна, Європейська, Британська, Американська фармакопеї тощо. Європейська фармакопея має законодавчий характер для країн Європейського співтовариства, але не замінює національних фармакопей. Ідея створення Міжнародної фармакопеї

викликана необхідністю уніфікації номенклатури і вимог до якості лікарських засобів у всіх країнах світу. На відміну від національних фармакопей вимоги Міжнародної фармакопеї мають не законодавчий, а рекомендаційний характер. В Україні створена власна Державна фармакопея (ДФУ), узгоджена з Європейською фармакопеєю.

Державна фармакопея України - це правовий акт, який містить загальні вимоги до лікарських засобів, фармакопейні статті (монографії), а також методики контролю якості лікарських засобів. ДФУ має законодавчий характер, її вимоги, висунуті до лікарських засобів, обов'язкові для всіх підприємств і установ України, що виробляють, зберігають, контролюють, реалізують і застосовують лікарські засоби, незалежно від форм власності.

Головна відмінність ДФУ від Державної фармакопеї СРСР полягає у тому, що в її основу будови покладено концепцію Європейської фармакопеї, з якою вона повністю узгоджена. Європейська фармакопея передбачає обов'язкове виробництво лікарських засобів відповідно до вимог належної виробничої практики (GMP). Дотепер в Україні ще не створені умови для повного переходу виробництва на обов'язкове виконання цих вимог. Це доводиться певною мірою компенсувати жорсткістю вимог до якості кінцевого продукту.

Загальні та окремі статті ДФУ побудовані у вигляді двох взаємопов'язаних частин: європейської - ідентичної відповідній статті Європейської фармакопеї (адаптований переклад матеріалу) і національної, позначеної літерою N, яка відбиває національну специфіку України (додаткові випробовування, інформаційні та інші матеріали).

Національна частина не суперечить європейській, а містить додаткові вимоги (вже чинні в Україні) для лікарських засобів, що випускаються в умовах, які не відповідають GMP. Вимоги національної частини не застосовують до лікарських засобів, що випускають в умовах GMP, визнаних у Європейському співтоваристві.

Державна фармакопея України складається з таких розділів:



1. Загальні зауваження (загальні положення та інші положення, що поширюються на загальні статті і монографії, включені до фармакопеї).

2. Методи аналізу.

2.1. *Обладнання.*

2.2. *Фізичні та фізико-хімічні методи*, в якому охарактеризовано методи та наведено методики випробувань, у т.ч. стаття «Валідація аналітичних методик і випробувань».

2.3. *Ідентифікація* (наведено методики проведення реакцій ідентифікації іонів і функціональних груп).

2.4. *Випробування на граничний вміст домішок.*

2.5. *Методи кількісного визначення.* В цьому підрозділі охарактеризовано деякі методи кількісного визначення і подано методики встановлення певних характеристик випробуваних речовин.

2.6. *Біологічні випробування* - наведено методики проведення біологічних та мікробіологічних досліджень.

2.7. *Біологічні методи кількісного визначення.* Підрозділ регламентує методики визначення активності антибіотиків.

2.9. *Фармако-технологічні випробування* - характеризує загальні вимоги до якості лікарських форм.

4. Реактиви. Розділ включає відомості про реактиви, еталонні розчини для випробування на граничний вміст домішок, буферні розчини, вихідні стандартні речовини для титрованих розчинів, титровані розчини, індикатори.

Якщо найменування реактиву або розчину реактиву супроводжується літерою Р та виділене курсивом, це значить, що реактив внесений до переліку ДФУ. Специфікації, наведені для реактивів, не дозволяють використовувати останні як лікарські засоби.

В описі кожного реактиву є семизначний код, виділений курсивом (приміром, 1002501), Цей номер залишається незмінним для кожного реактиву за будь-яких подальших переглядів переліку. Він може бути

використаний для ідентифікації реактиву та, приміром, при обліку та складуванні реактивів. Опис може також містити номер Chemical Abstract Service Registry (CAS), який легко впізнати за характерним позначенням, наприклад, 9002-93-1

Деякі з реактивів, внесених до переліку, є токсичними і при роботі з ними необхідно дотримуватись відповідних застережних заходів.

Водні розчини реактивів готують із використанням *води Р*. Якщо розчин реактиву описано висловом типу "*розчин 10 г/л кислоти хлористоводневої*", розчин готують відповідним розведенням водою Р більш концентрованого розчину реактиву, наведеного у цьому ж розділі. Розчини реактивів, використовувані для випробувань на граничний вміст барію, кальцію та сульфати, готують із використанням *води дистильованої Р*. Якщо розчинник не вказано, мається на увазі водний розчин.

5. Загальні тексти. В цей розділ увійшли підрозділи, які стосуються методів приготування стерильних продуктів, умов стерилізації та методик перевірки мікробіологічної чистоти.

Розділ «Монографії» містить мінімальний державний стандарт вимог до 100 наведених у ньому субстанцій.

Розділ «Загальні статті на лікарські форми та субстанції» містить загальні вимоги до субстанцій та лікарських форм.

До Державної фармакопеї України вперше введено статтю «Субстанції<sup>N</sup>». Субстанція - стандартизована біологічно активна речовина або стандартизована суміш біологічно активних речовин, яка використовується для виробництва готових лікарських засобів.

Якість субстанції регламентується вимогами відповідної монографії ДФУ і/або аналітичного нормативного документа (АНД), затвердженого уповноваженим органом. У випадку, коли субстанція певного виробника має Сертифікат відповідності монографії Європейської фармакопеї або аналогічний дозвіл уповноваженого органу, її якість може контролюватися безпосередньо за відповідною монографією ДФУ. У решті випадків якість

субстанцій контролюється за АНД (фармакопейними статтями), затвердженими уповноваженим органом. Рівень вимог даного АНД має бути не нижчим за вимоги відповідної монографії ДФУ.

Вимоги кожної монографії або АНД враховують конкретні технології виробництва субстанцій з відповідними профілями домішок. Тому за вимогами даної монографії можуть контролюватися лише субстанції, отримані за конкретними технологіями, що має бути підтверджено Сертифікатом відповідності монографії Європейської фармакопеї для даної субстанції або аналогічним дозволом уповноваженого органу.

Зміни технології виробництва субстанцій, які можуть призвести до появи інших домішок, потребують відповідних змін у АНД чи монографіях, які б дозволили підтвердити якість субстанцій, вироблених за таких умов.

АНД на субстанції звичайно містить такі розділи:

1. Склад.
2. Специфікація
3. Опис.
4. Розчинність.
5. Ідентифікація.
6. Температура плавлення\*
7. Температура кипіння або температурні інтервали перегонки\*.
8. Температура кристалізації\*.
9. Відносна густина (густина)\*.
10. Питоме оптичне обертання (оптичне обертання)\*
11. Питомий показник поглинання\*
12. Показник заломлення\*.
13. В'язкість\*.
14. Показники якості розчину: прозорість; кольоровість; кислотність (лужність), або рН.
15. Супровідні домішки: конкретно зазначені домішки; сумарний вміст домішок.

16. Залишкові кількості органічних розчинників.
17. Неорганічні аніони (хлориди, сульфати, нітрати і т. д.)\*.
18. Втрата в масі при висушуванні або вода.
19. Загальна зола або сульфатна зола.
20. Важкі метали.
21. Мікробіологічна чистота (або стерильність).
22. Пірогени\* (бактеріальні ендотоксини)\*.
23. Кількісне визначення.
24. Пакування.
25. Маркування.
26. Транспортування.
27. Зберігання.
28. Термін придатності.
29. Основна фармакологічна дія.

### **РОЗДІЛ 3. ГРАВИМЕТРИЧНИЙ АНАЛІЗ**

Гравіметричний аналіз базується на вимірюванні маси речовини відомого складу, утвореної з досліджуваної речовини або вилученої з препарату, який аналізують. Для кількісного визначення лікарських речовин найчастіше застосовують метод осадження (рідше — методи відгонки або екстракції), який ґрунтується на осадженні аналізованої речовини у вигляді малорозчинної сполуки відомого складу з подальшим фільтруванням, прожарюванням (або висушуванням) та зважуванням отриманого продукту.

Головною перевагою гравіметричного методу є його висока точність. Однак, у кожному окремому випадку ступінь точності залежить від багатьох факторів -розчинності осаду, співосадження тощо. До недоліків методу треба віднести велику трудоемність, тривалий час аналізу, а також досить низьку селективність у випадку аналізу багатокомпонентних сумішей.

Вимоги до осадів:

1. Осад повинен бути практично нерозчинним. Визначуваний

компонент повинен переходити в осад кількісно, при цьому його концентрація в розчині після осадження не повинна перевищувати  $10^{-6}$  моль/л.

2. Осад повинен виділятися у формі, зручній для його відділення від розчину й подальшого промивання; по можливості, мати кристалічну структуру. У випадку використання аморфних осадів для гравіметричного визначення необхідно щоб вони були добре скоагульовані.

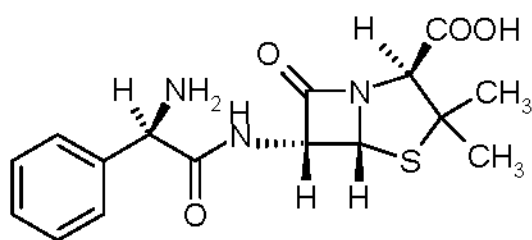
3. Осад повинен бути чистим і не містити сторонніх домішок.

4. Осад повинен бути стехіометричною сполукою відомого складу.

Гравіметрія застосовується при аналізі таких лікарських речовин, як натрію сульфат, солі хініну, солі бензилпеніциліну, прогестерону, тіамін броміду тощо. Класичним завданням гравіметрії у фармацевтичному аналізі є визначення сульфатної золи, тобто вмісту неорганічних компонентів у субстанціях органічного походження.

### Лабораторна робота №1

#### Визначення сульфатної золи при аналізі субстанції ампіциліну тригідрату



**Ампіцилін**

$3\text{H}_2\text{O}$

Ампіциліну тригідрат -  
(2S,5R,6R)-6-[[[(2R)-2-аміно-2-  
фенілацетил]аміно]-3,3-  
диметил-7-оксо-4-тіа-1-  
азабіцикло[3.2.0]гептан-2-  
карбонової кислоти.

Ампіцилін – напівсинтетичний антибіотик групи пеніцилінів. Здійснює бактерицидну дію шляхом конкурентного блокування транспептидаз, які беруть участь у синтезі мукопептиду, що входить до складу клітинних мембран.

### Реактиви та обладнання.

1. *Кислота сірчана Р*. Містить не менше 95,0% (м/м) і не більше 97% (м/м)  $\text{H}_2\text{SO}_4$ .
2. Тиглі фарфорові.
3. Терези аналітичні.

### Хід роботи.

Близько 1г (точна наважка) ампіциліну тригідрату поміщають у попередньо прожарений і зважений фарфоровий тигель, змочують 1 мл *кислоти сірчаної Р*, обережно нагрівають на полум'ї або на піщаній бані до видалення пари *кислоти сірчаної* і прожарюють при температурі  $(600 \pm 25)^\circ\text{C}$  до зникнення темних часток. Після закінчення спалювання тигель охолоджують в ексікаторі, зважують і обчислюють вміст зольного залишку у випробовуваній речовині:

$$X(\%) = (m_1 - m_0) \cdot 100 / m_{\text{н-кв}}$$

де  $m_0$  – маса тигля, г;

$m_1$  – маса тигля з зольним залишком г;

$m_{\text{н-кв}}$  – маса наважки, г.

Якщо вміст золи перевищує 0,5%, залишок знову змочують 1 мл *кислоти сірчаної Р*, нагрівають і спалюють, як описано вище, і знову обчислюють вміст золи. Продовжують спалювання до постійної маси.

## РОЗДІЛ 4. ТИТРИМЕТРИЧНИЙ АНАЛІЗ

Суть титриметричного аналізу полягає у вимірюванні об'єму розчину реактиву відомої концентрації, який витрачено на взаємодію з розчином досліджуваної речовини. Кількість останньої розраховують за рівнянням хімічної реакції. Титриметричні методи застосовують у фармацевтичному аналізі найширше, оскільки вони не потребують великих затрат часу, зручні й забезпечують достатній ступінь точності. Крім того, можливість використання різних типів реакцій забезпечує придатність титриметрії для визначення широкого кола біологічно-активних субстратів різної природи.

Концентрацію стандартних розчинів у більшості випадків виражають через молярність і титр.

*Молярність (M)* - кількість молей розчиненої речовини, що міститься в 1 л розчину.

*Титр* - виражена в грамах маса розчиненої речовини, яка міститься в 1 мл розчину. Титр розраховують, як відношення маси розчиненої речовини до об'єму розчину (розмірність - г/мл).

*Титр титранту за визначуваною речовиною* - це виражена в грамах маса визначуваної речовини, що взаємодіє з 1 мл титрованого розчину (розмірність - г/мл).

Титр за визначуваною речовиною розраховується за формулою:

$$T = M \cdot E / 1000$$

де  $M$  - молярність титрованого розчину, моль/л;

$E$  - молярна маса еквіваленту визначуваної речовини, г/моль.

У випадку, коли концентрація приготовленого розчину відрізняється від теоретичної (внаслідок складності виготовлення або змін у результаті зберігання), розраховують коефіцієнт поправки до молярності.

Коефіцієнт поправки ( $K$ ) показує, у скільки разів концентрація виготовленого розчину відрізняється від теоретичної. Допускається коефіцієнт поправки в межах від 0,98 до 1,02.

За способом проведення розрізняють методи прямого, зворотнього і непрямого титрування.

*Пряме титрування* базується на безпосередньому вимірюванні об'єму титрованого розчину, витраченого на взаємодію з речовиною, що визначають.

Вміст речовини розраховують за формулою:

$$X(\%) = V \cdot K \cdot T \cdot 100 / m,$$

де  $V$  - об'єм титранту, витрачений на титрування, мл;

$K$  - коефіцієнт поправки;

$T$  - титр титрованого розчину за речовиною, що визначають, г/мл;

$m$  - маса наважки визначуваної речовини, г.

*Обернене титрування* використовують у випадках уповільненої реакції між визначуваною речовиною та титрантом або при визначенні летких речовин. В цьому випадку два об'єми: об'єм титрованого розчину I, який реагує з визначуваною речовиною і додається в надлишку, та об'єм титрованого розчину II, яким відтитровують надлишок розчину I.

Розрахунок вмісту речовини проводять за різницею між відповідними об'ємами:

$$X(\%) = (V_1 \cdot K_1 - V_2 \cdot K_2) \cdot T \cdot 100 / m,$$

де  $V_1$  - об'єм титрованого розчину I, мл;

$V_2$  - об'єм титрованого розчину II, мл;

$K_1$  та  $K_2$  - коефіцієнти поправки;

$T$  - титр розчину I за визначуваною речовиною, г/мл;

$m$  - маса наважки визначуваної речовини, г.

В окремих випадках при виконанні титриметричного визначення необхідне проведення контрольного дослідження. Якщо в методиці немає особливих вказівок, контрольний дослід полягає в точному відтворенні методики, але без додавання визначуваної речовини. Контрольний дослід необхідний для одержання більш точних результатів при визначеннях, пов'язаних з уповільненими реакціями (частіше при зворотному титруванні), при застосуванні стандартних розчинів сильних окисників, летких речовин та в деяких інших випадках.

Об'єм титрованого розчину, який прореагував з речовиною, розраховують:

а) при прямому титруванні за різницею ( $V - V_k$ );

б) при зворотному титруванні за різницею ( $V_k - V$ ),

де  $V$  - об'єм титрованого розчину, витраченого в основному досліді;  $V_k$  - об'єм титрованого розчину, витраченого в контрольному досліді.

#### 4.1. Кислотно-основне титрування



Більшість біологічно-активних речовин за своєю природою є кислотами або основами, що зумовлює широке використання кислотно-основного титрування для їх визначення. Згідно з теорією Бренстеда і Лоурі, кислотно-основні реакції здійснюються за рахунок переносу протона від кислоти до основи. Тобто, кислота є донором, а основа - акцептором протонів.

За методом кислотно-основного титрування можна визначати сильні та слабкі кислоти і основи, солі сильних основ і слабких кислот та слабких основ і сильних кислот. Сила кислоти або основи значною мірою залежить від кислотно-основних властивостей розчинника. У будь-якому розчиннику найсильнішою кислотою є сольватований протон — іон ліолію, а найсильнішою основою — іон ліату (аніон розчинника). Так, у водному розчині найсильнішою кислотою є іон гідроксонію  $\text{H}_3\text{O}^+$ , а найсильнішою основою — іон гідроксилу  $\text{OH}^-$ ; у рідкому амоніаку найсильніша кислота — іон амонію  $\text{NH}_4^+$ , а найсильніша основа — амід-іон  $\text{NH}_2^-$ ; у льодяній оцтовій кислоті найсильніша основа — ацетат-іон  $\text{CH}_3\text{COO}^-$ , а найсильніша кислота — іон ацетонію  $\text{CH}_3\text{COOH}_2^+$ .

При кислотно-основному титруванні у точці еквівалентності спостерігається різка зміна (стрибок) рН, яку можна зафіксувати інструментальними методами (наприклад, потенціометричним) або візуально за допомогою кислотно-основних індикаторів. Індикатори кислотно-основних методів – це слабкі органічні кислоти або основи, які за певних характерних для кожного індикатора, значень рН, дисоціюють на іони:



Характерною особливістю кислотно-основних індикаторів є різне забарвлення молекулярної та іонної форм барвника. Таким чином, індикатори змінюють своє забарвлення за певних значень рН. Кількісною характеристикою індикаторів методу кислотно-основного титрування є показник титрування – рТ. При титруванні індикатор підбирають таким чином, щоб його рТ був найбільш близьким до рН розчину у точці



Азотна	0.2	3.17	3.75									4.66	
Хлористоводн	0.8	1.05	1.95		3.10	5.50				8.	2.47	8.30	
Бромистоводн	0.2				2.0	5.0							
Оцтова	4.75	9.70	10.4	10.	11.3	14.2	8.32	9.1	11.1	12.	10.2	16.6	6.91
Монохлороцто	2.86	7.80	8.51	8.5	9.23	12.2	6.05		9.10	11.	7.60	15.4	4.50
Дихлороцтова	1.31	6.30	7.14	7.3	7.80	10.2	4.50			10.		10.2	
Трихлороцтов	0.70	4.90	5.70	6.3					5.90	8.2		8.86	1.46
Фенілоцтова	4.31						8.06	8.7					6.57
Мурашина	3.75		9.15			8.82			9.70			16.7	5.74
Бензойна	4.20	9.52	10.1	10.		15.1	8.16	8.8	10.7	11.	9.70	16.6	6.36
п-	3.40	8.40	8.87	9.1	9.60	12.0				10.	8.09		5.88
м-	3.46	8.30	9.0	9.1		9.20				10.	8.03		5.40
п-	4.92												
Саліцилова	2.89	7.90	8.60	7.7		9.53			8.90	9.5	7.22	13.0	4.73
Апетилсаліцил	3.50											16.3	
Нікотинова	4.73									16.		15.0	

За характером участі у кислотно-основному процесі розчинники можна розділити на дві групи: апротонні та протонні.

*Апротонні розчинники* - це розчинники, які не здатні ні віддавати ні приєднувати протон. Вони не вступають у взаємодію з розчиненою речовиною (бензол, толуол, гексан, дихлоретан, хлороформ, тетрахлорметан). Апротонні розчинники часто додають до іонізуючих розчинників для пригнічення сольволізу, що у багатьох випадках сприяє більш чіткому встановленню кінця титрування.

*Протонні розчинники* - це розчинники, які здатні віддавати або приєднувати протони. Протонні розчинники додатково можна розділити на три групи.

1. Амфіпротонні розчинники, які можуть як віддавати, так і приєднувати протон (вода, одно- та багатоатомні спирти, інші сполуки), їх використовують для титрування речовин як кислотного, так і основного характеру.

2. Протогенні, або кислі, розчинники, у яких здатність віддавати протон значно перевищує здатність його приєднувати (мурашина, оцтова, пропіонова та інші кислоти). Вони посилюють основні властивості сполук.

3. Протофільні, або основні, розчинники, у яких акцепторні властивості

відносно протона переважають над донорними (піридин, диметилформамід, етилендіамін, діоксан та ін.).

Критерієм можливості проведення кислотно-основного титрування та правильності вибору розчинника є константа титрування  $K_T$ , яка визначається двома основними величинами:

- константою дисоціації розчиненої речовини ( $K_a$  або  $K_b$ );
- константою автопротолізу розчинника або іонним добутком розчинника ( $K_i$ ).

