

Министерство образования и науки Российской Федерации

Федеральное государственное бюджетное образовательное
учреждение высшего образования
«Оренбургский государственный университет»

Кафедра биохимии и микробиологии

О. А. Науменко

ФАРМАКОЛОГИЯ

Методические указания

Рекомендовано к изданию редакционно – издательским советом федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования «Оренбургский государственный университет» для обучающихся по образовательной программе высшего образования по специальности 06.05.01 Биоинженерия и биоинформатика

Оренбург
2018

УДК 615.012 (076.5)

ББК 52.8я7

Н 34

Рецензент - доцент, кандидат биологических наук О. Я. Соколова

Науменко, О.А.

Н 34

Фармакология: методические указания /О.А. Науменко; Оренбургский гос. ун-т. – Оренбург: ОГУ, 2017. –31с.

Методические указания предназначены для самостоятельной подготовки обучающихся к лабораторным работам по дисциплинам: «Фармакодинамика и фармакокинетика химиотерапевтических препаратов» и «Молекулярная фармакология» для обучающихся по специальности 06.05.01 Биотехнология и биоинформатика очной формы обучения.

Приведённые лабораторные работы по методам анализа лекарственных веществ и их готовых форм, позволят научить студентов проводить оценку доброкачественности лекарственных средств, в соответствии требованиями нормативной документации и рабочей программой дисциплины «Инженерная энзимология».

УДК 615.012 (076.5)

ББК 52.8я7

© Науменко О.А., 2018

© ОГУ, 2018

Содержание

Введение	4
1 Классификация лекарственных средств	5
2 Лабораторные работы	9
2. 1 Определение растворимости лекарственных веществ	9
2. 2 Определение прозрачности и степени мутности растворов	10
2. 3 Определение доброкачественности воды очищенной	13
2. 4 Идентификация лекарственных веществ химическими методами. Определение фенольного гидроксила	16
2. 5 Фармакопейный анализ кислоты ацетилсалициловой	17
2. 6 Фармакопейный анализ кальция глюконата	19
2. 7 Качественные реакции на антибиотики	20
2. 7. 1 Обнаружение пенициллина реакцией с гидроксиламином	20
2. 7. 2 Качественные реакции на тетрациклин	21
2. 8 Качественный и количественный анализ лекарственной формы раствора резорцина.....	22
3 Данные фармакопеи лекарственных препаратов	24
3. 1 Вода очищенная (ФС 42-0324-09)	24
3. 2 Ацетилсалициловая кислота (ФС 42-0220-07)	26
3. 3 Кальция глюконат (ФС 42-0238-07)	28

Введение

Молекулярная фармакология – это раздел фармакологии, изучающий молекулярные механизмы взаимодействия лекарственных веществ с биологическими субстратами. Методические указания содержат три раздела: классификацию лекарственных препаратов. Лабораторный практикум и данные фармакопеи по лекарственным веществам.

Приведённые лабораторные работы по методам анализа лекарственных веществ и их готовых форм, позволят научить студентов проводить оценку доброкачественности лекарственных средств, в соответствии требованиями нормативной документации и рабочей программой дисциплины «Инженерная энзимология».

1 Классификация лекарственных средств

К объектам исследования фармацевтической биохимии относят химические соединения, различающиеся структурой, фармакологическим действием, присутствием примесей.

Фармацевтическая биохимия непосредственно связана с такими науками, как аналитической, органической, неорганической химией, фармакологией, клинической медициной (терапией, хирургией и пр.), а также с теоретическими медицинскими дисциплинами - анатомией, физиологией и др.

В фармацевтической деятельности нашли применение следующие понятия:

- лекарственное вещество (ЛВ);
- лекарственное средство (ЛС) или (ЛРС);
- лекарственная форма (ЛФ);
- лекарственный препарат (ЛП);
- лекарственное растительное сырьё (ЛРС).

Индивидуальные вещества различного происхождения (растительного, животного, микробного или синтетического), обладающие фармакологической активностью, служащие для приготовления лекарственных средств, получили название лекарственных вещества (субстанции).

В свою очередь, органические или неорганические соединения, обладающие фармакологической активностью, полученные из растительного сырья, минералов, тканей человека или животного, а также путём синтеза или с применением биологических технологий отнесены к лекарственным средствам. К этой группе относят: субстанции; лекарственные, гомеопатические препараты; средства, служащие для диагностики патологических состояний; косметические средства и добавки к пищевым продуктам (БАД).

Лекарственные средства можно разделить на природные (биогенные) и чужеродные (ксенобиотики). Природные - продукты метаболизма живых организмов, что позволяет им включаться в биохимические реакции организма

человека их высокую биосовместимость. К лекарственным средствам отнесены аминокислоты, жирные кислоты, витамины, гормоны, биорегуляторы и пр.

Выделяют пять групп биогенных препаратов:

- суис-органные (из органов, тканей и клеток);
- нозоды (продукты метаболизма микроорганизмов, гомеопатические средства);
- «катализаторы» (метаболиты цикла трикарбоновых кислот; компоненты цепей переноса электронов; гормоны; растительные экстракты);
- «потенцированные аллопатические» (витамины, АТФ, антибиотики);
- сложные препараты биологического происхождения.

К ксенобиотикам отнесены чужеродные для организма вещества, в норме присутствующие в следовых количествах. Примером служат химические канцерогены, вещества химического загрязнения окружающей среды и пр.

Наряду с этим, лекарственные средства делятся по происхождению на две основные группы.

Первая группа представлена природными сырьевыми материалами различного происхождения, прошедшие очистку от примесей, сушку, сортировку. К ним относят: валерьяновый корень, цветы ромашки, ягоды малины, абрикосовая камедь и пр. К сырью животного происхождения, к примеру, принадлежат железы внутренней секреции домашних животных.

Вторая группа - лекарства, полученные в результате переработки природных сырьевых материалов или целенаправленного синтеза.

К их числу принадлежат следующие группы лекарственных веществ:

Индивидуальные химические вещества, полученные путём синтеза или очистки (натрия хлорид, натрия сульфат, серебра нитрат, соляная и серная кислоты).

Химико-фармацевтические препараты, созданные путём органического синтеза (сульфаниламидные препараты, противотуберкулезные, снотворные и анестезирующие средства).

Препараты антибиотиков.

Витаминные препараты. В данную группу входят, как химически индивидуальные синтетические вещества (аскорбиновая кислота, тиамин, никотиновая кислота и др.), так и сложные комплексы веществ (концентраты, экстракты, сиропы).

Органопрепараты, полученные их органов и тканей животных.

Вакцины и сыворотки.

Продукты первичной переработки лекарственного сырья (эфирные масла, жиры и жирные масла).

Галеновые препараты. К ним относятся препараты сложного химического состава, приготовляемые путем извлечения из природных лекарственных сырьевых материалов растительного и животного происхождения (экстракты, настойки, сиропы, ароматные воды и т.д.).

Особую подгруппу составляют *новогаленовые препараты*, представляющие собой извлечения (экстракты и настойки), освобожденные от балластных веществ.

В фармацевтической деятельности широко используется понятие лекарственная форма (ЛФ). Лекарственная форма - это приданное удобное для применения лекарственному средству состояние (порошок, раствор, мазь, таблетки) и во многом определяющее эффективность назначенного лечения. К ЛФ предъявляются следующие общие требования:

- 1) биодоступности;
- 2) равномерного распределения лекарственных веществ в массе вспомогательных веществ и точность дозирования;
- 3) стабильности в процессе хранения ЛС;
- 4) соответствие нормам микробной контаминации, при необходимости консервирования;
- 5) удобство приема, возможность корригирования неприятного вкуса;
- 6) компактность.

В свою очередь, дозированное лекарственное средство в определённой лекарственной форме, готовое к применению получило название лекарственный препарат (ЛП).

2 Лабораторные работы

2.1 Определение растворимости лекарственных веществ

Цель занятия: приобрести практический навык определения растворимости лекарственных веществ.

Задачи: освоить способы определения растворимости лекарственных веществ: кислоты борной, калия йодида, натрия хлорида, глюкозы.

Реактивы, исследуемый материал: кислота борная, калия йодид, натрия хлорид, глюкоза, вода очищенная, этиловый спирт 70 %.

Оборудование: штатив с пробирками; химические стаканы вместимостью от 50 до 100 см³; стеклянные палочки; пипетки вместимостью 1,5 и 10 см³; электронные весы; водяная баня.

Методические указания: для определения растворимости необходимо брать массу лекарственного вещества с точностью до 0,01 г, если нужно, предварительно, растёртого в мелкий порошок. Допускается нагревание на водяной бане до 30 °С.