З урахуванням констант дисоціації кислот та основ у різних неводних розчинниках і іонних добутків цих розчинників можна розрахувати у кожному окремому випадку величину  $pK_T$ :

- для кислот:  $K_T = K_i/K_a$  або  $pK_T = pK_i - pK_a$ ;
- для основ:  $K_T = K_a$  або  $pK_T = pK_a$ .

Чим більша величина  $pK_T$ , тим кращі умови титрування.

Найкращі умови титрування слабких кислот досягаються в основних неводних розчинниках (піридин, диметилформамід тощо); слабких основ - у кислих неводних розчинниках (оцтова кислота, оцтовий ангідрид та ін.). Солі органічних та деяких мінеральних кислот можуть бути визначені так само, як і основи, титруванням у кислих розчинниках.

При титруванні суміші кислот або основ застосовують диференціюючі розчинники з величиною  $pK_i \geq 15$ , які не мають виражених кислотно-основних властивостей.

## *Лабораторна робота №2*

### **Титриметричне визначення соди в препараті «Бекарбон, таблетки»**

**Бекарбон** — комбінований лікарський засіб, терапевтичний ефект якого обумовлений фармакологічними властивостями активних компонентів, що входять до його складу. Діючими речовинами препарату є натрію гідрокарбонат та екстракт беладонни. Препарат виявляє спазмолітичну дію за

рахунок алкалоїдів беладонни. Натрію гідрокарбонат ( $\text{NaHCO}_3$ ) – використовується як антацидний засіб при підвищеній кислотності шлункового соку та виразковій хворобі шлунка.

#### Реактиви та обладнання.

1. *Натрію карбонат Р*. Прожарюють до постійної маси при температурі 270-300°C.
2. *0,1 М розчин кислоти хлористоводневої Р*. 103 г кислоти хлористоводневої Р доводять водою Р до об'єму 1000,0 мл; 100 мл одержаного розчину водою Р до об'єму 1000 мл.
3. *Розчин метилового оранжевого Р*. 0,1 г метилового оранжевого Р розчиняють у 80 мл води Р і доводять об'єм розчину 96%-ним спиртом Р до 100 мл.
4. Колби конічні ємністю 100 мл.
5. Бюретка.
6. Терези аналітичні.

#### Хід роботи.

**Встановлення поправочного коефіцієнту до 0,1 М розчину хлористоводневої кислоти.** 0,100 г *натрію карбонату Р*, розчиняють у 20 мл *води Р*, додають 0,1 мл *розчину метилового оранжевого Р* і титрують приготованим *розчином кислоти хлористоводневої* до появи червонувато-жовтого забарвлення. Кип'ятять протягом 2 хв; розчин знову набуває жовтуватого забарвлення, охолоджують і продовжують титрування до появи червонувато-жовтого забарвлення. Паралельно проводять контрольний. Поправочний коефіцієнт розраховують за формулою:

$$K = (V - V_0) \cdot 5,30 / 1000 \cdot m_{\text{н-кль}}$$

де  $K$ - поправочний коефіцієнт;

$V$ - об'єм *0,1 М розчину кислоти хлористоводневої*, затрачений на титрування, мл;

$V_0$  - об'єм *0,1 М розчину кислоти хлористоводневої*, затрачений на титрування контрольного дослідження, мл;

$m_{н-ки}$  - маса наважки *натрію карбонату Р*, г;

5,30 – маса *натрію карбонату Р*, що відповідає 1 мл *0,1 М розчину кислоти хлористоводневої*, мг.

**Визначення соди у препараті «Бекарбон, таблетки».** *Випробовуваний розчин.* 100,0 мг (точна наважка) порошку розтертих таблеток поміщають у конічну колбу, додають 50 мл *води Р*, збовтують протягом 10 хв. Одержаний розчин титрують *0,1 М розчином кислоти хлористоводневої* до червоного забарвлення (індикатор – 0,5 мл розчину *метилового оранжевого Р*). Паралельно проводять контрольний дослід.

1 мл *0,1 М розчину кислоти хлористоводневої* відповідає 8,401 мг  $\text{NaHCO}_3$  (натрію гідрокарбонату).

Вміст гідрокарбонату натрію ( $X$ ) в одній таблетці розраховують за формулою:

$$X = (V - V_0) \cdot K \cdot 8,401 \cdot m_{т-ки} / m_{н-ки}$$

де  $V$  - об'єм *0,1 М розчину кислоти хлористоводневої*, затрачений на титрування, мл;

$V_0$  - об'єм *0,1 М розчину кислоти хлористоводневої*, затрачений на титрування контрольного досліду, мл;

$K$  - поправочний коефіцієнт;

$m_{н-ки}$  - маса наважки, мг;

$m_{т-ки}$  - номінальна маса таблетки, 350 мг.

8,401 – маса гідрокарбонату натрію, що відповідає 1 мл *0,1 М розчину кислоти хлористоводневої*, мг.

Вміст гідрокарбонату натрію має становити від  $\pm 5\%$  від номінальної маси таблетки.

#### 4.2. Окисно-відновне титрування

Методи окисно-відновного титрування придатні для визначення багатьох органічних та неорганічних лікарських речовин, які є потенційними відновниками або окисниками. У фармацевтичному аналізі найчастіше

застосовують перманганатометрію, йодометрію, броматометрію, нітритометрію тощо.

**Перманганатометрія.** Метод базується на використанні реакцій окиснення визначуваних лікарських речовини перманганат-іонами у кислому середовищі. Концентрація кислоти повинна бути не менше 1 М. Це зумовлено тим, що величина окисно-відновного потенціалу системи  $\text{MnO}_4^-/\text{Mn}^{2+}$  суттєво залежить від концентрації кислоти. Нормальний окисно-відновний потенціал  $\text{MnO}_4^-/\text{Mn}^{2+}$  становить 1,51 В, що дозволяє використовувати перманганат калію для визначення лікарських речовин, які не взаємодіють з більш слабкими окисниками.

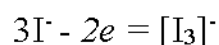
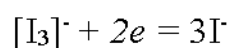
Відновлення перманганат-іону в кислому середовищі відбувається за рівнянням:



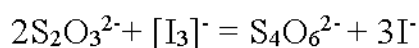
У перманганатометрії індикатором є сам робочий розчин перманганату калію, який забарвлений у червоно-фіолетовий колір.

**Йодометрія.** Йодометричний метод кількісного визначення має широке практичне застосування; за своєю простотою і точністю він визнається одним із кращих редокс-методів кількісного визначення.

В основі йодометричного визначення лежать реакції:



Нормальний окисно-відновний потенціал цієї системи дорівнює 0,545 В. Ті речовини, які мають більш низький потенціал, окиснюються йодом, а речовини, що мають більш високий потенціал, окиснюють йодид-іони до йоду, котрий потім може бути відтитрований за реакцією:

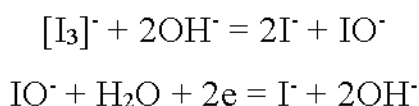


Окисно-відновний потенціал пари  $\text{I}_2/2\text{I}^-$  у широкому інтервалі не залежить від величини рН розчину, що дозволяє проводити йодометричні визначення при різній кислотності.

Прямим йодометричним титруванням визначають речовини, які мають

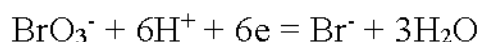
сильні відновні властивості (тіосульфат натрію, аскорбінова кислота, лікарські сполуки арсену (III) та ін.). Визначення проводять у кислому, нейтральному або слабколужному середовищі. Титрантом є розчин йоду в йодиді калію. Кінцеву точку титрування фіксують за допомогою крохмалю, який з йодом у присутності йодид-іонів утворює комплексну сполуку інтенсивно-синього кольору.

Методом зворотної йодометрії визначають сполуки, які повільно окиснюються йодом, утворюють з ним комплексні сполуки, вступають в реакцію електрофільного заміщення тощо.



Після завершення реакцій надлишок йоду відтитровують тіосульфатом натрію з використанням крохмалю.

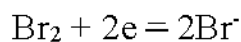
**Броматометрія.** Метод базується на застосуванні окиснювальних властивостей бромат-іонів, які в кислому середовищі відновлюються до бромід-іонів за рівнянням:



Титрування розчином  $KBrO_3$  проводять у присутності  $KBr$ :



Бром, що виділяється, вступає в реакцію електрофільного заміщення або виступає в ролі окисника:



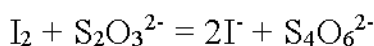
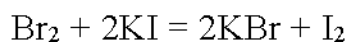
У точці еквівалентності бром, який виділяється при додаванні надлишкової краплини розчину  $KBrO_3$ , забарвлює титрований розчин у жовтий колір. Найбільш чітко кінцеву точку титрування можна визначити за допомогою кислотно-основних індикаторів: метилового червоного, метилового оранжевого тощо, які в точці еквівалентності необоротно окиснюються надлишком бромату калію і знебарвлюються.

Методом прямої броматометрії визначають лікарські речовини, які

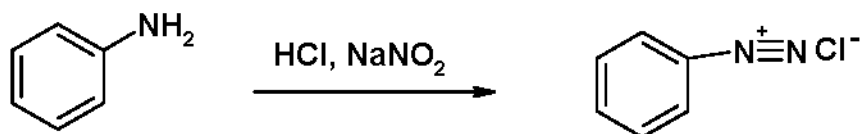


мають у своєму складі арсен (III).

Методом зворотної броматометрії визначають лікарські речовини, які повільно реагують з бромом (феноли, ароматичні аміни). До підкисленого розчину визначуваної речовини додають бромід та бромат калію. Бром вступає в реакцію електрофільного заміщення, а його надлишок визначають йодометрично з використанням крохмалю.



**Нітридометрія.** Нітридометрія — титриметричний метод аналізу, який ґрунтується на окисно-відновних властивостях системи  $\text{HNO}_2/\text{NO}$ ,  $E^\circ = 0,99$  В і використовується в основному для визначення відновників. Але найчастіше нітридометрію застосовують для кількісного визначення органічних лікарських речовин, які мають у своєму складі первинну чи вторинну аміногрупу або нітрогрупу, яку перед визначенням відновлюють до аміногрупи. Як титрант застосовують нітрит натрію.



Швидкість реакції утворення діазосполук залежить від природи аміну й аніону кислоти, які беруть участь у реакції. Аміни, які містять в ароматичному ядрі електроноакцепторні замісники ( $-\text{NO}_2$ ,  $-\text{SO}_3\text{H}$ ,  $-\text{COOH}$ ,  $-\text{Cl}$ ), діазотуються швидше у порівнянні з амінами, які містять електронодонорні замісники ( $-\text{OCH}_3$ ,  $-\text{CH}_3$ )

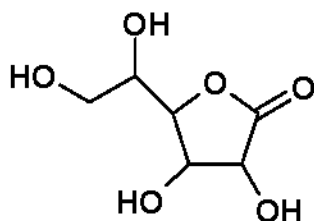
Точку еквівалентності визначають за допомогою зовнішніх, внутрішніх індикаторів або потенціометрично. Як зовнішній індикатор застосовують йодкрохмальний папір, внутрішні індикатори – органічні реагенти тропеолін 00, нейтральний червоний тощо. Титрування з тропеоліном 00 проводять від червоного забарвлення до жовтого. Для усунення індикаторної

помилки в нітриметрії паралельно потрібно проводити контрольний дослід.

Метод нітриметричного титрування широко застосовується для аналізу лікарських речовин, які містять первинну та вторинну аміногрупи (новокаїн, стрептоцид, норсульфазол), ацильовану аміногрупу (фенацетин, парацетамол), а також нітрогрупу, яку перед визначенням відновлюють до аміногрупи (левоміцетин).

### Лабораторна робота №3

#### Йодометричне визначення вмісту основної речовини в субстанції аскорбінової кислоти



Хімічна назва: (R)-5-[(S)-1,2-дигідроксиетил]-3,4-дигідрокси-5H-фуран-2-он.

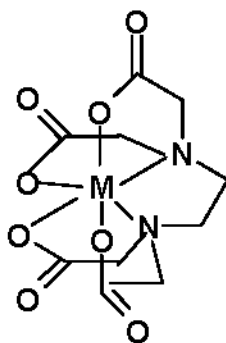
#### Аскорбінова кислота

Аскорбінова кислота або вітамін С володіє сильно вираженими відновлювальними властивостями. Відноситься до групи водорозчинних вітамінів. Бере участь в окисно-відновних процесах, регуляції вуглеводного обміну, впливає на обмін амінокислот ароматичного ряду, метаболізм тироксину, біосинтез катехоламінів, стероїдних гормонів та інсуліну; необхідна для звертання крові, синтезу колагену і проколагену, нормалізує проникність капілярів.

#### Реактиви та обладнання.

1. 0,05 М розчин йоду.
2. Розчин крохмалю Р.
3. Кислота сірчана розведена Р.
4. Колби конічні ємністю 100 мл.
5. Бюретка.
6. Терези аналітичні.





Точку еквівалентності в комплексонометричному титруванні можна встановлювати за допомогою фізичних методів (потенціометричний, амперометричний та ін.), однак на практиці віддають перевагу візуальному індикаторному способу, як найбільш простому, зручному та швидкому. Індикатори, які використовують у комплексометрії, називають металохромними індикаторами. Це органічні реагенти, які утворюють з іонами металів інтенсивно забарвлені комплекси, колір яких за умов проведення реакції відрізняється від забарвлення вільного індикатору. При цьому необхідно, щоб комплекс металу з індикатором був менш міцним, ніж із трилоном Б.

#### *Лабораторна робота №4*

### **Комплексонометричне визначення допоміжної речовини магнію карбонату**

**Магнію карбонат** з необхідними технологічними характеристиками використовується у рецептурі твердих лікарських засобів (таблеток) та капсул як допоміжна речовина для надання вологопоглинаючих властивостей в технології прямого пресування.

#### **Реактиви та обладнання.**

1. *Кислота хлористоводнева розведена Р.*
2. *Аміачний буферний розчин рН 10 Р. 5,4 г амонію хлориду Р розчиняють 20 мл води Р, додають 35 мл розчину аміаку Р, доводять об'єм водою Р до 100 мл.*
3. *0,1 М розчин натрію едетату. 37,5 г натрію едетату Р розчиняють у*

500 мл *води Р*, додають 100 мл *1 М розчину натрію гідроксиду* і доводять об'єм розчину *водою Р* до 1000,0 мл.

4. Індикаторна суміш *протравного чорного 11 Р*. 1 г *протравного чорного 11 Р* змішують з 99 г *натрію хлориду Р*.
5. Колби конічні ємністю 500 мл.
6. Бюретка.
7. Терези аналітичні.

#### Хід роботи.

0,150 г субстанції розчиняють у суміші 20 мл *води Р* і 2 мл *кислоти хлористоводневої розведеної Р*. Отриманий розчин поміщають у конічну колбу місткістю 500 мл. Доводять об'єм розчину *водою Р* до 300 мл, додають 10 мл *аміачного буферного розчину рН 10 Р* і близько 50 мг *індикаторної суміші протравного чорного 11 Р*. Розчин нагрівають до температури близько 40°C і титрують при цій температурі *0,1 М розчином натрію едетату* до переходу фіолетового забарвлення розчину в синє.

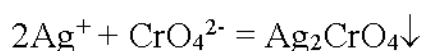
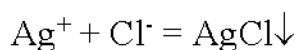
1 мл *0,1 М розчину натрію едетату* відповідає 2,431 мг Mg.

#### 4.4. Аргентометричне титрування

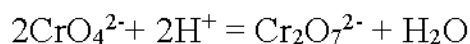
Багато лікарських засобів основної природи знаходяться у вигляді солей, зокрема, гідрохлоридів. Це зумовлює широке використання аргентометрії у фармацевтичному аналізі. За цим методом визначають хлорид-, бромід-, йодид-, тіоціанат-іони.

Виділяють декілька варіантів аргентометричного титрування - методи Мора, Фольгарда і Кольтгофа.

**Метод Мора** використовується для визначення хлоридів та бромідів. Як індикатор використовують хромат калію, який в точці еквівалентності утворює з надлишком іонів срібла цегляно-червоний осад хромату срібла.

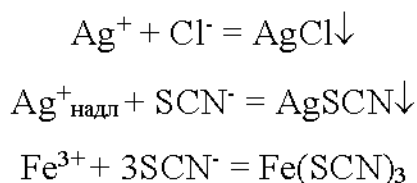


Визначення проводять у нейтральному або слаболужному середовищі, що дещо обмежує використання методу в аналізі. Проведення визначення у кислому середовищі неможливе через утворення в таких умовах дихромат-іонів, які утворюють з іонами срібла більш розчинний осад у порівнянні з хромат-іоном.



Метод Мора не дозволяє визначити йодид-іони внаслідок сильної адсорбції індикатора на поверхні осаду йодиду срібла.

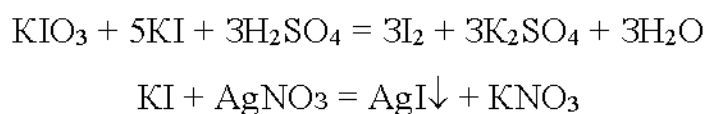
**Метод Фольгарда** базується на осадженні хлорид-, бромід-, йодид-іонів надлишком стандартного розчину нітрату срібла з подальшим титруванням надлишку  $\text{AgNO}_3$  роданідом амонію. Як індикатор у методі Фольгарда використовують залізо-амонієві галуни. Застосування феруму (III) як індикатору базується на утворенні з роданід-іонами комплексної сполуки червоного кольору:



Таким чином, у точці еквівалентності утворюється роданідний комплекс феруму (III) і розчин забарвлюється в червоний колір.

Перевагою методу Фольгарда є проведення аналізу у кислому середовищі, що суттєво підвищує селективність аналізу.

**Метод Кольтгофа** дозволяє визначити йодид-іони у присутності хлоридів і бромідів. Відомо, що крохмаль утворює забарвлений у синій колір комплекс із йодом лише у присутності йодид-іонів. При зникненні з розчину йодид-іонів відбувається руйнування такого комплексу і знебарвлення розчину:



## Аргентометричне визначення допоміжної речовини натрію хлориду

**Натрію хлорид** використовується при виготовленні парентеральних та ін'єкційних лікарських форм, ізотонічних розчинів. Застосовується для виготовлення лікарських засобів у вигляді гелів, суспензій та емульсій.

### Реактиви та обладнання.

1. *0,1 М розчин срібла нітрату*. 17,0 г срібла нітрату *P* розчиняють у воді *P* і доводять об'єм тим самим розчинником до 1000,0 мл.
2. *0,1 М розчин амонію тіоціанату*. 7,612 г амонію тіоціанату *P* розчиняють у воді *P* і доводять об'єм тим самим розчинником до 1000,0 мл.
3. *Дибутилфталат P*.
4. *Кислота азотна розведена P*.
5. *Розчин заліза (III) амонію сульфату P2*, 100 г/л.
6. Колби мірні ємністю 50, 100, 1000 мл.
7. Бюретка.
8. Терези аналітичні.

### Хід роботи.

1,000 г субстанції розчиняють у воді *P* і доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 100 мл. До 10,0 мл одержаного розчину додають 50 мл води *P*, 5 мл кислоти азотної розведеної *P*, 25,0 мл *0,1 М розчину срібла нітрату* і 2 мл *дибутилфталату P*. Одержаний розчин струшують і титрують *0,1 М розчином амонію тіоціанату*, використовуючи як індикатор 2 мл *розчину заліза (III) амонію сульфату P2*, інтенсивно перемішуючи до кінцевої точки титрування.

1 мл *0,1 М розчину амонію тіоціанату* відповідає 5,844 мг NaCl.

## РОЗДІЛ 5. СПЕКТРОФОМЕТРИЧНИЙ АНАЛІЗ

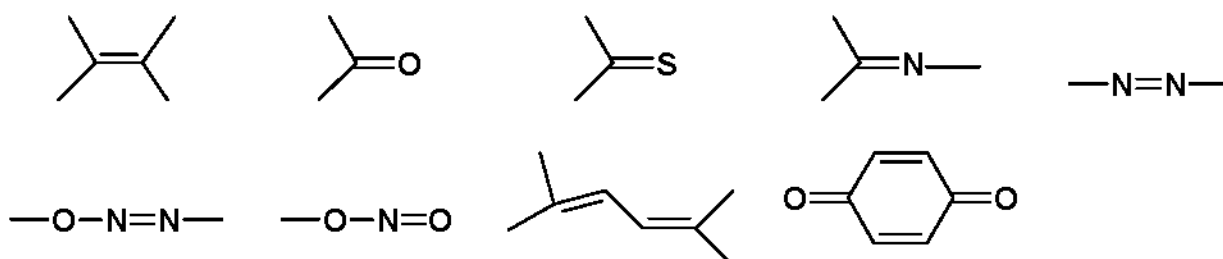
Спектрофотометричні методи аналізу ґрунтуються на вибіркового поглинанні електромагнітного випромінювання сполукою, що аналізується, і

використовуються у фармацевтичному аналізі для дослідження будови, ідентифікації та кількісного визначення лікарських речовин.

На практиці використовують спектри на ділянці від 190 до 380 нм (ультрафіолетові), від 380 до 780 нм (видимі) та від 780 до 40000 нм (інфрачервоні). У перших двох випадках природа смуг поглинання пов'язана з електронними переходами в молекулах та іонах, що поглинають світло (електронні спектри); на інфрачервоній ділянці - з коливальними переходами та зміною коливальних станів ядер атомів, що входять у молекулу речовини (коливальні спектри).

Спектрофотометричне визначення лікарських речовин ґрунтується на власному світлопоглинанні в УФ- або видимій області спектру або переведенні визначуваного компонента в комплексну сполуку і відповідному світлопоглинанні утвореного металокомплексу. Здатність субстратів поглинати світло обумовлена особливостями їх електронної будови, а саме – можливістю переходів валентних електронів між орбіталями, різниця енергій яких відповідає енергіям фотонів УФ- і видимої ділянки електромагнітного спектру. Виділяють три основних види оптичних електронних переходів: електронні переходи між орбіталями органічного субстрату (ліганду) ( $\pi-\pi^*$ ,  $n-\pi^*$ ); електронні переходи між орбіталями центрального атому ( $d-d$ ,  $f-f$ ); електронні переходи з переносом заряду.

$\pi-\pi^*$  та  $n-\pi^*$ -переходи локалізовані на молекулярних орбіталях органічних субстратів ( $\pi$  та  $\pi^*$ - зв'язуючі та розрихляючі  $\pi$ -орбіталі,  $n$ - незв'язуючі орбіталі атомів, які мають неподілену електронну пару: O, N тощо). Такі переходи характерні для молекул, які містять *хромофорні групи* з  $\pi$ -елекtrонами:





В загальному випадку молекула, що містить хромофорні групи, характеризується смугою поглинання в ультрафіолетовій або видимій ділянці спектру. Інтенсивно забарвлені органічні субстрати містять декілька хромофорних груп, з'єднаних спряженими (подвійними) зв'язками, тобто існує  $\pi$ -спряжена система, в якій  $\pi$ -електрони делокалізовані і не належать якому-небудь одному зв'язку. Слід зазначити, що викликане  $\pi$ - $\pi^*$  переходами світлопоглинання є набагато інтенсивнішим у порівнянні з  $n$ - $\pi^*$ -переходами, так як останні є забороненими.

Крім хромофорних груп в молекулах органічних речовин можуть бути присутніми атоми або групи, які впливають на електронну структуру хромофора. Виділяють *ауксохромні* ( $-F < -CH_3 < -Cl < -Br < -OH < -OCH_3 < -NH_2 < -NHCH_3$ ) та *антиауксохромні* групи ( $-NH_3^+ < -SO_2NH_2 < -COOH < -CN < -CHO < -NO_2$ ). Перші зазвичай діють як електродонорні, другі – як електроноакцепторні замісники. В першому наближенні можна вважати, що підвищення електронної густини на ауксохромі і її зниження на антиауксохромі призводять до зсуву смуги поглинання в довгохвильову область і, навпаки, зниження електронної густини на ауксохромі і її підвищення на антиауксохромі викликає зсув смуги поглинання в короткохвильову область. Ці ефекти використовуються у фотометричному аналізі для посилення забарвлення комплексів і підвищення контрастності реакцій комплексоутворення.

$d-d$  та  $f-f$ -переходи локалізовані на центральному атомі і можуть реалізовуватися тільки в комплексах, які мають частково заповнені  $d$ - або  $f$ -орбіталі (комплекси перехідних елементів, лантаноїдів, актиноїдів). Аквакомплекси таких іонів мають «власне» забарвлення. І навпаки, акваіони натрію, барію, алюмінію (III), свинцю (II),  $d$ - і  $f$ -орбіталі яких не заповнені або заповнені повністю, не забарвлені. Наявність або відсутність забарвлення акваіонів металів залежить і від їх ступеня окиснення. Так, аквакомплекс Ti (III) (електронна конфігурація  $3d^1$ ) забарвлений у фіолетовий колір, а Ti (IV) ( $3d^0$ ) – безбарвний.

Розглянуті переходи відносяться до числа заборонених (малоймовірних), тому інтенсивність забарвлення відповідних комплексів надзвичайно мала. Ймовірність таких переходів (інтенсивність забарвлення), як і їх енергія (колір), залежать від природи ліганду.

**Переходи з переносом заряду.** У цьому випадку за виникнення забарвлення відповідні молекулярні орбіталі, які виникають тільки при утворенні комплексної сполуки і належать комплексу в цілому. Такі орбіталі охоплюють як  $\pi$ -електронну систему ліганду, так і  $d$ -електронну систему центрального атома. Класичним прикладом комплексу, забарвлення якого обумовлюється електронними переходами розглянутого типу є диметилгліоксимат нікелю. Переходи з переносом заряду є дозволеними і такі комплекси інтенсивно забарвлені, навіть якщо вільний ліганд безбарвний.

**Закон Бугера-Ламберта-Бера.** Світлопоглинання описується об'єднаним законом Бугера-Ламберта-Бера:

$$\lg \frac{I_0}{I} = \varepsilon \cdot C \cdot l,$$

де  $I_0$  — інтенсивність світлового потоку, який входить у розчин;

$I$  - інтенсивність світла, що пройшло крізь розчин;

$\varepsilon$  - молярний коефіцієнт поглинання;

$C$  - концентрація розчину, моль/л;

$l$  - товщина поглинання, см.

Величина  $\lg \frac{I_0}{I}$  має назву оптичної густини та позначається літерою  $D$  або  $A$ .

У фармацевтичному аналізі спектрофотометричне визначення проводять декількома методами: за градуовальник графіком, за показником поглинання, за методами внутрішнього та зовнішнього стандартів. *Градуовальний графік* — це експериментально знайдена графічна залежність оптичної густини від концентрації. Такий графік використовують, коли для речовини, що визначається, поглинання пропорційне концентрації у межах

60—140% від кінцевої концентрації, яка використовується у кількісному визначенні. Визначення за *показником поглинання* ґрунтується на використанні математичного виразу закону Бугера-Ламберта-Бера. Метод *внутрішнього стандарту* полягає в паралельному вимірюванні оптичної густини розчину, що досліджується, і стандартного розчину з відомою концентрацією речовини, з яких потім розраховують концентрацію цієї речовини у пробі за формулою:

$$X = \frac{D \cdot C_0}{D_0},$$

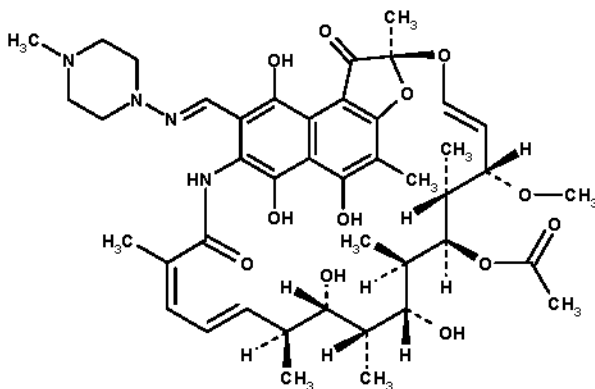
де  $D$  і  $D_0$  — оптичні густини досліджуваного та стандартного розчинів, відповідно;  $C_0$  — концентрація стандартного розчину.

При визначенні за методом *зовнішнього стандарту* як стандарт використовують не досліджувану сполуку, а іншу. Наприклад, для аналізу каротиноїдів як стандарт використовують розчин дихромату калію. Перевага методу - як стандарт використовують просту речовину, для якої легко отримати стандартний зразок. Цей метод застосовується, в основному, для аналізу рослинних препаратів.

### Лабораторна робота №6

#### Спектрофотометричне визначення рифампіцину в препараті

#### «Рифампіцин, капсули по 150 мг»



Хімічна

назва:

(2S,12Z,14E,16S,17S,18R,19R,  
20R,21S,22R,23S,24E)-5,6,9,17,19-  
пентагідрокси-23-метокси-  
2,4,12,16,18,20,22-гептаметил-8-[[  
(4-метил-1-піперазин-1-іл)іміно]метил]-  
1,11-діоксо-1,2-дигідро-2,7-

**Рифампіцин** (епоксипентадека[1,11,13]трієніміно)-  
нафто[2,1-b]фуран-21-іл ацетат

Рифампіцин – напівсинтетичний антибіотик широкого спектру дії. Бактерицидна дія рифампіцину ґрунтується на селективному інгібуванні ДНК-залежної РНК-полімерази в мікробній клітині. Активний по відношенню до мікобактерій туберкульозу, впливає на грампозитивні та грамнегативні мікроорганізми. Відноситься до протитуберкульозних засобів першого ряду.

**Реактиви та обладнання.**

1. *Фосфатний буферний розчин рН 7,4 Р.* До 393,4 мл 0,1 М розчину натрію гідроксиду додають 250,0 мл 0,2 М розчину калію дигідрофосфату Р і доводять водою Р до 1000 мл;
2. *0,2 М розчин калію дигідрофосфату Р.* 27,22 г калію дигідрофосфату у перерахунку на  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  розчиняють у 1000 мл води Р;
3. *Метанол Р;*
4. Колби мірні ємністю 50 мл;
5. Спектрофотометр;
6. Терези аналітичні.

**Хід роботи.**

**Випробовуваний розчин.** 100 мг (точна наважка) порошку розтертого вмісту капсул поміщають у мірну колбу ємністю 50 мл, збовтують з 40 мл *метанолу Р* протягом 10 хв, доводять об'єм розчину *метанолом Р* до позначки, перемішують і фільтрують через паперовий фільтр, відкидаючи 10 мл фільтрату. 1,0 мл отриманого фільтрату поміщають у мірну колбу ємністю 50 мл, доводять об'єм розчину *фосфатним буферним розчином рН 7,4 Р* до позначки і перемішують.

Вимірюють оптичну густину випробовуваного розчину на спектрофотометрі при довжині хвилі 475 нм в кюветі з товщиною шару 1,0 см, використовуючи *фосфатний буферний розчин рН 7,4 Р* як компенсаційний.

Вміст рифампіцину ( $X$ ) в одній капсулі, в міліграмах, обчислюють за формулою:

$$X = \frac{A_1 \cdot 25000 \cdot b}{m_1 \cdot 187},$$

де  $A_1$  – оптична густина випробуваного розчину;

$m_1$  – маса наважки препарату, мг;

$b$  – маса вмісту капсули, 300 мг;

187 – питомий показник поглинання рифампіцину за довжини хвилі 475 нм.

Вміст рифампіцину має становити від 135 мг до 165 мг, у перерахунку на масу однієї капсули.

### *Лабораторна робота №7*

#### **Спектрофотометричне визначення заліза (II) в препараті**

##### **«Фероплект, таблетки»**

«Фероплект» - комбінований лікарський засіб, до складу якого входить заліза (II) сульфат та аскорбінова кислота. Залізо компенсує дефіцит цього елемента в організмі, зокрема, при залізодефіцитних анеміях, стимулює еритропоез, приймає участь в метаболічних процесах. Іони заліза є компонентами гемоглобіну, міоглобіну, а також багатьох інших ферментів.

##### **Реактиви та обладнання.**

1. 0,1 М розчин кислоти хлористоводневої;
2. Буферний розчин рН 4,3. У мірну колбу місткістю 500 мл поміщають 167 мл 0,1 М розчину оцтової кислоти, 50 мл 0,1 М розчину натрію гідроксиду, доводять об'єм розчину водою Р до позначки;
3. 0,1% розчин 1,10-фенантроліну гідрохлориду. 100 мг 1,10-фенантроліну гідрохлориду Р поміщають у мірну колбу місткістю 100 мл, розчиняють у 70 мл 96% спирту Р, доводять об'єм розчину водою Р до позначки;

4. Колби мірні ємністю 100, 50, 25 мл;
5. Спектрофотометр;
6. Терези аналітичні.

### **Хід роботи.**

**Випробовуваний розчин.** 1,500 г порошку розтертих таблеток поміщають у мірну колбу місткістю 100 мл, додають 70 мл 0,1 М розчину кислоти хлористоводневої, енергійно струшують протягом 10 хв, доводять об'єм розчину тим самим розчинником до позначки, перемішують і фільтрують через щільний паперовий фільтр.

**Випробовуваний розчин (а).** 5,0 мл випробовуваного розчину поміщають у мірну колбу місткістю 25 мл, доводять об'єм розчину 0,1 М розчином кислоти хлористоводневої до позначки і перемішують.

**Випробовуваний розчин (б).** 1,0 мл випробовуваного розчину (а) поміщають у мірну колбу місткістю 50 мл, додають 10 мл буферного розчину з рН 4,3, 2,0 мл 0,1% розчину 1,10-фенантроліну гідрохлориду Р, доводять об'єм розчину водою Р до позначки і перемішують.

**Випробування.** Через 15 хв вимірюють оптичну густину випробовуваного розчину (б) і розчину порівняння на спектрофотометрі за довжини хвилі 510 нм в кюветі з товщиною шару 1,0 см, використовуючи як компенсаційний, розчин приготований аналогічно випробовуваному розчину (б), за виключенням 1 мл випробовуваного розчину (б).

Вміст заліза закисного сульфату (X) в одній таблетці, в міліграмах, розраховують за формулою:

$$X = \frac{A_1 \cdot m_0 \cdot b \cdot 0,00003545 \cdot P}{A_0 \cdot m_1}$$

де  $A_1$  - оптична густина випробовуваного розчину;

$A_0$  - оптична густина розчину порівняння;

$m_0$  - маса наважки заліза(II) амонію сульфату, мг;

$m_1$  - маса порошку розтертих таблеток, г;

$P$  - вміст  $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2(\text{SO}_4)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$  в заліза(II) амонію сульфаті  $P$ , %;

0,7090 - коефіцієнт перерахунку заліза(II) амонію сульфату на заліза закисного сульфат.

Вміст  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  (заліза закисного сульфату) в одній таблетці має бути від 46,2 мг до 53,8 мг, в перерахунку на масу однієї таблетки.

## РОЗДІЛ 6. ЛЮМІНЕСЦЕНТНИЙ АНАЛІЗ

Люмінесценція - це світіння атомів, молекул, іонів і інших більш складних комплексів, що виникає в результаті електронного переходу в частках при їхньому поверненні із збудженого стану в нормальний. Для збудження люмінесценції необхідна зовнішня енергія, тому види люмінесценції цілком природно класифікувати по зовнішньому джерелу збудження. У фармацевтичному аналізі найчастіше використовують фотолюмінесценцію й хемілюмінесценцію, збудження яких відбувається за рахунок електромагнітного випромінювання УФ і видимого спектрального діапазону та енергії хімічних реакцій, відповідно.

В ідеальних умовах (високі значення квантових виходів, молярних коефіцієнтів поглинання, відсутність поправок на контрольний дослід тощо) вдається досягти меж виявлення мікрокомпонентів на рівні пікограмів у літрі. Висока чутливість визначення, в ряду випадків великий діапазон визначуваних концентрацій (до чотирьох порядків величин концентрацій), висока відтворюваність результатів аналізу забезпечують ефективне використання люмінесцентних методів у фармацевтичному аналізі.

Електронне збудження молекули пов'язане з переходом електрона з основного стану в збуджений з відповідним збільшенням енергії. На кожний електронний рівень або енергетичний стан накладаються коливальні підрівні, які відповідають коливальним станам кожної конкретної електронної конфігурації. Є, звісно, і обертальні підрівні, але їх внесок у повну енергію у порівнянні з коливальними істотно менший. Збуджені стани - короткоживучі, оскільки вони втрачають свою електронну енергію. Навіть у тому випадку,

коли немає ніяких конкуруючих процесів, збуджені молекули переходять в основний стан, випромінюючи світло. Конкуруючі фізичні процеси можуть призводити до утворення нового збудженого стану, при цьому загальна втрата електронної енергії трохи затримується. В остаточному підсумку все-таки відбувається швидкий перехід всіх збуджених станів в основний стан системи.

При кімнатній температурі в рідкому розчині більшість багатоатомних молекул перебуває на самому нижньому коливальному рівні основного електронного стану й переходи відбуваються саме з нього. Якщо збуджений стан не виникає в результаті переходу між нижніми - нульовими коливальними рівнями основного й збудженого станів (0-0-перехід), то на верхніх коливальних рівнях будь-якого електронно-збудженого стану молекула дуже швидко, за час менше  $10^{-12}$  с, втрачає надлишок коливальної енергії при зіткненні з навколишніми молекулами. Цей процес називають коливальною релаксацією, або коливальним каскадом. Настільки ж швидким є й процес внутрішньої конверсії у вищих електронно-збуджених станах. Внутрішня конверсія - це безвипромінювальний перехід з нижнього коливального рівня верхнього електронного стану на той, що має ту ж повну енергію (електронну і коливальну) більш низького електронного стану аналогічної мультиплетності. Безвипромінювальні переходи відбуваються між ізоенергетичними (або виродженими) коливальними рівнями різних електронних станів. Оскільки при цьому повна енергія системи не змінюється, випромінювання не відбувається. Таким чином, якщо молекула потрапляє в будь-який стан, вище самого нижнього коливального рівня першого збудженого електронного стану, то у результаті згаданих процесів молекула за час менше  $10^{-12}$  с швидко переходить у цей стан. Внутрішня конверсія з нижнього коливального рівня першого електронно-збудженого стану в основний - процес досить повільний, і з ним може конкурувати випромінювальний  $S_1-S_0$  перехід, названий, як і всі випромінювальні переходи між станами однакової мультиплетності, *флуоресценцією*. Час



такого переходу порядку  $10^{-6}$ - $10^{-9}$  с. Для багатоатомних молекул флуоресценції практично завжди відповідає перехід  $S_1-S_0$ . Навпаки, у двохатомних молекулах флуоресценція, що відповідає переходам  $S_n-S_m$ , де  $n$  і  $m > 1$  (верхні синглетні стани), має більшу інтенсивність, рис. 6.1.

Розглянувши у загальному вигляді співвідношення швидкостей різних процесів у молекулі, можна зробити висновок, що форма спектру флуоресценції не залежить від довжини хвилі збуджуючого світла (правило Каша). При кімнатній температурі поглинання відбувається в основному з нижнього (нульового) коливального рівня основного стану, а випромінювання з нижнього (нульового) коливального рівня першого збудженого стану. Тому тільки один 0-0 перехід має ту саму енергію поглинання і випромінювання, а інші електронно-коливальні переходи в спектрі поглинання мають більшу енергію, ніж переходи в спектрі флуоресценції. Спектр флуоресценції в цілому, і його максимум завжди зміщені в область більших довжин хвиль (менших частот) у порівнянні із спектром поглинання. Цей закон, названий на честь його першовідкривачів законом Стокса й Ломмеля, є, по-суті, законом збереження енергії стосовно процесів фотолюмінесценції.

Форма смуг поглинання й флуоресценції визначається розподілом коливальних рівнів  $S_0$  і  $S_1$ . Такий розподіл часто однаковий для обох станів і тому спектр випромінювання симетричний спектру поглинання. Це правило дзеркальної симетрії називають правилом Левшина. Відповідно до нього, нормовані (зведені до одного максимуму) спектри поглинання й флуоресценції, зображені у функції частот, є дзеркально симетричними відносно прямої, що проходить перпендикулярно до осі частот через точку перетину обох спектрів.