В качестве растворителя может выступать вода, спирт и пр. Вещество считается полностью растворившимся тогда, когда невооружённым глазом не будут обнаруживаться частицы вещества.

Результат наблюдают после охлаждения раствора до 20 °С и энергичного встряхивания в течение 1-2 мин.

Ход работы: для выполнения испытания рассчитывают массу, необходимую для того, чтобы растворителя расходовалось в пределах от 10 до 30 мл. Взвешенную на весах массу лекарственного вещества растворяют в отмеренном объёме растворителя в соответствии с данными таблицы 1.

Таблица 1 - Растворимость некоторых лекарственных веществ

Лекарственное вещество	Объем растворителя, необходимый для растворения 1,0 г лекарственного вещества, мл		
	вода	кипящая вода	спирт
Кислота борная			
Калия иодид			
Натрия хлорид			
Глюкоза			

Оформите протокол. Сделайте выводы.

Контрольные вопросы к лабораторной работе:

1. Какие вещества могут выступать в качестве растворителей?
2. По каким признакам можно судить о полном растворении ЛВ?
3. Приведите правила определения растворимости ЛВ?
4. Перечислите ЛВ, которые были использованы в работе?
5. Какова методика установления растворимости лекарственных веществ.
6. Сделайте выводы по выполненной работе.

2. 2 Определение прозрачности и степени мутности растворов

Цель занятия: приобрести практический навык в определении прозрачности и степень мутности жидких лекарственных веществ.

Задачи: освоить способы определения прозрачности и степени мутности жидкостей ГФ XII (ОФС 42-0051-07).

Реактивы, исследуемый материал: кислота борная, калия йодид, натрия хлорид, гидразина сульфат, гексаметилентетрамин, резорцин, кальция глюконат, парацетамол, натрия гидрокарбонат.

Оборудование: штатив с пробирками с притёртыми пробками; колбы вместимостью 100 см³, 1000 см³; пипетки вместимостью 1,5 и 10 см³; стеклянные палочки.

Методические указания: определение прозрачности проводят сравнением испытуемой жидкости с растворителем или эталонами визуально. Степень мутности устанавливают, сравнивая раствор лекарственного вещества с эталонами, приготовленными из гидразина сульфата и гексаметилентетрамина.

Прозрачность и степень мутности исследуемого раствора наблюдают в проходящем свете на темном фоне, подсветкой служит электролампочка мощностью 40 Вт.

Испытуемую жидкость считают прозрачной, если она по прозрачности не отличается от воды или растворителя, используемого при приготовлении испытуемой жидкости, или выдерживает сравнение с эталоном I, т.е. ее опалесценция (мутность) не превышает опалесценцию (мутность) эталона I при просмотре в описанных выше условиях.

Ход работы: приготовление эталонных растворов для определения степени мутности выполняется согласно (ОФС 42-0051-07) ГФ XII.

Приготовление раствора гидразина сульфата. Поместить 0,5 г гидразина сульфата в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворить в 40 мл воды, довести объем раствора водой до метки и перемешать.

Приготовление раствора гексаметилентетрамина. Растворить 3,0 г гексаметилентетрамина в 30,0 мл воды.

Приготовление исходного эталона.

Прибавить к 25 мл раствора гидразина сульфата 25 мл раствора гексаметилентетрамина, тщательно перемешать в течение 3 мин.

Приготовление основного эталона.

Поместить отмеренные пипеткой 15 мл исходного эталона в мерную колбу вместимостью 1 л, довести водой очищенной до метки и тщательно перемешать. Срок годности основного эталона 24 ч.

Приготовление эталонов сравнения.

Готовят эталонные растворы I-IV в мерных колбах на 100 мл путём смешивания отмеренного количества основного эталона с водой очищенной (доводят до метки и перемешивают в течение 3 мин) (таблица 2).

Определяют степень мутности в пробирках с притертыми пробками бесцветного или одноцветного стекла, одинакового диаметра. Для сравнения берут равные объемы (5 или 10 мл) эталонного раствора и испытуемой жидкости.

Таблица 2 - Приготовление эталонных растворов мутности

Растворы	Эталонные растворы			
	I	II	III	IV
Основной эталон	5	10	30	50
Вода очищенная	95	90	70	50

Из перечисленных ниже лекарственных веществ готовят раствор с соблюдением условий, указанных в соответствии с ФС.