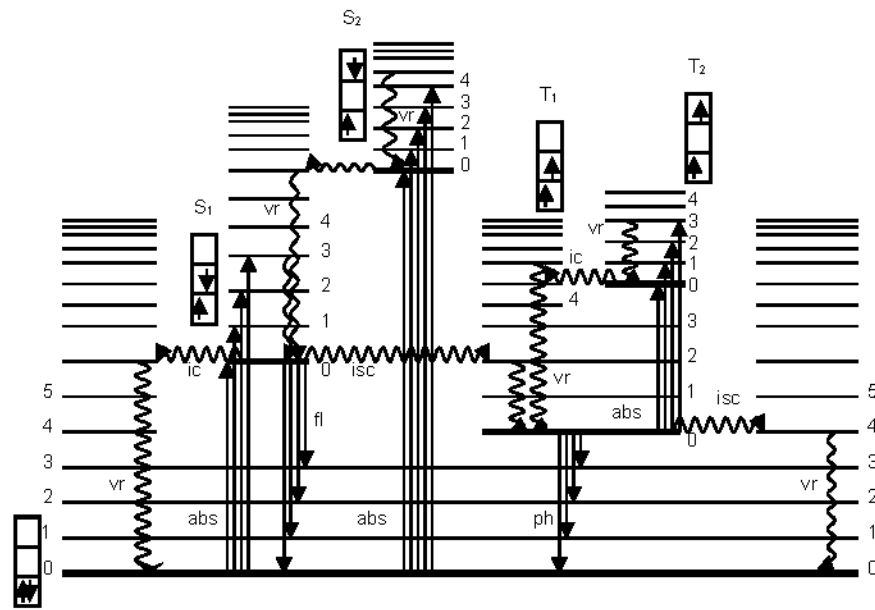


Рис. 6.1. Діаграма Яблонського: abs - поглинання світла ( $\uparrow$ ); fl - флуоресценція ( $\downarrow$ ); ph - фосфоресценція ( $\downarrow$ ); vr - коливальна релаксація; ( $\xi$ ); ic - внутрішня конверсія ( $\rightarrow$ ); isc - інтеркомбінаційна конверсія ( $\rightarrow$ ); 0,1,2,3 і т.д.- коливальні підрівні.

В основному збудженому стані для багатоатомних молекул з парним числом електронів (тобто саме молекул, а не радикалів) молекулярні орбіталі заповнені парами електронів. Відповідно до принципу Паулі такі електрони мають протилежно спрямовані спіни, а повний спін  $S$  дорівнює нулю. При переході одного з електронів на верхню орбіталь можливі два випадки: збереження антипаралельної орієнтації і їх паралельна орієнтація. У першому випадку повний спін  $S$  дорівнює нулю, і спінове квантове число  $M_s$ , що може приймати значення  $S, S-1, \dots, -S$ , також дорівнює нулю. Такий стан називається синглетним. У другому випадку повний спін дорівнює одиниці, а  $M_s$  приймає три значення:  $+1, 0$  і  $-1$ . Такий стан називається триплетним. Синглетний або триплетний стан - це кількісна характеристика мультиплетності стану  $J = 2S + 1$ .

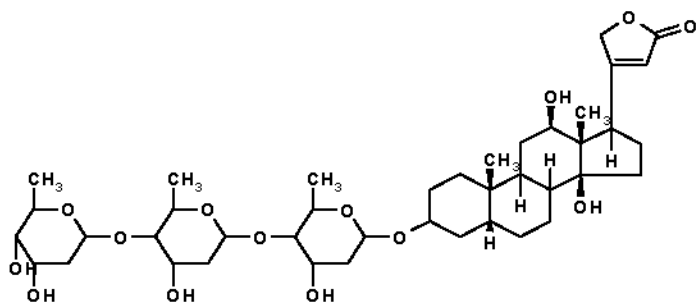
Є два шляхи заселення триплетних станів: пряме заселення в результаті заборонених по спіну  $S_c-T_n$  переходів малоефективне, молярний коефіцієнт

$S_0$ -T поглинання  $\sim 10^{-5}$ ; заселення триплетних станів через систему синглетних. У результаті розглянутих процесів коливальної релаксації й внутрішньої конверсії молекула швидко ( $\sim 10^{-12}$  с) повертається на нижній коливальний підрівень першого синглетного стану. Внаслідок досить невеликої різниці в енергії  $S_1$  та  $T_1$  станів останній заселяється за рахунок інтеркомбінаційної конверсії з нижнього коливального рівня  $S_1$  стану на коливальний рівень  $T_1$  стану. Інтеркомбінаційна конверсія – не випромінюючий перехід між станами різної мультиплетності. Внаслідок швидкого процесу коливальної релаксації молекула переходить на нижній коливальний підрівень -  $T_1$  стан. Невипромінююча дезактивація  $T_1-S_0$  конкурує з випромінювальним  $T_1-S_0$  переходом - **фосфоресценцією**. Фосфоресценція - випромінювальний перехід між станами різної мультиплетності.

Низька ймовірність  $T_1-S_0$  переходу призводить до суттєвого збільшення часу життя фосфоресценції ( $10^{-4}$  - 100 с). Тому триплетні молекули можуть легко втрачати свою енергію в різних невипромінювальних процесах. У рідких розчинах триплетні стани особливо ефективно дезактивуються за рахунок зіткнень із молекулами кисню, що мають неспарені електрони. Тому малоінтенсивна фосфоресценція в рідких розчинах спостерігається при видаленні кисню. Більш ефективним шляхом зменшення ймовірності процесів зіткнення є заморожування досліджуваних розчинів або закріплення молекул люмінофорів на поверхні сорбентів. Спектр фосфоресценції знаходиться в області більших довжин хвиль у порівнянні із спектром флуоресценції.

### *Лабораторна робота №8*

#### **Флуориметричне визначення основної речовини в тесті «Розчинення» препарату «Дигоксин, таблетки по 0,25 мг»**



**Дигоксин**

*Хімічна назва:* 3 $\beta$ -[[*O*-2,6-Дидезокси- $\beta$ -*D*-рибо-гексопіранозил)-(1 $\rightarrow$ 4)-*O*-2,6-дидезокси- $\beta$ -*D*-рибо-гексопіранозил-(1 $\rightarrow$ 4)-2,6-дидезокси- $\beta$ -*D*-рибо-гексопіранозил)-окси]-12 $\beta$ ,14-дигідрокси-5 $\beta$ -кард-20(22)-енолід

Дигоксин одержують з листя наперстянки шерстистої (*Digitalis Lanata* Ehrh.) і використовують як кардіотонічний засіб. Препарат має позитивну інотропну дію, збільшує систолітичний і ударний об'єми серця, подовжує рефрактерний період, уповільнює передсердно-шлункову провідність і зменшує частоту серцевих скорочень. Має помірний діуретичний ефект, зменшує задишку, набряки. Застосовують дигоксин при хронічній застійній серцевій недостатності, пароксизмальній суправентрикулярній тахіаритмії (мерехлива аритмія, мерехтіння передсердь, суправентрикулярна пароксизмальна тахікардія). Препарат застосовують для регуляції частоти серцевих скорочень при фібриляції та мерехтінні передсердь.

#### **Реактиви та обладнання.**

1. Розчин аскорбінової кислоти в *метанолі Р*. 0,2 г аскорбінової кислоти поміщають в мірну колбу місткістю 100 мл, розчиняються в 30 мл *метанолу Р* та доводять об'єм розчину *метанолом Р* до позначки та перемішують;
2. Розчин водню пероксиду в *метанолі Р*. Готують безпосередньо перед використанням. 2 мл 30%-ного водню пероксиду поміщають в мірну колбу місткістю 100 мл, розчиняються в 30 мл *метанолу Р* та доводять об'єм розчину *метанолом Р* до позначки та перемішують. Поміщають в холодильник. Безпосередньо перед використанням 2 мл одержаного розчину поміщають в мірну колбу місткістю 100 мл розчиняються в

30 мл метанолу *P* та доводять об'єм розчину метанолом *P* до позначки та перемішують;

3. Терези аналітичні;
4. Флуориметр;
5. Прилад для проведення тесту «Розчинення».

#### **Хід роботи.**

**Приготування розчину стандартного зразка.** Близько 25,0 мг *СЗ* дигоксину поміщають в мірну колбу місткістю 500 мл, розчиняють у 5 мл 96%-ного спирту *P* та доводять об'єм розчину спиртом (80%, об/об) до позначки та перемішують. 10 мл одержаного розчину поміщають у мірну колбу місткістю 500 мл, додають 5 мл 96%-ного спирту *P* та доводять об'єм розчину спиртом (80 %, об/об) до позначки та перемішують (розчин 1).

Готують розчини стандартного зразка відповідної концентрації 20%, 40%, 60%, 80%, 100% в 0,1 моль/л НСІ. В мірні колби місткістю 50 мл поміщають відповідно 1,0, 2,0, 3,0, 4,0, 5,0 мл розчину 1, доводять об'єм розчинів 0,1 моль/л розчином НСІ до риски.

**Приготування компенсаційного розчину.** 2 мл 0,1 моль/л НСІ поміщають в колбу з притертою пробкою, додають 1,0 мл розчину аскорбінової кислоти в метанолі *P*, 5,0 мл 0,1 моль/л розчину НСІ та 1,0 мл розчину водню пероксиду в метанолі *P* у вказаній послідовності та залишають на 2 години.

**Приготування досліджуваного розчину.** Після розчинення таблетки на приладі порцію одержаного розчину пропускають через фільтр з діаметром пор 0,8 мкм, відкидаючи перші 10 мл фільтрату (розчин 2). 1,0 мл розчину 2 поміщають у колбу з притертою пробкою, додають 1,0 мл 0,1 моль/л НСІ, 1,0 мл розчину аскорбінової кислоти в метанолі *P*, 5,0 мл 0,1 моль/л розчину НСІ та 1,0 мл розчину водню пероксиду в метанолі *P* у вказаній послідовності та залишають на 2 години.

**Приготування розчинів для калібрувального графіка.** До 1,0 мл розчинів стандартного зразка з концентрацією 20%, 40%, 60%, 80%, 100%

додають по 1,0 мл розчину 2, поміщають у колби з притертими пробками та послідовно додають у кожну з колб по 1,0 мл розчину аскорбінової кислоти в *метанолі Р*, 5,0 мл 0,1 моль/л розчину хлористоводневої кислоти та 1,0 мл розчину водню пероксиду в *метанолі Р* у вказаній послідовності та залишають на 2 години.

Через 2 години вимірюють флуоресценцію розчинів при 485 нм. Збуджуючий ефект при 372 нм. Вміст дигоксину у досліджуваних розчинах визначають за допомогою калібрувального графіка.

Вміст дигоксину, що перейшов у розчин з таблетки, повинен бути не менше 80% дигоксину за 60 хв.

## РОЗДІЛ 7. РЕФРАКТОМЕТРИЧНИЙ ТА ПОЛЯРИМЕТРИЧНИЙ АНАЛІЗ

**Рефрактометричний** метод аналізу ґрунтується на *визначенні показника заломлення* світла при його проходженні крізь розчин досліджуваної речовини. Рефрактометрія застосовується для встановлення чистоти та кількісного визначення лікарських засобів.

Абсолютний показник заломлення - це відношення швидкості поширення світла у вакуумі до швидкості поширення світла у розчині досліджуваної речовини. На практиці визначають так званий відносний показник заломлення - відношення швидкості поширення світла в повітрі до швидкості поширення світла у речовині.

За законом рефракції показник заломлення - величина постійна для кожної речовини і дорівнює відношенню синуса кута падіння ( $\alpha$ ) на поверхню розподілу двох середовищ до синуса кута заломлення ( $\beta$ ):

$$n = \sin \alpha / \sin \beta$$

Показник заломлення залежить від температури, довжини хвилі, концентрації розчину та природи розчинника. Підвищення температури викликає зменшення величини показника заломлення. У більшості випадків, визначення показника заломлення проводять при температурі  $20 \pm 0,5^\circ\text{C}$  і

довжині хвилі  $D$  спектра випромінювання натрію ( $\lambda = 589,3$  нм); показник заломлення, визначений за таких умов, позначають індексом  $n_D^{20}$ . Наприклад, для дистильованої води він становить 1,3330.

Залежність показника заломлення світла від концентрації розчину описується наступним рівнянням:

$$n = n_0 + CF,$$

де  $C$  - концентрація розчину, %;

$n$  - показник заломлення розчину;

$n_0$  - показник заломлення розчинника в аналогічних умовах;

$F$  - фактор, що дорівнює величині приросту показника заломлення при збільшенні концентрації на 1% (розраховується експериментально).

На практиці рефрактометричне визначення проводять, як правило, за допомогою градуовального графіка.

В основу **поляриметричного аналізу** покладена здатність речовин *обертати площину поляризації* світла, тобто метод придатний для кількісного визначення оптично-активних ізомерів. Відомо, що біологічну активність більшості вуглеводів, амінокислот або алкалоїдів проявляє тільки один з оптичних ізомерів. У залежності від напрямку обертання площини поляризації світла розрізняють правообертаючі (+) та лівообертаючі (-) ізомери.

Величину відхилення площини поляризації світла називають *кутом обертання* ( $\alpha$ ). Кут обертання залежить від природи речовини, довжини шляху поляризованого світла, концентрації розчину та природи розчинника.

Для порівняльної оцінки здатності речовин обертати площину поляризації світла використовують величину питомого обертання ( $\alpha_D^{20}$ ) – обертання площини поляризації шаром речовини товщиною 1 дм у перерахунку на вміст 1 г речовини в 1 мл розчинника.

Для розчинів питома обертання розраховують за формулою:

$$\alpha_D^{20} = \alpha \cdot 100 / l \cdot C,$$

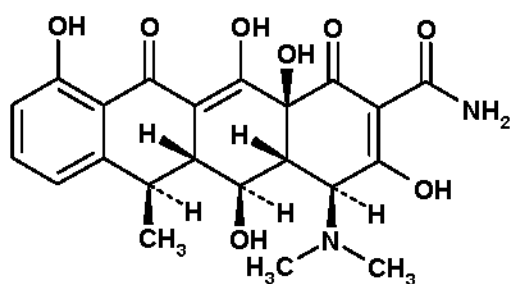
де  $\alpha$  - вимірний кут обертання, град;

$l$  – товщина шару рідини, дм;

$C$  – концентрація розчину, %.

### Лабораторна робота №9

#### Визначення питомого оптичного обертання субстанції доксицикліну хіклату



Доксицикліну хіклат

Хімічна назва: гідро  
хлорид геміетанол  
гемігідрат  
(4*S*,4*aR*,5*S*,5*aR*,6*R*,12*aS*)-4-  
(диметиламіно)-  
3,5,10,12,12апентагідрокси-  
6-метил-1,11-діоксо-  
1,4,4а,5,5а,6,11,12а-  
октагідротетрацен-2-  
карбоксаміду

Доксицикліну гідрохлорид має широкий спектр антимікробної дії. Інгібує синтез протеїнів у мікробній клітині, порушуючи зв'язок транспортних аміноацил-рнк із 30S субодиницею рибосомальної мембрани. Чинить бактеріостатичну дію. Високоєфективний при пневмоніях і гострих бронхітах мікоплазмової етіології. При наявності показань до антибактеріальної терапії при загостренні хронічного бронхіту, у т.ч. на фоні бронхіальної астми, застосовується як препарат першого ряду в пацієнтів до 65 років без супутніх захворювань. Має виражений ефект при загостренні бронхолегеневої інфекції (зазвичай стафілококової етіології) у пацієнтів з муковісцидозом, при синдромі Рейтера, зумовленому хламідіями, шкірному лейшманіозі. Найбільш ефективний при лікуванні гранулоцитарного ерліхіозу. У поєднанні з хініном високоєфективний при лікуванні малярії.

#### Реактиви та обладнання.



1. 1 М розчин кислоти хлористоводневої;
2. Метанол Р;
3. Колби мірні ємністю 100, 50, 25 мл;
4. Поляриметр;
5. Терези аналітичні.

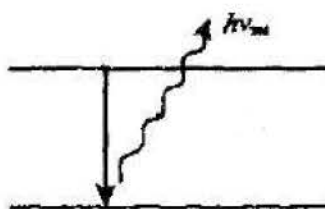
### Хід роботи.

0,250 г субстанції розчиняють у 15 мл суміші 1 М розчин кислоти хлористоводневої – метанол Р (1 : 99) і доводять об'єм розчину тією самою сумішшю розчинників до 25,0 мл. Вимірювання питомого оптичного обертання проводять не пізніше, ніж через 5 хв після приготування розчину.

Питоме оптичне обертання повинне знаходитись у межах від 105° до 120°, у перерахунку на безводну і вільну від етанолу речовину.

## РОЗДІЛ 8. АТОМНО-АБСОРБЦІЙНИЙ ТА АТОМНО-ЕМІСІЙНИЙ АНАЛІЗ

Метод **атомно-емісійної спектроскопії** (АЕС) ґрунтується на термічному збудженні вільних атомів або одноатомних іонів і реєстрації оптичного спектру випромінювання збуджених атомів:



Інтенсивність випромінювання  $I$  є прямо пропорційною числу збуджених частинок  $N^*$ . Оскільки збудження атомів має термічну природу, збуджені і незбуджені атоми знаходяться між собою у термодинамічній рівновазі, положення якої описується законом розподілу Больцмана:

$$\frac{N^*}{N_0} = \frac{g^*}{g_0} e^{-\frac{E}{kT}},$$

де  $N^*$  - число збуджених атомів;  $g^*$  і  $g_0$  — статистична вага збудженого і

незбудженого стану;  $E$  - енергія збудження;  $k$  - постійна Больцмана;  $T$  - абсолютна температура. Таким чином, при постійній температурі число збуджених частинок  $N^*$  прямо пропорційне числу незбуджених частинок  $N_0$ , тобто фактично загальному числу атомів  $N$  в атомізаторі. Останнє, у свою чергу, пропорційне концентрації визначуваного елемента у пробі. Тому між інтенсивністю випромінювання і концентрацією визначуваного елемента існує прямо пропорційна залежність:

$$I = a \cdot c.$$

Коефіцієнт  $a$  у рівнянні є емпіричною величиною, яка залежить від умов процесу. Тому в атомно-емісійній спектроскопії вирішальне значення має правильний вибір умов атомізації і вимірювання аналітичного сигналу, включаючи градуювання по зразках порівняння. В реальних умовах атомно-емісійного аналізу проста залежність між інтенсивністю і концентрацією часто порушується через різноманітні побічні ефекти оптичної та фізико-хімічної природи.

Таблиця 8.1

Основні типи джерел атомізації і збудження.

Джерело атомізації	T, °C	Стан проби	$C_{\min}, \%$ мас.	Sr
Полум'я	1500-3000	розчин	$10^{-7} - 10^{-2}$	0,01-0,05
Електрична дуга	3000-7000	тверда	$10^{-4} - 10^{-2}$	0,1-0,2
Електрична іскра	10000-12000	тверда	$10^{-3} - 10^{-1}$	0,05-0,10
Індуктивно зв'язана плазма (ІСП)	6000-10000	розчин	$10^{-8} - 10^{-2}$	0,01-0,05

Найважливішою характеристикою будь-кого атомізатора є його температура. Від температури атомізації залежить фізико-хімічний стан аналізованої речовини, величина аналітичного сигналу та метрологічні характеристики методики.

**Полум'я.** Варіант АЕС з атомізацією у полум'ї називають методом

*емісійної фотометрії полум'я.* Полум'я - найбільш низькотемпературне джерело атомізації і збудження. Залежно від складу горючої суміші температура полум'я може складати від 1500 (світільний газ-повітря) до 3000°C ( $C_2H_2-N_2O$ ). Такі температури оптимальні для визначення лише найбільш легко атомізованих і збудливих елементів, у першу чергу, лужних і лужно-земельних (Ca, Sr, Ba) металів.

**Електрична дуга.** В АЕС використовують дугові розряди постійного і змінного струму. Дуговий атомізатор є парою електродів (найчастіше вугільних), між якими пропускають електричний розряд. Нижній електрод має поглиблення, в яке поміщають пробу. Дуговий розряд найбільш зручний для аналізу твердих проб. Для аналізу розчинів пробу, як правило, заздалегідь випаровують разом з інертним порошкоподібним матеріалом (колектором), а потім поміщають у поглиблення електроду. Якщо аналізована проба - метал (сплав), то вона безпосередньо служить нижнім електродом.

Температура дугового розряду істотно вище, ніж температура полум'я (3000-7000°C). Таких температур цілком достатньо для ефективної атомізації і збудження більшості елементів.

**Електрична іскра.** Іскровий атомізатор влаштований аналогічно дуговому. Як правило, у спектральних приладах для генерації дугового і іскрового розрядів використовують однаковий пристрій, а вибір типу розряду здійснюється простим перемиканням електричної схеми. Як і дуговий, іскровий атомізатор призначений, у першу чергу, для аналізу твердих зразків (іноді вводять рідкі проби у вигляді аерозолю безпосередньо у розрядний проміжок між електродами).

Ефективна температура іскрового розряду атомізації досягає 10000°C. Цього достатньо для збудження навіть найбільш важко збудливих елементів (галогени).

**Індуктивно зв'язана плазма.** Це найсучасніший метод атомізації з найкращими аналітичними можливостями і метрологічними

характеристиками. Температура аргонної плазми змінюється по висоті пальника і складає 6000-10000°C.

Метод АЕС з індуктивно зв'язаною плазмою характеризується універсальністю (збуджується більшість елементів), високою чутливістю ( $C_{\min}=10^{-8}$ - $10^{-2}\%$  мас), доброю відтворюваністю ( $Sr \approx 0,01$ - $0,05$ ) і широким діапазоном визначуваних концентрацій.

Метод **атомно-абсорбційної спектроскопії** (ААС) ґрунтується на поглинанні випромінювання оптичного діапазону незбудженими вільними атомами.



Таким чином, в ААС, як і в АЕС, необхідна попередня атомізація проби. Проте якщо в АЕС аналітичний сигнал формують збуджені атоми, то в ААС - незбуджені. Величина оптичної густини атомної пари ( $A$ ) відповідно до основного закону світлопоглинання прямо пропорційна концентрації поглинаючих частинок ( $c_{at}$ ) - атомів визначуваного елемента в атомізаторі.

За постійних умов атомізації і заданого режиму роботи приладу концентрація атомів в атомізаторі прямо пропорційна концентрації визначуваного елемента в пробі ( $c$ ). Таким чином, можна записати:

$$A = k \cdot l \cdot c,$$

де  $k$  — коефіцієнт, що включає коефіцієнт поглинання  $k_{at}$  і коефіцієнт переходу від  $c_{at}$  до  $c$ .

В ААС, на відміну від АЕС, роль атомізатора полягає тільки в переведенні проби в атомарний стан. Тому робочий діапазон температур в ААС (800-3000°C) в цілому нижчий, ніж в АЕС. Основні типи джерел атомізації в ААС - це полуменеві і електротермічні атомізатори.

**Полум'я.** Полуменевий атомізатор для ААС, як і для АЕС, є пальником. В ААС найбільш поширені наступні склади горючих сумішей: світильний газ - повітря (1500-1800°C); ацетилен-повітря (2200-2300°C);

ацетилен -  $N_2O$  (2700-2950°C).

Найважливіша характеристика полуменевих атомізаторів - висока стабільність режиму роботи. Основний недолік - низька ефективність атомізації, пов'язана з тим, що проба подається в атомізатор у вигляді розчину з великою швидкістю і, відповідно, знаходиться в умовах високої температури дуже малий час.

**Електротермічні атомізатори.** Найпоширенішою конструкцією електротермічних атомізаторів є невелика графітова трубка (довжина декілька сантиметрів, внутрішній діаметр до 1см), що нагрівається електричним струмом великої сили. У верхній частині трубки є невеликий отвір для введення проби. Рідкі проби вводять мікрошприцем. Для запобігання швидкого вигорання графіту атомізатор поміщають в атмосферу інертного газу.

Електротермічна атомізація має багато переваг перед полуменевою. Головна з них - значне підвищення чутливості визначення внаслідок збільшення ефективності атомізації. Крім цього, стає можливим проводити вимірювання у вакуумній УФ-області (нижче 186 нм), в якій знаходяться інтенсивні лінії поглинання ряду неметалів (фосфор, арсен). При полуменевій атомізації це неможливо через інтенсивне світлопоглинання атмосферного кисню в цій області спектру. Нарешті, у випадку електротермічної атомізації можна безперервно змінювати температуру атомізатора в межах 20-2700°C, змінюючи силу струму нагріву.

### *Лабораторна робота №10*

#### **Атомно-абсорбційне визначення кальцію в тальку**

**Тальк** ( $Mg_3Si_4O_{10}(OH)_2$ ) – речовина природного походження. Використовується як допоміжна речовина в складі твердих лікарських засобів у якості ковзної або змащувальної речовини. Ковзні і змащувальні речовини застосовують для покращення плинності таблеткових сумішей до

пресуючих поверхонь. Внаслідок гідрофобності тальк уповільнює розпадання таблетки і розчинення діючої речовини, тому не рекомендується перевищувати його вміст більше 3% від маси таблетки.

#### Реактиви та обладнання.

1. Розчин (50 г/л) лантану (III) нітрату Р;
2. 0,5 М розчин азотної кислоти;
3. 0,5 М розчин хлористоводневої кислоти Р;
4. Стандартний розчин кальцію 1000 мг/л Са (MERCK 2005-2007, К.№.109960);
5. Колби мірні ємністю 100 мл;
6. Атомно-абсорбційний спектрометр;
7. Терези аналітичні.

#### Хід роботи.

**Випробовуваний розчин.** 500 мг субстанції поміщають у політетрафторетиленову чашку місткістю 100 мл, додають 5 мл хлористоводневої кислоти Р, 5 мл азотної кислоти, вільної від свинцю, Р і 5 мл хлорної кислоти Р. Обережно перемішують, додають 35 мл фтористоводневої кислоти Р і повільно випаровують досуха на гарячій плитці. До залишку додають 5 мл хлористоводневої кислоти Р, накривають часовим склом, нагрівають до кипіння і залишають до охолодження. Змивають часове скло і чашку водою Р. Змиви поміщають у мірну колбу місткістю 50 мл, промивають чашку водою Р, доводять об'єм розчину водою Р до позначки і перемішують. До 5,0 мл отриманого розчину додають 10,0 мл 0,5 М розчину азотної кислоти, 10 мл розчину (50 г/л) лантану (III) нітрату Р, доводять об'єм розчину водою Р до 100,0 мл і перемішують.

**Кальцію еталонний розчин (100 ppm Са).** Стандартний розчин кальцію 1000 мг/л Са розводять 0,5 М розчином азотної кислоти у 10 разів безпосередньо перед використанням.

**Розчини порівняння.** В 4 мірні колби місткістю 100 мл, кожна з яких містить 10,0 мл 0,5 М розчину азотної кислоти та 10,0 мл розчину (50 г/л)

лантану (III) нітрату  $P$ , поміщають відповідно 1,0 мл, 2,0 мл, 3,0 мл та 4,0 мл еталонного розчину кальцію (100 ppm  $Ca$ ), доводять об'єми розчинів 0,5 М розчином азотної кислоти до позначки і перемішують.

**Холостий розчин.** 10,0 мл розчину (50 г/л) лантану (III) нітрату  $P$  розводять 0,5 М розчином азотної кислоти до 100 мл.

Визначення проводять на атомно-абсорбційному спектрометрі за таких умов:

- джерело випромінювання – лампа з порожнистим кальцієвим катодом;
- полум'я: ацетилен – повітря;
- довжина хвилі – 422,7 нм;
- для корекції використовують дейтерієву лампу.

Випробовуваний розчин і кожен з розчинів порівняння вводять в спектрометр не менше трьох разів та вимірюють поглинання розчинів відносно холостого розчину. Відносне стандартне відхилення, розраховане для значення поглинання з трьох паралельних вимірів, має бути не більшим за 5%.

Будують калібрувальний графік залежності середніх значень поглинання розчинів порівняння від концентрації (мкг/мл), за яким визначають концентрацію кальцію у випробовуваному розчині.

Вміст кальцію ( $X$ , %) в субстанції розраховують за формулою:

$$X = \frac{C \cdot 100}{m},$$

де  $C$  - концентрація кальцію у випробовуваному розчині, знайдена за калібрувальним графіком, у мкг/мл;

$m$  - маса наважки субстанції, яку використовують для приготування випробовуваного розчину до його розведення, у міліграмах.

Вміст кальцію повинен знаходитися у межах 0,2-0,4%.

## РОЗДІЛ 9. ЕЛЕКТРОХІМІЧНІ МЕТОДИ АНАЛІЗУ

Електрохімічні методи аналізу ґрунтуються на вимірюванні потенціалів, сили струму та інших характеристик при взаємодії аналізованої

речовини з електричним струмом. У залежності від типу реакцій електрохімічні методи розподіляють на три групи:

- методи, які базуються на електродних реакціях, що проходять за відсутності струму (потенціометрія);
- методи, які базуються на електродних реакціях, що проходять під дією струму (вольтамперометрія, кулонометрія, електрогравіметрія);
- методи, які базуються на аналітичних вимірюваннях без протікання електродної реакції (кондуктометрія - низькочастотне титрування та осцилометрія - високочастотне титрування).

### 9.1. Потенціометрія

Потенціометричний метод ґрунтується на вимірюванні електрорушійних сил зворотних гальванічних елементів і застосовується для визначення концентрації іонів у розчині. Залежність потенціалу електроду від активності іонів описується рівнянням Нернста:

$$E = E^{\circ} + \frac{0,059}{n} \lg \frac{a(Ox)}{a(Red)},$$

де  $E^{\circ}$  - стандартний електродний потенціал, В; 0,059 - константа, що включає універсальну газову сталу (R), абсолютну температуру та константу Фарадея (F); n - число електронів, що приймають участь в електродній реакції; a(Ox) і a(Red) - активність окисненої й відновленої форм речовини.

Для реєстрації аналітичного сигналу необхідні два електроди - індикаторний і стандартний. Електрод, потенціал якого залежить від активності визначуваних іонів, називається *індикаторним*. Електрод, потенціал якого не залежить від активності визначуваних іонів і залишається постійним, називається *електродом порівняння*.

Відповідно до механізму виникнення або зміни потенціалу електроди класифікують на металеві, електроди I і II роду та іоноселективні (мембранні) електроди

*Активні металеві електроди I роду* - це металева пластинка або дріт,



занурений у розчин добре розчинної солі даного металу. Наприклад, срібний дріт, занурений у розчин нітрату срібла. На поверхні електроду виникає подвійний електричний шар, і встановлюється рівноважний потенціал іонів  $\text{Ag}^+$  у розчині:

$$E = E_{\text{Ag}^+/\text{Ag}}^0 + 0,0591 \lg a_{\text{Ag}^+}$$

*Металеві індиферентні електроди* не беруть участі у електрохімічній реакції, а тільки забезпечують перенос електронів для окислювально-відновної реакції, що проходить у розчині. Як правило, це дріт, пластина або сітка, виготовлена з інертних металів (платина, золото, паладій) або графіт, занурені у розчин, що містить сполучену редокс-пару. Потенціал такого електроду залежить від активності окисленої та відновленої форм редокс-пари. Наприклад, потенціал платинового електроду, зануреного у розчин, що містить  $\text{Fe}^{3+}$  і  $\text{Fe}^{2+}$  має вигляд:

$$E = E_{\text{Fe}^{3+}/\text{Fe}^{2+}}^0 + 0,0591 \lg \frac{a_{\text{Fe}^{3+}}}{a_{\text{Fe}^{2+}}}$$

*Електроди II роду* - системи, в яких метал електроду покритий важкорозчинною сіллю цього металу і перебуває у розчині, що містить добре розчинну сіль з однойменними аніонами. Ці електроди оборотні щодо аніонів, їх потенціал залежить від активності аніонів важкорозчинної сполуки, що входить до складу електроду. Електроди II роду застосовують, як правило, як електроди порівняння (потенціал таких електродів при вимірюваннях залишається постійним). До електродів II роду відноситься хлоридсрібний електрод - срібний дріт, покритий важкорозчинною сіллю  $\text{AgCl}$ , занурений у насичений розчин  $\text{KCl}$  (рис. 9.1).

Потенціал електроду залежить від активності (концентрації) хлорид-іонів у розчині:

$$E = E_{\text{Ag}^+/\text{Ag}}^0 + 0,0591 \lg a_{\text{Ag}^+} = E_{\text{Ag}^+/\text{Ag}}^0 + 0,0591 \lg \frac{K_{s^0}(\text{AgCl})}{a_{\text{Cl}^-}} = K - 0,00591 \lg a_{\text{Cl}^-},$$

де  $K_{s^0}(\text{AgCl})$  – добуток розчинності хлориду срібла;  $K = E_{\text{Ag}^+/\text{Ag}}^0 - 0,0591 \lg K_{s^0}(\text{AgCl})$ .

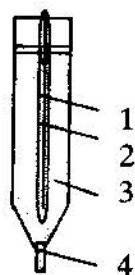


Рис.9.1. Хлоридсрібний електрод: 1- срібний дріт; 2- AgCl; 3- насичений розчин KCl; 4- дренаж (азбестове волокно)

*Іоноселективні електроди (ІСЕ)* - це електроди, потенціал яких лінійно залежить від концентрації визначуваного іону в розчині. Найважливішою складовою частиною ІСЕ є напівпроникна мембрана, здатна пропускати певні іони. Мембрани виготовляють з спеціальних сортів скла, монокристалів, органічних полімерів, ферментних плівок, рідких іонообмінників. На межі мембрана-розчин встановлюється рівновага обміну іонами і виникає різниця потенціалів. Потенціал ІСЕ залежить від активності визначуваного іону в аналізованому ( $a_1$ ) та внутрішньому ( $a_2$ ) розчинах:

$$E = E_{ICE}^0 + 0,0591g \frac{a_1}{a_2}.$$

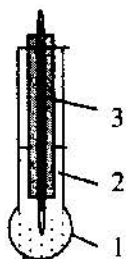


Рис.9.2. Скляний рН-електрод: 1- мембрана, 2- стандартний розчин HCl, 3- хлоридсрібний електрод

Найбільш широке практичне застосування має *скляний рН-електрод*, селективний по відношенню до  $H^+$ -іонів. Це тонкостінна скляна кулька (рис. 9.2), заповнена стандартним 0,1 М розчином HCl або буферним розчином. Внутрішній електрод - срібний дріт, покритий хлоридом срібла. Мембрана виготовлена з алюмосилікатного скла з масовою часткою до 22%  $Na_2O$ , 72%  $SiO_2$  і 6%  $CaO$ .

Високий вміст  $Na^+$  у мембрані сприяє обміну між іонами  $Na^+$  мембрани і  $H^+$  з розчину; на поверхні електроду встановлюється рівновага. Потенціал скляного електроду залежить від концентрації іонів  $H^+$  у розчині:

$$E = K + 0,059 \lg[H^+] = K - 0,059 \text{pH} ,$$

де  $K$  - константа, що залежить від сорту скла.

До переваг рН-скляного електроду слід віднести швидке встановлення електрохімічної рівноваги, широкий робочий діапазон рН, відсутність впливу окисників та відновників.

По способу виконання та розрахунку результатів аналізу розрізняють *пряму потенціометрію (іонометрія) і непряму (потенціометричне титрування)*.

*Пряма потенціометрія* базується на безпосередньому використанні рівняння Нернста для визначення активності або концентрації іонів по експериментально виміряному потенціалу електрода.

*Потенціометричне титрування* ґрунтується на встановленні точки еквівалентності по різкій зміні потенціалу індикаторного електроду при титруванні. За результатами титрування будують інтегральну та (або) диференціальну криві титрування та знаходять точку еквівалентності (рис.9.3).

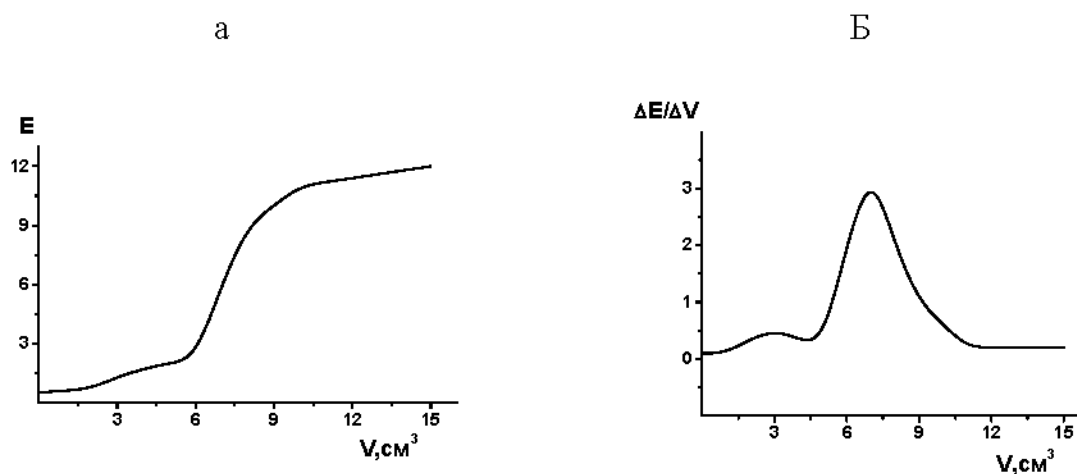
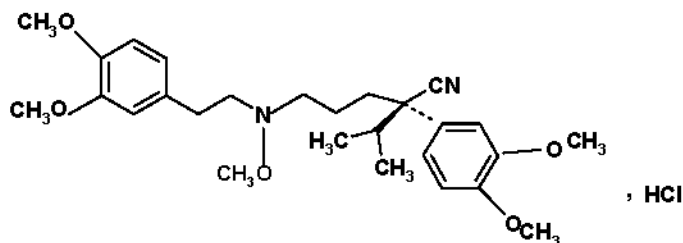


Рис. 9.3. Інтегральна (а) і диференціальна (б) криві титрування суміші двох речовин

*Лабораторна робота №11*

**Потенціометричне визначення вмісту основної речовини верапамілу  
гідрохлориду у субстанції**



### Верапамілу гідрохлорид

*Хімічна назва:* (2*RS*)-2-(3,4-диметоксифеніл)-5-[[2-(3,4-диметоксифеніл)-етил](метил)аміно]-2-(1-метилетил)пентанітрилу гідрохлорид

Верапамілу гідрохлорид - селективний блокатор кальцієвих каналів. Має антиаритмічну, антиангіальну і антигіпертензивну активність. Препарат знижує потребу міокарда у кисні за рахунок зниження скоротності міокарда і зменшення частоти серцевих скорочень. Викликає розширення коронарних судин серця і збільшує коронарний кровообіг; знижує тонус гладкої мускулатури периферійних артерій і загальний периферійний судинний опір. Верапамілу гідрохлорид також сповільнює AV провідність, пригнічує автоматизм синусового вузла.

### Реактиви та обладнання.

1. Кислота оцтова безводна Р;
2. Розчин ртуті (II) ацетату Р;
3. 0,1 М розчин кислоти хлорної;
4. рН-метр або титратор автоматичний;
5. Терези аналітичні.

### Хід роботи.

Близько 0,400 г (точна наважка) субстанції розчиняють у 40 мл *кислоти оцтової безводної Р*, додають 6 мл *розчину ртуті (II) ацетату Р* (без попередньої нейтралізації) і титрують 0,1 М *розчином кислоти хлорної* потенціометрично. Паралельно проводять контрольний дослід.

1 мл 0,1 М *розчину кислоти хлорної* відповідає 49,11 мг  $C_{27}H_{39}ClN_2O_4$  (верапамілу гідрохлориду).

## 9.2. Вольтамперометрія

*Вольтамперометрія* - група методів, заснованих на процесах електрохімічного окиснення або відновлення визначуваної речовини, що протікають на мікроелектроді й обумовлюють виникнення дифузійного струму. Методи засновані на вивченні вольтамперних кривих (вольтамперограм), що відображають залежність сили струму від прикладеної напруги:  $I = f(E)$ . Вольтамперограми дозволяють одночасно одержати інформацію про якісний і кількісний склад аналізованого розчину, а також про характер електродного процесу.

У методах вольтамперометрії застосовують дво- або триелектродні комірки. Індикаторні електроди – це робочі електроди, на яких протікають процеси електроокиснення або електровідновлення речовини (електроди поляризуються); електроди порівняння - електроди II роду (насичені хлоридсрібний або каломельний).

Якщо в якості робочого електроду застосовують капаючий ртутний електрод, а електродом порівняння є шар ртуті на дні комірки, то метод називається *полярографією*.

Для проведення вольтамперного аналізу до системи електродів прикладають напругу від зовнішнього джерела струму. Змінюючи напругу, вивчають залежність сили дифузійного струму від прикладеної різниці потенціалів, що описується вольтамперограмою (рис. 9.4, а). Графік має форму хвилі і складається з трьох ділянок. Ділянка I - від початку реєстрації аналітичного сигналу до початку електрохімічної реакції, через комірку проходить залишковий струм ( $I=10^{-7}$  А). Ділянка II - різке збільшення струму за рахунок електрохімічної реакції. Електроактивна речовина (деполяризатор) розряджається на мікроелектроді, внаслідок чого концентрація деполяризатора у приелектродному шарі зменшується. Струм підтримується дифузією деполяризатора з об'єму розчину в приелектродний шар. Тому струм називається *дифузійним*. Ділянка III - дифузійний струм досягає граничного значення і залишається практично постійним.