Результаты оформите в таблицу 3.

Таблица 3 - Результаты испытания на прозрачность и степень мутности растворов лекарственных веществ

Лекарственное вещество	Условия приготовления раствора	Прозрачность, степень мутности	Соответствие Требованиям ФС
1	2	3	4
Борная кислота	0,3 г растворяют в 10 мл воды или этанола	прозрачный	
Калия йодид	1 г растворяют в 10 мл кипяченой охлажденной воды	прозрачный	
Натрия хлорид	16 г растворяют в 160 мл кипяченой и охлажденной воды	прозрачный или не превышает эталон I	

Продолжение таблицы 3

1	2	3	4
Парацетамол	1 г растворяют в 10 мл этанола	прозрачный	
Кальция глюконат	0,1 г растворяют в 10 мл воды, нагретой до 30 °С в течение 30 мин	не превышает эталон III	
Натрия гидрокарбонат	0,5 г растворяют в 10 мл воды	не превышает эталон IV	
Резорцин	1 г растворяют в 20 мл кипяченной воды	не превышает эталон I	

Оформите протокол. Сделайте выводы.

Контрольные вопросы к лабораторной работе:

1. Перечислите объекты исследования (ЛВ) в данной работе?
2. Приведите методику определения прозрачности ЛВ?
3. Каков порядок приготовления исходного эталона мутности ЛВ?
4. Приведите порядок приготовления основного эталона.
5. Каковы результаты испытания на прозрачность и степень мутности лекарственных веществ?
6. Сделайте выводы по выполненной работе.

2. 3 Определение доброкачественности воды очищенной

Цель занятия: приобрести практический навык в определении доброкачественности воды очищенной.

Задачи: освоить способы определения доброкачественности воды очищенной, согласно ГФ XII.

Реактивы, исследуемый материал: вода очищенная, калия хлорид, калия перманганат, кислота серная, известковая вода, дифениламин, кислота азотная,

раствор серебра нитрата, кислота хлороводородная, раствор бария хлорида, аммония хлорида, раствора аммиака, раствора аммония оксалата, кислота уксусная, натрия сульфид.

Оборудование: штатив с пробирками; химические стаканы вместимостью от 200 до 400 см³ с притёртыми пробками; стеклянные палочки; пипетки вместимостью 1,5 и 10 см³; водяная баня; потенциометр; спиртовка.

Методические указания

Вода очищенная, получаемая дистилляцией, ионным обменом, обратным осмосом, комбинацией этих методов или другим способом, применяется для приготовления неинъекционных лекарственных средств.

Вода очищенная не должна содержать антимикробных консервантов или других добавок. Результаты работы оформите в таблицу (см. таблицу 4).

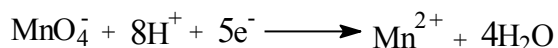
Ход работы:

Описать исследуемый раствор (цвет запах).

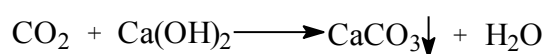
Добавить к 100 мл воды 0,3 мл насыщенного раствора калия хлорида и **измерить рН** раствора потенциометрически (ГФХП, часть 2).

Сухой остаток. Выпарить 100 мл воды на водяной бане досуха и сушить при 100-105 °С до постоянной массы. Остаток не должен превышать 0,001 %.

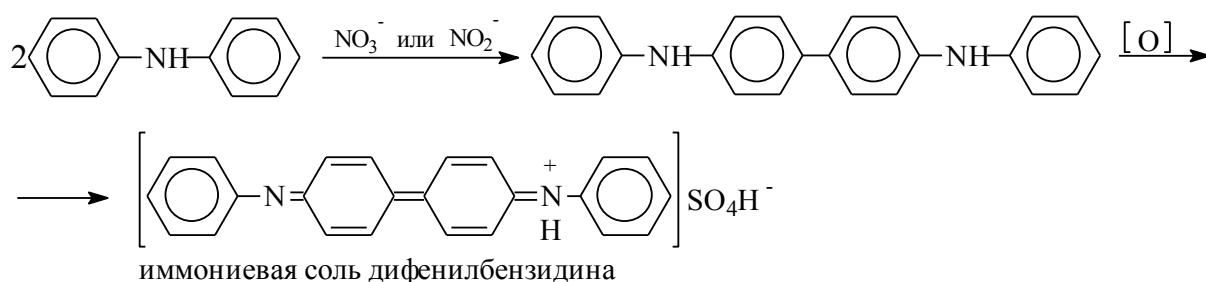
Восстанавливающие вещества. Довести 100 мл воды до кипения, прибавить 1 мл 0,01 М раствора калия перманганата и 2 мл кислоты серной разведенной, кипятить 10 мин. Убедится, что розовая окраска сохраняется.