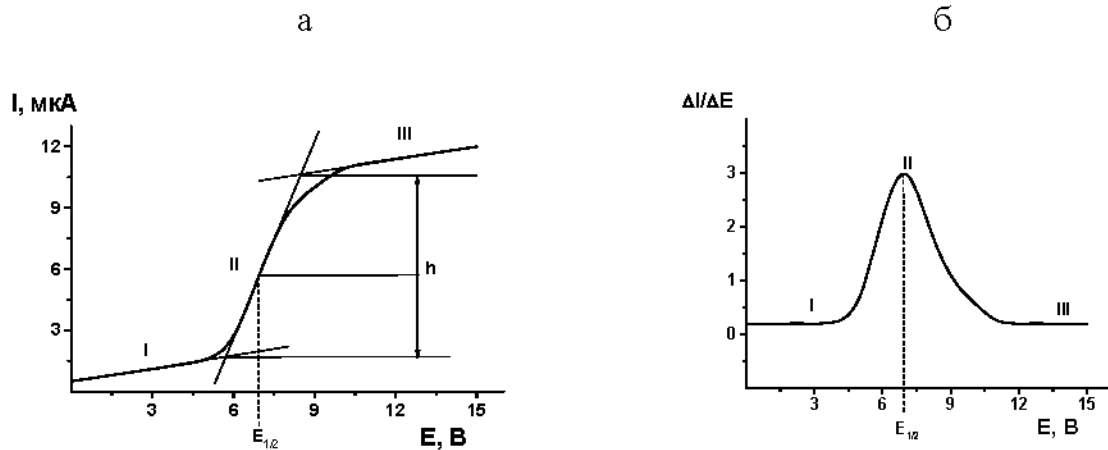


Рис. 9.4. Вольтамперограми: *а* - інтегральна; *б* - диференціальна

Для забезпечення високої електропровідності розчину і запобігання недифузійних процесів (наприклад, міграції іонів) у розчин додають фоновий (індиферентний) електроліт - розчин солі лужного або лужноземельного металу.

Якісною характеристикою електроактивної речовини є потенціал напівхвилі ( $E_{1/2}$ ), що знаходять графічно по інтегральній вольтамперограмі (метод трьох дотичних, рис. 9.4, а) або диференціальній (перпендикуляр з середини піка на вісь абсцис, рис. 9.4, б). Кількісною характеристикою деполаризатора є висота хвилі ( $h$ ), яку вимірюють безпосередньо по вольтамперограмі методом дотичних (рис. 9.4, а). Значення  $h$  відповідає висоті хвилі, викликаной струмом дифузії деполаризатора.

Кількісні визначення засновані на пропорційній залежності між силою граничного дифузійного струму  $I$  (мкА) і концентрацією деполаризатора ( $c$ ):

$$I = K \cdot c,$$

де  $K$  - константа, що залежить від природи визначуваного іона та середовища, температури і характеристик електрода.

*Амперометричне титрування* засноване на залежності дифузійного струму від об'єму титранту, що додається.

Метод амперометричного титрування більш універсальний, ніж пряма

вольтамперометрія, тому що визначувана речовина не обов'язково повинна бути електроактивною. Важливою відмінною рисою амперометричного титрування, у порівнянні з іншими методами вольтамперометрії, є необхідність окиснення або відновлення на електроді хоча б одного з двох учасників реакції або продукту їх взаємодії.

Взаємозв'язок між вольтамперними кривими і залежністю граничного струму від об'єму титранту представлений на рис. 9.5. Якщо титрувати депольоризатор при постійному потенціалі індикаторного електроду  $E'$ , що відповідає граничному дифузійному струму, і побудувати графік залежності величини дифузійного струму від об'єму титранту, то вийде крива амперометричного титрування (рис. 9.5, б). Вона складається з двох лінійних ділянок, точка перетину яких відповідає точці еквівалентності.

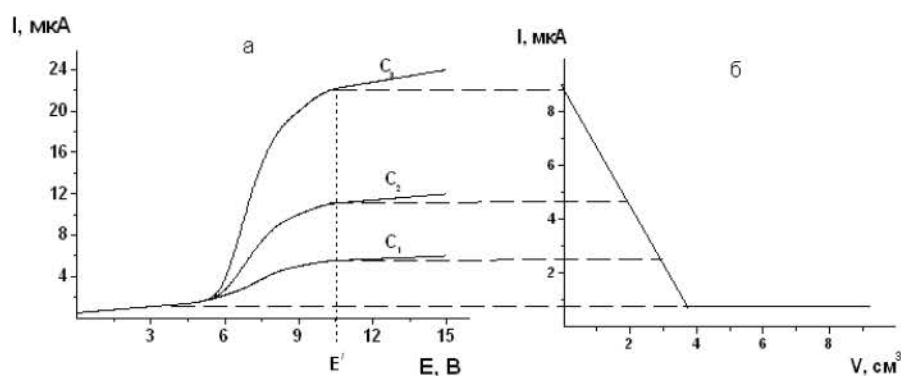


Рис.9.5. Вольтамперограма (а) і крива амперометричного титрування (б) електроактивної речовини з концентрацією  $C_1 < C_2 < C_3$  при потенціалі індикаторного електроду  $E'$ .

Амперометричне титрування проводять при постійному потенціалі, що відповідає граничному дифузійному струму депольоризатора ( $E = \text{const}$ ); у розчин додають фоновий електроліт; для реєстрації аналітичного сигналу необхідна система двох електродів – робочого мікроелектроду та електроду порівняння; швидкість перемішування розчину повинна бути постійною.

Вид кривих амперометричного титрування залежить від

електрохімічної активності визначуваної речовини, титранту або продукту їх взаємодії.

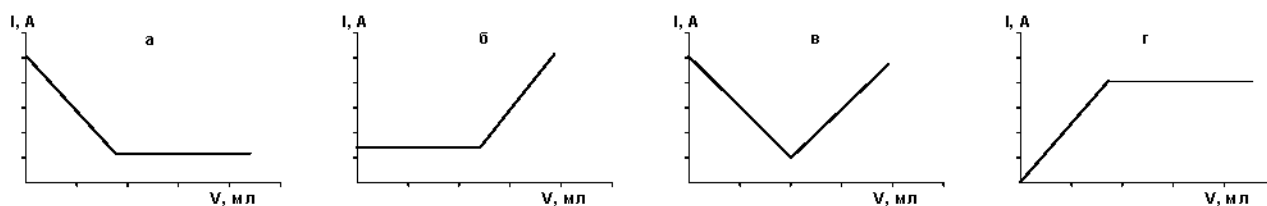
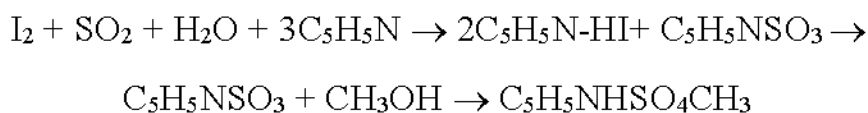


Рис.9.6. Криві амперометричного титрування: електроактивні *а* - визначувана речовина, *б* – титрант, *в* - визначувана речовина і титрант, *г* - продукт реакції

Класичним завданням амперометрії у фармацевтичному аналізі є визначення води у лікарських засобах за методом К.Фішера. Реактив К.Фішера являє собою розчин сірки діоксиду, йоду і піридину в метанолі. Взаємодія реактиву з водою відбувається стехіометрично за рівнянням:

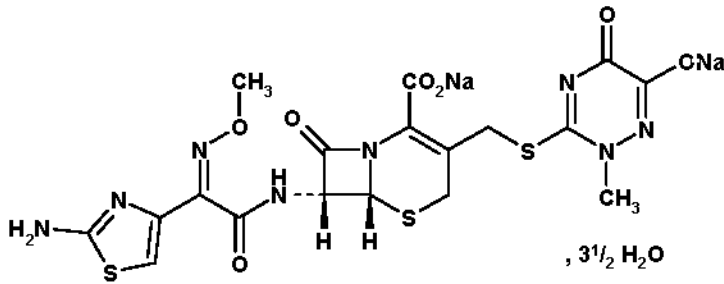


При визначенні води у твердих речовинах, нерозчинних у метанолі, тонко здрібнену наважку речовини збовтують з метанолом, після чого титрують реактивом К.Фішера. Деякі речовини або суміші можна розчиняти у безводних оцтовій кислоті, хлороформі, піридині та інших розчинниках.

### *Лабораторна робота №12*

#### **Амперметричне визначення води у субстанції цефтріаксону натрієвої солі за методом К.Фішера**





**Цефтріаксону натрієва сіль**

*Хімічна назва:*  
 Динатрій(6*R*,7*R*)-7-[[*(Z)*-(2-амінотіазол-4-іл)(метоксііміно)ацетил]аміно]-3-[[*(2*-метил-6-оксидо-5-оксо-2,5-дигідро-1,2,4-тріазин-3-іл)сульфаніл]метил]-8-оксо-5-тіа-1-азабіцикло[4.2.0]окт-2-ен-2-карбоксилат

Цефтріаксон є напівсинтетичним антибіотиком групи цефалоспоринів III покоління. Особливості хімічної структури препарату забезпечують його високу активність відносно грамнегативних бактерій і деяких мікроорганізмів, які виробляють  $\beta$ -лактамази. Препарат виявляє широкий спектр бактерицидної дії, пригнічує синтез клітинних мембран, ефективний щодо більшості грамнегативних і грампозитивних мікроорганізмів, стійких до інших цефалоспоринів, пеніцилінів та інших хіміотерапевтичних засобів.

#### **Реактиви та обладнання.**

1. Метанол безводний *P*;
2. Йод сірчастий реактив *P*; у колбу помішають 700 мл піридину безводного *P* і 700 мл монометилового ефіру етиленгліколю *P*, додають при постійному перемішуванні 220 г ретельно подрібненого йоду *P*, попередньо висушеного над фосфору (*V*) оксидом *P*. Перемішування продовжують до повного розчинення йоду (близько 30 хв), потім охолоджують колбу до температури 10°C і швидко додають при постійному перемішуванні 190 г сірки діоксиду *P*. Температура реакційної суміші не має перевищувати 30°C. Охолоджують.
3. Амперметр;
4. Бюретка
5. Терези аналітичні.

### Хід роботи.

Близько 20 мл *метанолу безводного* Р або розчинника, зазначеного в окремій статті, поміщають у посудину для титрування і титрують *йодсірчистим реактивом Р*, визначаючи кінцеву точку титрування амперометрично. 0,1 г (точна наважка) цефтріаксону швидко поміщають у посудину для титрування. Суміш перемішують протягом 1 хв і знову титрують *йодсірчистим реактивом Р*, визначаючи кінцеву точку титрування амперометрично. Вміст води у субстанції повинен становити від 8,0% до 11,0%.

### 9.3. Кондуктометрія

*Кондуктометричний метод* ґрунтується на зміні електропровідності розчинів залежно від концентрації присутніх заряджених частинок. *Електропровідність* ( $W$ , Ом<sup>-1</sup> або См) - здатність середовища (речовини) проводити електричний струм під дією зовнішнього джерела електричного поля - величина обернена електричному опору:

$$W = \frac{1}{R},$$

де  $R$  - опір розчину, Ом.

Розрізняють питому та еквівалентну електропровідність.

*Питома електропровідність*  $\chi$  (Ом<sup>-1</sup>·см<sup>-1</sup> або См<sup>-1</sup>·см<sup>-1</sup>) - електропровідність 1 см<sup>3</sup> розчину, поміщеного між двома електродами з площею поперечного перерізу 1 см<sup>2</sup> і відстань між якими 1 см. Питома електропровідність залежить від концентрації розчину, заряду іонів, швидкості їх руху, температури розчину і природи розчинника.

*Еквівалентна електропровідність*  $\lambda$  (Ом<sup>-1</sup>·см<sup>2</sup>/моль-екв) - електропровідність розчину, що містить 1 моль-екв речовини, поміщеного між двома паралельними електродами з площею поперечного перерізу 1 см<sup>2</sup>, відстань між якими 1 см. Залежність між питомою й еквівалентною електропровідністю описується рівнянням:

$$\lambda = \frac{\chi \cdot 1000}{c},$$

де  $c$  - концентрація розчину, моль/л.

Еквівалентна електропровідність (рухливість) зменшується з підвищенням концентрації розчину. При нескінченному розведенні розчинів рухливості іонів стають постійними, еквівалентна електропровідність нескінченно розведеного розчину електроліту  $\lambda^0$  дорівнює сумі рухливостей іонів:

$$\lambda^0 = \lambda_+^0 + \lambda_-^0.$$

По способу виконання аналізу розрізняють *пряму кондуктометрію* та *непряму (кондуктометричне титрування)*.

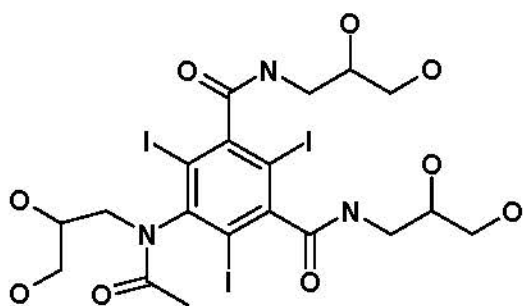
*Пряма кондуктометрія* ґрунтується на безпосередній залежності питомої електропровідності від концентрації іонів у розчині. За градуовальним графіком знаходять концентрацію індивідуальних речовин у розведених розчинах, де зберігається лінійність залежності  $\chi = f(c)$ . Незважаючи на високу точність, метод не знайшов широкого застосування в аналітичній практиці та фармацевтичному аналізі. Метод не селективний, оскільки електропровідність - адитивна величина (сума електропровідностей всіх іонів у розчині), тому навіть незначні домішки спотворюють результати аналізу. Метод застосовується для аналізу розчинів індивідуальних електролітів.

*Кондуктометричне титрування* - метод аналізу, у якому точку еквівалентності встановлюють по різкій зміні електропровідності при титруванні. Застосування титранту, здатного взаємодіяти тільки з певним іоном, підвищує селективність методу. Точку еквівалентності знаходять по кривій титрування  $\chi = f(V)$ .

*Лабораторна робота №13*

**Кондуктометричне визначення іонних компонентів в субстанції**

**йогексолу**



Йогексол

Хімічна назва: 5-[(ацетил)(2,3-дигідроксипропіл)аміно)]-*N,N*-біс(2,3-дигідроксипропіл)-2,4,6-трі-йодбензол-1,3-дикарбоксиамід

### Про субстанцію

#### Реактиви та обладнання.

1. Натрію хлорид *P*;
2. Кондуктометр;
3. Терези аналітичні.

#### Хід роботи.

**Випробовуваний розчин.** 1,0 г субстанції (точна наважка) розчиняють у воді *P* і розводять до 50 мл тим самим розчинником.

**Стандартний розчин.** 10,0 мг (точна наважка) натрію хлориду *P* розчиняють у воді *P* і розводять до 100 мл тим самим розчинником. 10 мл отриманого розчину розводять до 100 мл водою *P*.

Вимірюють питому електропровідність випробуваного та стандартного розчинів. Питома електропровідність випробуваного розчину не повинна перевищувати питому електропровідність стандартного розчину. За таких умов вміст іонних компонентів у перерахунку на вміст натрію хлориду *P* у субстанції не буде перевищувати 0,05% (м/м).

## РОЗДІЛ 10. ХРОМАТОГРАФІЧНИЙ АНАЛІЗ

У фармацевтичному аналізі для ідентифікації та кількісного визначення препаратів найбільш широко застосовуються площинна, рідинна та газова хроматографія.

### 10.1. Площинна хроматографія

До площинної (планарної) хроматографії належать хроматографія на

папері та тонкошарова хроматографія. На відміну від рідинної та газової колонкової хроматографії, у методах площинної хроматографії розділення речовин відбувається в тонкому шарі сорбенту, який нанесено на скляну або іншу пластинку чи на спеціальний папір для хроматографії, який одночасно є носієм нерухомої рідкої фази. Цими методами можна розділити речовини, які розчиняються в рідкій рухомій фазі.

У площинній хроматографії рухома рідка фаза пересувається уздовж тонкого шару твердої або рідкої нерухомої фази під дією капілярних сил. Тому її різновиди близькі між собою за технікою виконання аналізу і в них застосовується аналогічна апаратура. Основним недоліком площинної хроматографії, порівняно з колонковою, є практична неможливість застосування довгих шарів сорбенту - стандартні пластинки для тонкошарової хроматографії мають довжину 20 см, а у хроматографії на папері довжина паперової смуги не перевищує, як правило, 30-40 см. Це може виявитися недостатнім для повного розділення речовин за малої селективності сорбції.

За технікою виконання розрізняють такі різновиди площинної хроматографії: одновимірну, двовимірну, висхідну або низхідну, кругову. У випадку одновимірної висхідної хроматографії на нижню частину паперової смуги або тонкого шару сорбенту (лінія старту) наносять певний об'єм аналізованого розчину. При цьому бажано отримати на сорбенті пляму якомога меншого діаметра (2-3 мм). Після нанесення кожної невеликої порції досліджуваного розчину пляму висушують. Досліджуваний розчин наносять на відстані 1 см від краю пластини і переносять пластину в камеру для хроматографування з розчинником (рухома фаза). Нанесення проби є лімітуючою стадією проведення аналізу у площинній хроматографії. Об'єм проби становить 0,5-3,0 мкл. Кінець паперової смуги або пластинки з сорбентом занурюють у розчин так, щоб лінія старту була вище за рівень рідини.

Камера для хроматографування - це посудина з інертного прозорого

матеріалу з щільною кришкою. Для насичення атмосфери паром рухомої фази стінки камери вистилають фільтрувальним папером, наливають рухому фазу, закривають кришкою і витримують протягом 1 год при 20-25°C. Насичення необхідне для того, щоб змішані рухомі фази не розшарувались під час хроматографування, а час елюювання був меншим для усунення випаровування рухомої фази з країв пластинки. У висхідній хроматографії розчинник під дією капілярних сил підіймається вздовж шару сорбенту і промиває його. Компоненти суміші пересуваються на різну відстань від лінії старту, залежно від їх сорбційної здатності. Пластинку виймають, сушать і проявляють плями. Ефективність розділення багатокомпонентних сумішей можна підвищити, скориставшись методом двовимірної висхідної хроматографії. Суть методу полягає в тому, що спочатку отримують звичайну хроматограму на квадратному аркуші паперу або на квадратній тонкошаровій пластинці за допомогою рухомої фази певного складу. Потім папір (пластину) повертають на 90° і проводять подальше розділення, інколи використовуючи інший розчинник.

Відносну швидкість переміщення речовини в тонкому шарі сорбенту або на паперовій смузі характеризують коефіцієнтом рухомості  $R_f$ , який дорівнює відношенню відстані, що пройшла зона речовини, до відстані, яку пройшла рухома фаза (розчинник) за певний час:

$$R_f = \frac{l}{L}$$

Очевидно, що  $0 < R_f < 1$ . За сталих умов проведення хроматографічного аналізу величина  $R_f$  є якісною характеристикою речовини і не залежить від концентрації та наявності у розчині інших сполук. Вважають, що повне розділення двох речовин методом площинної хроматографії відбувається за умов  $R_{f1} - R_{f2} = \Delta R_f \geq 0,05$  (хроматографія на папері, довжина пробігу рухомої фази 30-40 см) або при  $\Delta R_f \geq 0,1$  (тонкошарова хроматографія, довжина пробігу рухомої фази 10 см).

Після розділення речовин, їх ідентифікують на основі величин  $R_f$ ,

отриманих для відомих стандартних речовин і компонентів суміші, яка аналізується. Якщо речовини безбарвні, їх проявляють обробкою хроматограми відповідним реагентом, що утворює з компонентами суміші забарвлені або люмінесціюючі сполуки. Кількісне визначення проводять візуально, порівнюючи або вимірюючи на спеціальному приладі інтенсивності забарвлення компонентів суміші та стандартної шкали, отриманої на тій самій хроматограмі.

**Хроматографія на папері.** Принцип методу полягає в розподілі речовин між двома рідкими фазами, одна з яких закріплена на поверхні паперової смуги (нерухома фаза), а друга є рухомою. Здебільшого нерухомою фазою є вода, яка добре адсорбується на гідрофільній целюлозі, а рухомою - органічний розчинник або суміш розчинників. Папір для хроматографії має бути хімічно чистим, однорідним і мати певну структуру, яка полягає в орієнтації волокон паперу в одному напрямку. Така структура забезпечує рівномірний рух речовин і розчинника вздовж смуги паперу й отримання чітких хроматограм. Можна використовувати папір марки ватман, щільний фільтрувальний папір тощо.

Ефективність розділення речовин методом хроматографії на папері залежить від правильного вибору рухомої і нерухомої фаз. Рідкі фази (розчинники) для хроматографії на папері мають задовольняти таким вимогам:

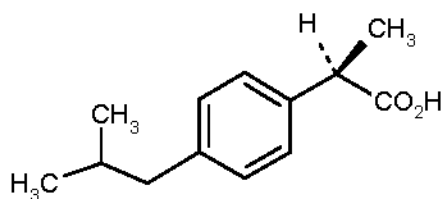
- рухома і нерухома фази не повинні змішуватись або взаємно розчинятись;
- компоненти аналізованої суміші повинні мати меншу розчинність у рухомій фазі, ніж у нерухомій;
- коефіцієнти розподілу між рухомою і нерухомою фазами мають бути різними;
- склад рухомої фази під час хроматографування не повинен змінюватися.

**Тонкошарова хроматографія.** У тонкошаровій хроматографії

розділення речовин ґрунтується на їх розподілі у системі тверда нерухома фаза (адсорбент) - рідка рухома фаза (розчинник) або у системі твердий носій - рідка нерухома фаза - рідка рухома фаза. У фармацевтичному аналізі широко використовується високоефективна тонкошарова хроматографія (ВЕТШХ). Швидкість рухомої фази задається зовнішнім пристроєм, хроматографування проводиться у спеціальних камерах. До переваг ВЕТШХ відносять зменшення тривалості аналізу, мінімальне розмивання плям і максимальну чутливість. Найчастіше ТШХ використовують у хімічному синтезі та фармацевтиці для ідентифікації речовин. Для цього на одну пластинку наносять поряд пробу досліджуваної речовини й еталона. Основну пляму на хроматограмі досліджуваного розчину порівнюють візуально з відповідною плямою на хроматограмі розчину еталону за забарвленням (кольором флуоресценції), розміром і  $R_f$  обох плям. Проводити напівкількісне визначення можна візуально, порівнянням забарвлення плями із стандартною шкалою. Візуально можна виявити 1 - 10 мг речовини з відтворюваністю 10-30%.

#### *Лабораторна робота №14*

### **Ідентифікація субстанції ібупрофену методом тонкошарової хроматографії**



*Хімічна назва:* (2RS)-2-[4-(2-метилпропіл)феніл]пропанова кислота

#### **Ібупрофен**

Ібупрофен – нестероїдний протизапальний і протиревматичний засіб. Проявляє протизапальну, аналгетичну і помірну жарознижувальну дію, зумовлені пригніченням біосинтезу простагландинів у тканинах шляхом інгібування активності циклооксигенази. Ібупрофен стимулює утворення



ендогенного інтерферону, здатний проявляти імуномодулюючий вплив і підвищувати неспецифічну резистентність організму.

#### **Реактиви та обладнання.**

1. Хроматографічні пластинки з шаром *силікагелю GF<sub>254</sub> P*, наприклад, *Silica gel 60F<sub>254</sub>* (“Merck”) або аналогічні, розміром 5 см × 12 см;
2. *Метиленхлорид P*;
3. *Стандартний зразок ібупрофену*;
4. Суміш розчинників *оцтова кислота льодяна P – етилацетат P – гексан P* (5 : 24 : 71 об/об/об);
5. Розчин *калію перманганату P* в *кислоті сірчаній розведеній P*, 10 г/л;
6. Терези аналітичні.

#### **Хід роботи.**

**Випробовуваний розчин.** 50 мг субстанції розчиняють в *метиленхлориді P*, доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 10 мл і перемішують.

**Розчин порівняння.** 50 мг *СЗ ібупрофену* розчиняють в *метиленхлориді P*, доводять об'єм розчину тим самим розчинником до 10 мл і перемішують.

На лінію старту хроматографічної пластинки наносять по 5 мкл (25 мкг) випробовуваного розчину і розчину порівняння. Пластинку поміщають у камеру з сумішшю розчинників *оцтова кислота льодяна P – етилацетат P – гексан P* (5 : 24 : 71 об/об/об) і хроматографують вертикальним елююванням. Коли фронт розчинників пройде 10 см від лінії старту, пластинку виймають з камери і сушать при температурі близько 120°C протягом 30 хв. Пластинку злегка обприскують розчином 10 г/л *калію перманганату P* в *кислоті сірчаній розведеній P*, висушують при температурі близько 120°C протягом 20 хв і переглядають в УФ-світлі за довжини хвилі 365 нм.

На хроматограмі випробовуваного розчину має виявлятися основна пляма на рівні основної плями на хроматограмі розчину порівняння, відповідна їй за розміром і інтенсивністю забарвлення.

## 10.2. Рідинна хроматографія

Рідинна хроматографія (РХ) є методом розділення, у якому рухомою фазою є рідина, а нерухомою фазою, поміщеною у колонку, є тонкодисперсна тверда речовина або рідина, нанесена на твердий тонкодисперсний носій, або твердий тонкодисперсний носій, хімічно модифікований шляхом уведення органічних груп.

Рідинна хроматографія заснована на механізмах адсорбції, розподілу, іонного обміну або розділення за розмірами молекул.

Обладнання звичайно складається з системи подавання рухомої фази, блока вводу проби (з використанням шприца або петлевого дозатора), хроматографічної колонки, детектора і реєструючого пристрою. Рухома фаза звичайно подається під тиском з однієї або декількох посудин і протікає через блок вводу проби, колонку, а потім через детектор із заданою швидкістю.

Температуру хроматографічної колонки підтримують постійною. Склад рухомої фази може або залишатися постійним протягом всього аналізу (ізократичне елюювання), або може змінюватися відповідно до заданої програми (градієнтне елюювання).

Детектор має забезпечувати визначення тих кількостей аналізованих речовин, які виходять з колонки. Звичайно для детектування використовують абсорбційну спектрофотометрію, диференціальну рефрактометрію, флуориметрію, спалювання і електрохімічні методи.

Колонку врівноважують при зазначеному складі рухомої фази. Готують випробовуваний розчин і розчин(и) порівняння. Розчини не мають містити твердих часток. Використовуючи розчини порівняння, настроюють прилад і підбирають об'єми проб, що вводяться, які дозволяють одержати необхідний (адекватний) сигнал. Виконують повторні введення для перевірки збіжності сигналу і перевіряють, якщо необхідно, число теоретичних тарілок.

Вводять розчини і реєструють результати хроматографування. Для

перевірки збіжності сигналу виконують повторні введення. Визначають площі піків аналізованих компонентів. У випадку, якщо коефіцієнт симетрії, обчислений, як описано нижче, має значення від 0,8 до 1,20, допускається проводити визначення за висотою піків. При використанні градієнтного елюювання необхідно проводити визначення за площами піків. При використанні внутрішнього стандарту треба переконатися, що жоден з піків аналізованої речовини або його домішки не маскується піком внутрішнього стандарту.

З одержаних значень обчислюють вміст визначуваного компонента або компонентів. Якщо зазначено в окремій статті, відсотковий вміст одного або декількох компонентів аналізованої проби визначають за допомогою обчислення відсоткової частки площі відповідного піка або піків до сумарної площі всіх піків, виключаючи піки розчинників або доданих реактивів (метод внутрішньої нормалізації). У цих випадках рекомендується використання широкодіапазонного підсилювача і автоматичного інтегратора.

**Коефіцієнт симетрії** піка може бути обчислений за формулою:

$$\frac{b_{0,05}}{2A}$$

$b_{0,05}$  - ширина піка на одній двадцятій висоти піка;

$A$  - відстань між перпендикуляром, опущеним з максимуму піка, і передньою межею піка на одній двадцятій висоти піка.

**Коефіцієнт розділення**  $R_s$  може бути обчислений за формулою:

$$R_s = \frac{1,18(t_{Rb} - t_{Ra})}{b_{0,5a} - b_{0,5b}}$$

$$t_{Rb} > t_{Ra},$$

$t_{Rb}$  та  $t_{Ra}$  - відстані уздовж базової лінії від точки введення проби до перпендикулярів, опущених з максимумів двох сусідніх піків, у міліметрах;

$b_{0,5a}$  та  $b_{0,5b}$  - ширина піків на половині висоти, у міліметрах.

Якщо немає інших зазначень в окремій статті, результати аналізу вважаються вірогідними, якщо коефіцієнт розділення для вимірюваних піків

на хроматограмі більше 1,0.

**Число теоретичних тарілок ( $n$ )** може бути обчислене з даних, одержаних в ізократичному режимі, за формулою:

$$n = 5,54 \left( \frac{t_R}{b_{0,5}} \right)^2,$$

$t_R$  - відстань уздовж базової лінії від точки введення проби до перпендикуляра, опущеного з максимуму піка аналізованої речовини, у міліметрах;

$b_{0,5}$  - ширина піка на половині висоти, у міліметрах.

**Коефіцієнт ємності  $k'$**  (відомий також як коефіцієнт розподілу мас  $D_m$ ) визначають як:

$$D_m = k' = \frac{KPH\Phi}{KPP\Phi} = K \frac{V_s}{V_m},$$

$KPH\Phi$  - кількість розчиненої речовини у нерухомій фазі;

$KPP\Phi$  - кількість розчиненої речовини у рухомій фазі;

$K$  - рівноважний коефіцієнт розподілу;

$V_s$  - об'єм нерухомої фази;

$V_m$  - об'єм рухомої фази.

Коефіцієнт ємності компонента може бути визначений з даних хроматограми за формулою:

$$D_m = k' = \frac{t_R - t_{R'}}{t_{R'}},$$

$t_R$  - відстань уздовж базової лінії від точки введення проби до перпендикуляра, опущеного з максимуму піка аналізованого компонента, у міліметрах;

$t_{R'}$  - відстань уздовж базової лінії від точки введення проби до перпендикуляра, опущеного з максимуму піка неутриманого компонента, у міліметрах.

**Відношення сигнал / шум ( $S/N$ )** обчислюють за формулою:

$$S/N = \frac{2H}{A_n},$$

$H$  - висота піка відповідного компонента на хроматограмі, одержаній для зазначеного розчину порівняння;

$A_n$  - абсолютне значення найбільшої флуктуації шуму базової лінії на хроматограмі холостого розчину, яке спостерігається на проміжку, що дорівнює двадцятикратній ширині на напіввисоті піка хроматограми розчину порівняння, розміщеному рівномірно навколо місця розташування піка.

Відносний час утримування — це відношення часу утримування аналізованої речовини до часу утримування речовини, взятої за стандарт.

### ***ІДЕНТИФІКАЦІЯ.***

Ідентифікацію звичайно проводять одним із таких способів:

- 1) порівняння часів утримування аналізованої речовини у пробі і розчині порівняння;
- 2) порівняння відносних часів утримування аналізованої речовини у пробі і розчині порівняння;
- 3) порівняння хроматограми проби з хроматограмою розчину порівняння або з хроматограмою, наведеною в окремій статті.

Звичайно використовують перший спосіб. Другий спосіб доцільно використовувати, якщо можлива невідтворюванність умов хроматографування. Третій спосіб може застосовуватися для препаратів рослинного і тваринного походження.

### ***КІЛЬКІСНЕ ВИЗНАЧЕННЯ.***

*Абсолютне калібрування.* Якщо немає інших зазначень в окремій статті, випробовуваний розчин і розчин порівняння поперемінно хроматографують на рідинному хроматографі, одержуючи не менше п'яти хроматограм. Для випробовуваного розчину і розчину порівняння розраховують середні значення площ або висот піків аналізованої речовини. За одержаними середніми значеннями розраховують концентрацію аналізованої речовини у випробовуваному розчині.

*Метод внутрішнього стандарту.* Для кожної хроматограми спочатку розраховують відношення площі або висоти піка аналізованої речовини до площі або висоти піка внутрішнього стандарту. Одержані відношення усереднюють для випробовуваного розчину і розчину порівняння і за знайденими середніми значеннями визначають концентрацію аналізованої речовини у випробовуваному розчині.

### **КОНТРОЛЬ ДОМІШОК.**

Для контролю домішок звичайно використовують такі підходи.

1. *Кількісне визначення домішки з використанням розчину порівняння з відомою концентрацією домішки* (зазвичай у варіанті абсолютного калібрування). Такий підхід передбачає однаковий відгук домішки у присутності й у відсутності основної речовини.

2. *Метод внутрішньої нормалізації.* Такий підхід передбачає виконання лінійності у широкому діапазоні й може вимагати врахування відмінностей у відгуках домішки й основної речовини. Його часто застосовують для визначення суми домішок. При цьому суму площ усіх піків на хроматограмі (без врахування піка розчинника) беруть за 100% і вміст кожної конкретної домішки або суми домішок знаходять як частку площі піка цієї домішки або суми площ піків домішок у загальній сумі площ усіх піків на хроматограмі.

3. *Порівняння з розведеним розчином основної речовини.*

4. *Метод стандартних добавок.* До аналізованої проби додають відому кількість домішки. За даними хроматографування проби і проби з відповідною добавкою визначають вміст домішки. Для підвищення точності можливе використання методу внутрішнього стандарту.

### **УМОВИ ХРОМАТОГРАФІЧНОГО АНАЛІЗУ.**

У методиці рекомендується зазначати такі умови аналізу:

- розміри хроматографічної колонки і матеріал, з якого вона виготовлена;
- тип нерухомої фази і, якщо необхідно, її комерційну марку;

- розмір часток нерухомої фази;
- температуру колонки;
- швидкість і склад рухомої фази;
- тип детектора.

**Придатність хроматографічної системи.** Результати аналізу вважаються вірогідними, якщо виконуються вимоги тесту "Перевірка придатності хроматографічної системи". Такий тест звичайно проводять з використанням розчинів порівняння.

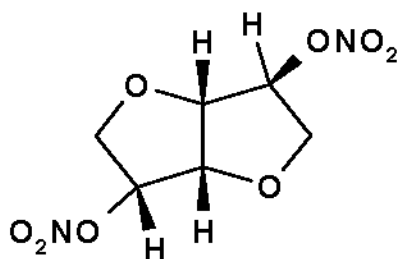
Якщо немає інших зазначень в окремій статті, хроматографічна система вважається придатною, якщо виконуються такі умови:

- відносні часи утримування зазначених речовин мають бути близькими до зазначених величин;
- число теоретичних тарілок (ефективність хроматографічної системи), розраховане за зазначеним піком, має бути не менше зазначеної величини;
- коефіцієнт розділення зазначених піків, розрахований з хроматограм розчину порівняння, має бути не менше зазначеної величини;
- відносне стандартне відхилення, розраховане для висоти або площі зазначеного піка або їх відношень до висоти або площі піка внутрішнього стандарту з хроматограм розчину порівняння, має бути не більше зазначеної величини; для розрахунку відносного стандартного відхилення використовують дані п'яти паралельних хроматограм;
- коефіцієнт симетрії зазначеного піка, розрахований з хроматограм розчину порівняння, має бути у межах, зазначених в окремій статті.

*Лабораторна робота №15*

**ВЕРХ-визначення вмісту основної речовини ізосорбиду динітрату в**

## препараті «Нітросорбід, таблетки по 10 мг»



*Хімічна назва:* 1,4:3,6-диангідро-D-глюкітолу 2,5-динітрат

### Ізосорбіду динітрат

Ізосорбіду динітрат – периферичний вазодилататор з переважним впливом на венозні судини, активна речовина таблеток «Нітросорбід». Таблетки «Нітросорбід» – це антиангінальний засіб. Механізм дії пов'язаний з вивільненням активною речовиною оксиду азоту. У гладких м'язах судин оксид азоту активує гуанілатциклазу та підвищує рівень циклічного 3',5'-гуанозинмонофосфату, що зрештою приводить до розслаблення гладких м'язів. Дія ізосорбіду динітрату пов'язана головним чином із зменшенням потреби міокарда в кисні за рахунок зменшення переднавантаження (розширення периферичних вен і зменшення припливу крові до правого передсердя) та післянавантаження (зменшення загального периферичного судинного опору), а також з безпосередньою коронаророзширювальною дією. Ізосорбіду динітрат сприяє перерозподілу коронарного кровотоку в ділянці зі зниженим кровозабезпеченням. Підвищує толерантність до фізичних навантажень у пацієнтів з ішемічною хворобою серця, стенокардією. При серцевій недостатності препарат сприяє розвантаженню міокарда за рахунок зменшення переднавантаження, знижує тиск у малому колі кровообігу.

### Реактиви та обладнання.

1. Стандартний зразок ізосорбіду динітрату;
2. Рухома фаза: вода *P* – метанол *P* – буферний розчин (350 : 550 : 100);
3. Ультразвукова баня;



4. Терези аналітичні;
5. Рідинний хроматограф.

### Хід роботи.

**Випробовуваний розчин.** До 250,0 мг порошку розтертих таблеток додають 30 мл рухомої фази і витримують на ультразвуковій бані протягом 15 хв, доводять об'єм розчину рухомою фазою до 50,0 мл, перемішують і фільтрують через фільтр 0,45 мкм або центрифугують при 8000 об/хв протягом 5 хв.

**Розчин порівняння.** 25,0 мг *СЗ ізосорбиду динітрату* розчиняють у 40 мл рухомої фази на ультразвуковій бані, доводять об'єм розчину рухомою фазою до 50,0 мл і перемішують.

Хроматографують 20 мкл розчину порівняння. Хроматографічна система вважається придатною, якщо:

- ефективність хроматографічної колонки, розрахована за піком ізосорбиду динітрату, не менше 1500 теоретичних тарілок;
- відносне стандартне відхилення, розраховане для площ піків ізосорбиду динітрату, не перевищує 2,0%;
- коефіцієнт симетрії, розрахований для піка ізосорбиду динітрату, має бути не менше 0,8 и не більше 1,5.

Попеременно хроматографують 20 мкл випробовуваного розчину і 20 мкл розчину порівняння.

Вміст ізосорбиду динітрату ( $X$ ) в одній таблетці, у міліграмах, розраховують за формулою:

$$X = \frac{S_1 \cdot m_0 \cdot b \cdot P \cdot 0,01}{S_0 \cdot m_1},$$

де  $S_1$  - середнє значення площ піків ізосорбиду динітрату, розраховане із хроматограм випробовуваного розчину;

$S_0$  - середнє значення площ піків *СЗ ізосорбиду динітрату*, розраховане із хроматограм розчину порівняння;

$m_1$  - маса наважки препарату, у міліграмах;

$m_0$  - маса наважки *СЗ ізосорбиду динітрату*, у міліграмах;

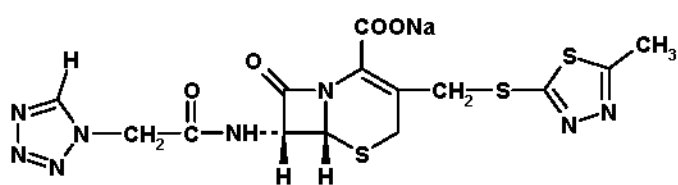
$P$  - вміст ізосорбиду динітрату в *СЗ ізосорбиду динітрату*, у відсотках;

$b$  – номінальна маса таблетки, у міліграмах.

Вміст  $C_6H_8N_2O_8$  (ізосорбиду динітрату) в одній таблетці, у міліграмах, має бути від 9,0 мг до 11,0 мг, у перерахунку на масу однієї таблетки.

### Лабораторна робота №16

#### ВЕРХ-визначення вмісту основної речовини цефазоліну в субстанції



**Цефазолін**

*Хімічна назва:* натрій (6*R*,7*R*)-3-[(5-метил-1,3,4-тіазол-2-іл)тіометил]-8-оксо-7-[2-(1*H*-тетразол-1-іл)ацетамідо]аміно]-5-тіа-1-азабіцик-ло[4.2.0]окт-2-ен-2-карбоксилат

Цефазолін – антибіотик групи цефалоспоринів. Цефазолін є напівсинтетичним антибіотиком групи цефалоспоринів I покоління. Препарат має широкий спектр бактерицидної дії, пригнічує синтез клітинної стінки бактерій, ефективний відносно більшості грамнегативних та грампозитивних мікроорганізмів, у тому числі до тих, що утворюють і не утворюють пеніциліназу. Не діє на рикетсії, віруси, гриби, простіші.

#### Реактиви та обладнання.

1. Стандартний зразок цефазоліну,
2. Стандартний зразок цефуроксиму натрієвої солі;
3. Рухома фаза: 2,49 г динатрію гідрофосфату  $P$  і 1,67 г кислоти лимонної  $P$  поміщають у мірну колбу місткістю 1 л, розчиняють у 500 мл води  $P$ , доводять об'єм розчину водою  $P$  до 900 мл, додають 100 мл ацетонітрилу  $P$ , перемішують і дегазують будь-яким зручним способом; розчин використовують свіжоприготовленим;
4. Терези аналітичні.

## 5. Рідинний хроматограф.

### Хід роботи.

**Випробовуваний розчин.** Близько 50,0 мг (точна наважка) субстанції поміщають у мірну колбу місткістю 50 мл, розчиняють у 30 мл рухомої фази, доводять об'єм розчину рухомою фазою до позначки і перемішують.

**Розчин порівняння (а).** Близько 50,0 мг (точна наважка) *СЗ цефазоліну* поміщають у мірну колбу місткістю 50 мл, розчиняють у 30 мл рухомої фази, доводять об'єм розчину рухомою фазою до позначки і перемішують. Розчин використовують свіжоприготовленим.