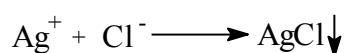
Диоксид углерода. Взболтать воду с равным объемом известковой воды в наполненном доверху и хорошо закрытом сосуде. Убедиться в отсутствии помутнения в течение 1 часа.



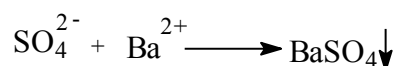
Нитраты и нитриты. Прибавить к 5 мл воды 1 мл свежеприготовленного раствора дифениламина. Убедиться в отсутствии появления голубого окрашивания.



Хлориды. Прибавить к 10 мл воды 0,5 мл кислоты азотной, 0,5 мл 2 % раствора серебра нитрата, перемешать и оставить на 5 мин. Убедиться в отсутствии опалесценции.



Сульфаты. Прибавить к 10 мл воды 0,5 мл кислоты хлороводородной разведенной и 1 мл 5 % раствора бария хлорида, перемешать и оставить на 10 мин. Убедиться в отсутствии помутнения.



Кальций. Прибавить к 10 мл воды 1 мл раствора аммония хлорида, 1 мл раствора аммиака и 1 мл раствора аммония оксалата, перемешать и оставить на 10 мин. Убедиться в отсутствии помутнения.

Тяжелые металлы. Прибавить к 10 мл воды 1 мл кислоты уксусной разведенной, 2 кап раствора натрия сульфида, перемешать и оставить на 1 мин. Убедиться в отсутствии окрашивания раствора.

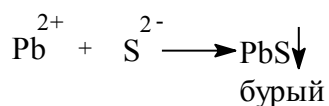


Таблица 4 - Определение доброкачественности воды очищенной

Исследуемое вещество	Условия проведения испытания и результаты	Соответствие требованиям ФС
1	2	3

Продолжение таблицы 4

1	2	3

Оформите протокол. Сделайте выводы.

Контрольные вопросы к лабораторной работе:

1. Какие требования изложены в ФС ГФ II на воду очищенную?
2. Приведите требования к воде очищенной по описанию внешнего вида, pH, сухому остатку, восстанавливающим веществам?
3. Каковы требования ФС к присутствию нитритов, нитратов, хлоридов, сульфатов в воде очищенной?
4. Какие реакции, согласно ФС, используются на определение присутствия кальция, тяжёлых металлов в воде очищенной?

2. 4 Идентификация лекарственных веществ химическими методами.

Определение фенольного гидроксила

Цель занятия: приобрести практический навык идентификации лекарственных веществ химическими методами.

Задачи: освоить способы идентификации лекарственных веществ, содержащих фенольный гидроксил.

Реактивы, исследуемый материал: резорцин, парацетамол, пиридоксина гидрохлорид, натрия салицилат, железа (III) хлорид.

Оборудование: штатив с пробирками; пипетки вместимостью 1,5 и 10 см³.

Методические указания: Химические методы установления подлинности неорганических лекарственных веществ основано на обнаружении с помощью

химических реакций катионов и анионов посредством реакций, сопровождающихся образованием нерастворимых осадков, изменением окраски образующихся продуктов взаимодействия, образованием газообразных продуктов, изменению окраски бесцветного пламени горелки и пр.

Присутствие фенольного гидроксила определяется пробой с раствором железа (III) хлорида, сопровождающееся изменением окраски исследуемого раствора.

Ход работы: прибавить к 1 мл водного раствора (1:100) (резорцина, парацетамола, пиридоксина гидрохлорида, натрия салицилата) 2 кап 10 % раствора железа (III) хлорида – появляется характерное окрашивание. Результаты занести в таблицу 5.

Таблица 5 - Результаты идентификации лекарственных веществ пробой с раствором железа на фенольный гидроксил

Препарат	Реактив	Окраска
Резорцин		
Натрия салицилат		
Пиридоксина гидрохлорид		
Парацетамол		

Оформите протокол. Сделайте выводы.