**Розчин порівняння (b).** 5 мг *СЗ цефуроксиму натрієвої солі* поміщають у мірну колбу місткістю 100 мл, розчиняють у 10,0 мл розчину порівняння (а), доводять об'єм розчину рухомою фазою до позначки і перемішують. Розчин використовують свіжоприготовленим.

Хроматографування проводять на рідинному хроматографі з УФ-детектором за таких умов:

- колонка з нержавіючої сталі розміром (150 × 3,9) мм, заповнена сорбентом «Symmetry C<sub>18</sub>» з розміром частинок 5 мкм («Waters», США), або аналогічна, для якої виконуються вимоги тесту «Перевірка придатності хроматографічної системи»;
- швидкість рухомої фази – 1,0 мл/хв;
- детектування за довжини хвилі 270 нм;
- температура колонки - 20 °С;
- об'єм проби, що вводиться - 20 мкл.

Хроматографують розчин порівняння (b). Хроматографічна система вважається придатною, якщо виконуються такі умови:

- число теоретичних тарілок, розраховане за піком цефазоліну, становить не менше 2500;
- коефіцієнт розділення двох основних піків, що відповідають цефазоліну і цефуроксиму, становить не менше 2,0, якщо необхідно, коректують вміст ацетонітрилу в рухомій фазі;

- коефіцієнт симетрії піка, розрахований за піком цефазоліну, повинен бути не менше 0,8 і не більше 1,5.

Хроматографують розчин порівняння (а) шість разів.

Хроматографічна система вважається придатною, якщо відносне стандартне відхилення для площі піка цефазоліну не перевищує 1,0%.

Поперемінно хроматографують випробовуваний розчин і розчин порівняння (а). Вміст цефазоліну натрієвої солі (X) у субстанції, у перерахунку на безводну речовину, у відсотках, обчислюють за формулою:

$$X = \frac{S_1 \cdot m_0 \cdot P \cdot 104,84}{S_0 \cdot m_1 \cdot (100 - W)}$$

де  $S_1$  - середнє значення площ піків цефазоліну, розраховане з хроматограм випробовуваного розчину;

$S_0$  - середнє значення площ піків цефазоліну, розраховане з хроматограм розчину порівняння (а);

$m_1$  - маса наважки субстанції, у міліграмах;

$m_0$  - маса наважки *СЗ цефазоліну*, у міліграмах;

$P$  - вміст цефазоліну ( $C_{14}H_{14}N_8O_4S_3$ ) у *СЗ цефазоліну*, у відсотках.

$W$  - вміст води в субстанції, у відсотках;

1,0484 - коефіцієнт перерахунку цефазоліну на цефазоліну натрієву сіль.

Вміст  $C_{14}H_{13}N_8Na_4S_3$  (цефазоліну натрієвої солі) у субстанції повинен бути не менше 95,0% і не більше 102,0%, у перерахунку на безводну речовину.

### 10.3. Газова хроматографія

Газова хроматографія (ГХ) являє собою метод розділення, у якому рухомою фазою є газ (газ-носій), а нерухомою фазою, поміщеною у колонку, є тверда речовина або рідина, що нанесені на твердий інертний носій або рівномірно покривають внутрішні стінки колонки.

Газова хроматографія заснована на механізмах адсорбції і/або

розподілу.

Обладнання складається з системи подачі газу, пристрою вводу проби, хроматографічної колонки, детектора і реєструючого пристрою. Колонки звичайно виготовляють із скла або нержавіючої сталі й заповнюють нерухомою фазою. Газ-носій проходить із заданою швидкістю через блок вводу проби, колонку, а потім через детектор.

Визначення проводять при постійній температурі або у відповідності із заданою температурною програмою.

Використовуваний детектор має забезпечувати визначення тих кількостей аналізованих речовин, які виходять з колонки. Звичайно детектування засноване на ефектах іонізації у полум'ї, теплопровідності, термоіонному ефекті або на ефекті захвату електронів.

Колонку, пристрій вводу проби і детектор термостатують при зазначеній температурі. Готують випробовуваний розчин і розчин(и) порівняння, як зазначено в окремій статті. Використовуючи розчини порівняння, настроюють прилад і добирають об'єми проб, що вводяться і дозволяють одержати необхідний сигнал. Виконують повторні введення для перевірки збіжності сигналу і перевіряють, якщо необхідно, число теоретичних тарілок.

Вводять розчини і реєструють результати хроматографування. Для перевірки збіжності сигналу виконують повторні введення. Визначають площі піків аналізованих компонентів. У випадку, якщо коефіцієнт симетрії має значення 0,8- 1,20, допускається визначення за висотою піків. При використанні програмування температури необхідно проводити визначення за площами піків. При використанні внутрішнього стандарту треба упевнитися, що жоден з піків, що відносяться до аналізованої речовини або її домішки, не маскується піком внутрішнього стандарту.

Обчислення результатів аналізу проводять аналогічно до таких для рідинної хроматографії. Коефіцієнт симетрії піка, коефіцієнт розділення, число теоретичних тарілок, коефіцієнт ємності, співвідношення сигнал/шум в

газовій хроматографії також розраховуються аналогічно рідинній хроматографії.

### *ПАРОФАЗНА ГАЗОВА ХРОМАТОГРАФІЯ.*

Парофазна ГХ є методом, найбільш придатним для розділення і визначення летких сполук, присутніх у твердих або рідких зразках. Метод заснований на аналізі парової фази, що перебуває у рівновазі з твердою або рідкою фазою.

Обладнання складається з газового хроматографа, оснащеного блоком вводу парової фази, що знаходиться над випробовуваним зразком. Пристрій вводу може бути приєднаний до блока, що автоматично контролює і регулює тиск і температуру. Якщо необхідно, використовують пристрій для видалення розчинників.

Аналізовану пробу вводять у контейнер, оснащений придатною пробкою і клапанною системою, яка регулює проходження газу-носія. Контейнер поміщають у термостатовану камеру з температурою, що встановлюється відповідно до властивостей аналізованого зразка. Пробу витримують при заданій температурі протягом часу, достатнього для встановлення рівноваги між твердою або рідкою фазою і паровою фазою. У контейнер вводять газ-носії і після закінчення зазначеного часу відкривають клапан, щоб газ надходив у хроматографічну колонку, переносячи з собою компоненти, що перейшли в парову фазу.

Замість використання хроматографа, спеціально оснащеного блоком вводу парової фази, можливе використання герметичних шприців і хроматографа без зазначеного пристрою. У цьому випадку рівновага встановлюється в окремій камері, і парова фаза переноситься в колонку з дотриманням необхідних застережних заходів для запобігання будь-яких змін рівноважного складу.

**Методика.** Настроюють прилад для одержання необхідного сигналу, використовуючи підготовані зразки порівняння.

*Метод прямого калібрування.* В однакові контейнери нарізно

поміщають аналізовану пробу і кожний із зразків порівняння, приготовані, як зазначено в окремій статті, уникаючи контакту між пристроєм для вводу проб і зразками. Контейнери герметичне закривають і поміщають у термостатовану камеру з температурою і тиском, зазначеними в окремій статті. Після встановлення рівноваги парову фазу хроматографують у зазначених умовах.

*Метод стандартних добавок.* Рівні об'єми аналізованої проби поміщають в однакові зазначені в окремій статті контейнери. В усі контейнери, крім одного, додають зазначені кількості розчину порівняння, що містить відому концентрацію аналізованої речовини, для одержання ряду зразків з концентраціями цієї речовини, що рівномірно збільшуються.

Контейнери герметичне закривають і поміщають у термостатовану камеру з температурою і тиском, зазначеними в окремій статті. Після встановлення рівноваги хроматографують парову фазу в зазначених умовах.

Рівняння лінійної залежності розраховують методом найменших квадратів. За одержаним рівнянням визначають концентрацію аналізованої речовини у випробовуваній пробі. Допускається визначення концентрації з використанням графічного методу. Для цього по осі ординат відкладають середні значення одержаних результатів, а по осі абсцис — концентрації стандартних добавок аналізованої речовини. Екстраполюють лінію, що проходить через одержані точки, до перетину з віссю абсцис. Відстань між цією точкою і початком координат являє собою концентрацію аналізованої речовини у випробовуваному розчині.

Ідентифікацію, кількісне визначення та контроль домішок проводять за схемами, аналогічними для рідинної хроматографії.

#### ***УМОВИ ХРОМАТОГРАФІЧНОГО АНАЛІЗУ.***

У методиці рекомендується зазначати такі умови аналізу:

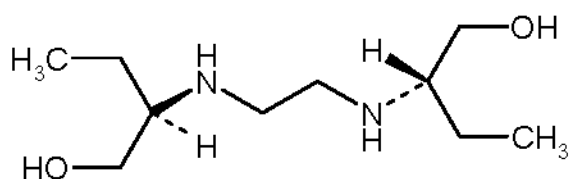
- розміри хроматографічної колонки і матеріал, із якого вона виготовлена;
- тип нерухомої фази та її кількість;

- тип твердого носія і розмір його часток;
- температуру колонки, блока вводу проб і детектора;
- газ-носій і його витрата;
- тип детектора;
- коефіцієнт поділу потоку (для капілярних колонок).

**Придатність хроматографічної системи.** Результати аналізу вважаються вірогідними, якщо виконуються вимоги теста "Перевірка придатності хроматографічної системи". Даний тест звичайно проводять з використанням розчинів порівняння аналогічно рідинній хроматографії. Для забезпечення виконання вимог такого тесту інколи допускається модифікація хроматографічних умов, описаних в окремій статті (зміна температури термостата колонок і/або витрати газу-носія).

### Лабораторна робота №17

**Визначення залишкових кількостей органічних розчинників в субстанції етамбутолу гідрохлориду методом газової хроматографії**



Хімічна назва: 2,2'-  
(етилендііміно)біс[(2 S)-бутан-1-ол]  
дигідрохлорид

### Етамбутол

Етамбутол - протитуберкульозний засіб другого ряду. Виявляє бактериостатичну дію тільки на *M.tuberculosis*, включаючи штами, стійкі до стрептоміцину, канаміцину, ізоніазиду, ПАСК та етіонаміду. Механізм ефекту пов'язаний зі швидким проникненням всередину клітини, де порушує ліпідний обмін, синтез РНК; зв'язуються іони магнію і міді, порушується структура рибосом та синтез білка.

### Реактиви та обладнання.

1. Метанол Р, пропанол Р, 2-пропанол Р, метиленхлорид Р, етиленхлорид



*P, N,N-диметилацетамід P, циклогексан P;*

2. *Субстанція етамбутолу гідрохлориду;*

3. *Газовий хроматограф;*

6. Терези аналітичні.

### **Хід роботи.**

**Розчин внутрішнього стандарту (1).** Близько 2,50 г (точна наважка) *пропанолу P* поміщають у мірну колбу місткістю 100 мл, в яку попередньо вносять 25 мл *води P*, доводять об'єм розчину *водою P* до позначки і перемішують. 1,0 мл одержаного розчину поміщають у мірну колбу місткістю 100 мл, доводять об'єм розчину *водою P* до позначки і перемішують.

**Розчин внутрішнього стандарту (2).** Близько 0,125 г (точна наважка) *метиленхлориду P* поміщають у мірну колбу місткістю 250 мл, в яку попередньо вносять 50 мл *води P*, доводять об'єм розчину *водою P* до позначки, витримують на ультразвуковій бані протягом 10 хв і перемішують. 1,0 мл одержаного розчину поміщають у мірну колбу місткістю 100 мл, доводять об'єм розчину *водою P* до позначки і перемішують. 0,5 мл одержаного розчину поміщають у мірну колбу місткістю 10 мл, доводять об'єм розчину *водою P* до позначки і перемішують.

**Випробовуваний розчин (1).** Близько 0,050 г (точна наважка) субстанції поміщають у флакон, споряджений прокладкою та металевим обтискним ковпачком, додають 3,0 мл *води P*, 1,0 мл розчину внутрішнього стандарту (1), 1,0 мл розчину внутрішнього стандарту (2) і закупорюють.

**Випробовуваний розчин (2).** Близько 0,050 г (точна наважка) субстанції поміщають у флакон, споряджений прокладкою та металевим обтискним ковпачком, додають 3,0 мл *води P*, 1,0 мл внутрішнього стандарту (2), 1 мл розчину порівняння (а) і закупорюють.

**Розчин порівняння (а).** Близько 0,125 г (точна наважка) *етиленхлориду P* поміщають у мірну колбу місткістю 50 мл, в яку попередньо вносять 25 мл *N,N-диметилацетаміду P*, доводять об'єм розчину *N,N-диметилацетамідом P* до позначки і перемішують. 1,0 мл одержаного розчину поміщають у мірну

колбу місткістю 100 мл, доводять об'єм розчину *водою P* до позначки і перемішують. 1,0 мл одержаного розчину поміщають у мірну колбу місткістю 100 мл, доводять об'єм розчину *водою P* до позначки і перемішують

**Розчин порівняння (b).** Близько 0,250 г (точна наважка) *циклогексану P* поміщають у мірну колбу місткістю 100 мл, в яку попередньо вносять 25 мл *N,N*-диметилацетаміду *P*, доводять об'єм розчину *N,N*-диметилацетамідом *P* до позначки і перемішують. 1,0 мл одержаного розчину поміщають у мірну колбу місткістю 10 мл, доводять об'єм розчину *N,N*-диметилацетамідом *P* до позначки і перемішують.

**Розчин порівняння (c).** Близько 2,50 г (точна наважка) *етанолу P*, близько 2,50 г (точна наважка) *2-пропанолу P*, близько 1,50 г (точна наважка) *метанолу P* поміщають у мірну колбу місткістю 100 мл, в яку попередньо вносять 25 мл *води P*, доводять об'єм розчину *водою P* до позначки і перемішують. 1,0 мл одержаного розчину поміщають у мірну колбу місткістю 100 мл, додають 1,0 мл розчину порівняння (b), доводять об'єм розчину *водою P* до позначки, витримують на ультразвуковій бані протягом 10 хв і перемішують.

**Розчин порівняння (d).** 1,0 мл розчину порівняння (c) поміщають у флакон, споряджений прокладкою та металевим обтискним ковпачком, додають 1,0 мл *води P*, 1,0 мл розчину внутрішнього стандарту (1), 1,0 мл розчину внутрішнього стандарту (2), 1,0 мл розчину порівняння (a) і закупорюють.

**Вимоги до хроматографа.** Газовий хроматограф з програмуванням температури має бути споряджений:

- полуменево-іонізаційним детектором;
- колонкою капілярною кварцовою CP-1301, розміром 30 м x 0,53 мм, покритою шаром *полі[(ціанопротіл)(феніл)] [диметил] силоксану P* товщиною 1 мкм, фірми «Chrompack-Varian», США, або аналогічною, для якої виконуються вимоги тесту “Перевірка придатності хроматографічної

системи”;

- парофазним пристроєм.

Флакони з випробовуваним розчином (1), випробовуваним розчином (2) і розчином порівняння (d) поміщають у парофазний пристрій і витримують за таких умов:

- час врівноваження – 20 хв;
- температура врівноваження – 80 °С;
- температура шприца – 85 °С;

Відбір газової фази здійснюють негайно.

**Перевірка придатності хроматографічної системи.** Для перевірки придатності хроматографічної системи перед початком аналізу хроматографують 1 мл газової фази розчину порівняння (d), одержуючи не менше п’яти хроматограм, за таких умов:

- температура колонки, що програмується: 35°С – 5 хв, підвищення температури до 240°С з градієнтом 20°С/хв, витримка при 240°С не менше 5 хв;
- температура блока вводу проб – 180°С;
- температура детектора – 260°С;
- газ-носій – азот або гелій для хроматографії P;
- швидкість газу-носія через колонку від 2 до 3 мл/хв.

**Хроматографічна система вважається придатною, якщо виконуються такі умови:**

- число теоретичних тарілок, розраховане за піком етанолу або 2-пропанолу, або метанолу, або циклогексану, або етиленхлориду, становить не менше 10000;
- коефіцієнт розділення, розрахований для піка етанолу або 2-пропанолу, або метанолу, або циклогексану, або етиленхлориду з найближчим сусіднім піком, становить не менше 1,5;
- відносне стандартне відхилення, розраховане для площі піка етанолу або 2-пропанолу, або метанолу до площі піка внутрішнього стандарту

- (1), не перевищує 5,0%;
- відносне стандартне відхилення, розраховане для відношення площі піка циклогексану до площі піка внутрішнього стандарту (1), не перевищує 10,0%;
  - відносне стандартне відхилення, розраховане для відношення площі піка етиленхлориду до площі піка внутрішнього стандарту (2), не перевищує 15,0%;

**Визначення.** По 1 мл газової фази випробовуваного розчину (1), випробовуваного розчину (2) і розчину порівняння (d) поперемінно хроматографують, одержуючи не менше п'яти хроматограм, за зазначених вище умов. Вміст етанолу або 2-пропанолу, або метанолу (X) у субстанції, у відсотках, обчислюють за формулою:

$$X = \frac{B_1 \cdot m_0}{B_0 \cdot m_1 \cdot 100},$$

де  $B_1$  - середнє значення відношень площ піків етанолу або 2-пропанолу, або метанолу до площ піків внутрішнього стандарту (1), розраховане з хроматограм випробовуваного розчину (1);

$B_0$  - середнє значення відношень площ піків етанолу або 2-пропанолу, або метанолу до площ піків внутрішнього стандарту (1), розраховане з хроматограм розчину порівняння (d);

$m_1$  - маса наважки субстанції, у грамах;

$m_0$  - маса наважки етанолу або 2-пропанолу, або метанолу, взятої для приготування розчину порівняння (c), у грамах.

Вміст циклогексану ( $X_1$ ) у субстанції, у відсотках, обчислюють за формулою:

$$X_1 = \frac{B_1 \cdot m_0}{B_0 \cdot m_1 \cdot 1000},$$

де,  $B_1$  - середнє значення відношень площ піків циклогексану до площ піків внутрішнього стандарту (1), розраховане з хроматограм випробовуваного розчину (1);

$V_0$  - середнє значення відношень площ піків циклогексану до площ піків внутрішнього стандарту (1), розраховане з хроматограм розчину порівняння (d);

$m_1$  - маса наважки субстанції, у грамах;

$m_0$  - маса наважки циклогексану, взятої для приготування розчину порівняння (b), у грамах.

Вміст  $C_2H_6O$  (етанолу),  $C_3H_8O$  (2-пропанолу),  $CH_4O$  (метанолу) та  $C_6H_{12}$  (циклогексану) в субстанції повинен бути не більше 0,5% (5000 ppm), 0,5% (5000 ppm), 0,3% (3000 ppm) та 0,005% (50 ppm), відповідно.

На хроматограмі випробовуваного розчину (1) середнє значення відношень площ піків етиленхлориду до площ піків внутрішнього стандарту (2) повинно бути не більше половини відповідного значення відношень на хроматограмі випробовуваного розчину (2). За таких умов вміст  $C_2H_4Cl_2$  (етиленхлориду) в субстанції не перевищує 0,0005% (5 ppm).

### Література:

1. Закон України «Про лікарські засоби» Редакція від 17.09.2023 Відомості Верховної Ради (ВВР), 2023, № 20-21, ст.84)
2. Державна Фармакопея України: в 3т. – 2-е вид. – 2014. ДФУ. 2-е вид. Доповнення 1. 2016; ДФУ. 2-е вид. Доповнення 2. 2018; ДФУ. 2-е вид. Доповнення 3. 2018; ДФУ. 2-е вид. Доповнення 4. 2020;
3. Належні практики у фармації. Навчально-методичний посібник /Л.Г. Черковська, М.О. Авраменко, О.В. Кривошей, Г.І.Ткаченко. / Запоріжжя, - 2017. 71 с.
4. Фармацевтичний аналіз лікарських засобів. Навчальний посібник / Г.Г. Берест, О.К. Єренко, О.О. Малюгіна, І.Ф. Дуюн / Запоріжжя, - 2019. -80 с.
5. Фармацевтичний аналіз лікарських засобів: навчальний посібник / Г. Г. Берест. – Запоріжжя: ЗДМУ, 2021. – 85 с.
6. Належні практики у фармації : навч. посіб. для студентів вищ. навч. закл. / В.О. Лебединець, О.В. Ткаченко, Ю.І. Губін та ін. — Харків : НФаУ : Золоті сторінки, 2017. — 296 с.
7. Фармацевтичний аналіз / за ред. В.А.Георгіянц. - Харків: НФаУ : Золоті сторінки, 2019. – 567 с.
8. Дорощук В.О. Фармацевтичний аналіз. -К. : Наук. Світ, 2008. -96 с.

**Навчальне видання**  
**Фармацевтичний аналіз. Методичні рекомендації до спецкурсу**

**Упорядники**

**Дорошук Володимир Олександрович**

**Куліченко Сергій Анатолійович**