Контрольные вопросы к лабораторной работе:

1. Какова цель лабораторной работы?
2. Перечислите лекарственные вещества, подлежащие исследованию?
3. Какова методика химической идентификации ЛВ, на определение фенольного гидроксила?

2. 5 Фармакопейный анализ кислоты ацетилсалициловой

Цель занятия: приобрести практический навык фармакопейного анализа кислоты ацетилсалициловой в таблетках.

Задачи: освоить способы проведения анализа на подлинность кислоты ацетилсалициловой в таблетках, согласно (ОФС 42-0220-07) ГФ XII.

Реактивы, исследуемый материал: ацетилсалициловая кислота, 0,1 н. едкий натр, концентрированная и разведённая серная кислота, этиловый спирт, 10 % хлорид окисного железа, вода очищенная, формалин.

Оборудование: штатив с пробирками; пипетки вместимостью 1,5 и 10 см³, спиртовка.

Ход работы: проведите анализа на подлинность кислоты ацетилсалициловой в таблетках, согласно (ОФС 42-0220-07) ГФ II (см. Приложение 3).

1. Сделать пропись лекарственной формы на русском языке и на латыни.
2. Выписать состав лекарственного препарата.
3. Описать лекарственное вещество (цвет, запах, вкус).
4. Выполнить реакции на подлинность лекарственного вещества.
5. Растереть 0,5 г таблеток в порошок, кипятить в течение 3 мин с 5 мл раствора едкого натра, затем охладить, подкислить разведенной серной кислотой. Убедиться в появлении белого кристаллического осадка.
6. Затем, перенести надосадочную жидкость в другую пробирку и добавить 2 мл этилового спирта и 2 мл концентрированной серной кислоты. Убедиться, что раствор имеет запах уксусноэтилового эфира.
7. Добавить к полученному ранее осадку 1-2 капли 10 % раствор хлорида окисного железа. Убедиться в появлении фиолетового окрашивания.
8. Поместить 0,2 г препарата в фарфоровую чашку, добавить 0,5 мл концентрированной серной кислоты, перемешать и добавить 1-2 кап воды. Убедиться в появлении запаха уксусной кислоты.
9. Затем добавить 1-2 кап формалина. Убедиться в появлении розового окрашивания.

Оформите протокол. Сделайте выводы.

Контрольные вопросы к лабораторной работе

1. Какова цель лабораторной работы?
2. Опишите лекарственное вещество, подлежащее исследованию?
3. Перечислите реакции, выполняемые при анализе на подлинность кислоты ацетилсалициловой в таблетках.

2. 6 Фармакопейный анализ кальция глюконата

Цель занятия: приобрести практический навык фармакопейного анализа кальция глюконата.

Задачи: освоить способы проведения анализа на подлинность кальция глюконата, согласно ФС 42-0238-07 ГФ XII.

Реактивы, исследуемый материал: кальция глюконат в порошке; 10 % раствор аммония оксалата; 10 % раствор уксусной кислоты, 70 % этиловый спирт, 10 % раствор гидроксида аммония (нашатырного спирта); вода очищенная; 10 % раствор соляной кислоты; 5 % раствора железа (III) хлорида

Оборудование: штатив с пробирками; пипетки вместимостью 1,5 и 10 см³, спиртовка.

Методические указания: Кальция глюконат (ФС 42-0238-07 ГФ XII) представлен белым или почти белым зернистым или кристаллическим порошком без запаха. Легко растворим в кипящей воде, умеренно (медленно) растворим в воде, практически нерастворим в спирте.

Ход работы:

1. Опишите внешний вид (цвет, кристаллы), запах.
2. Опишите растворимость в воде, кипящей воде, спирте.
3. Выполните реакции на подлинность.

Кальций-ион.

а) Добавить в пробирку к 1 мл 20 % раствора кальция глюконата 1 мл 10 % раствора аммония оксалата. Убедитесь в образовании белого осадка.

Затем слейте надосадочную жидкость, осадок разделите на 3 пробирки. В первую пробирку добавьте 5 кап 10 % уксусной кислоты. Во вторую – 10 кап 10 % раствора гидроксида аммония (нашатырного спирта). В третью - 10 кап 10 %

раствор соляной кислоты. Убедитесь, что в первых двух осадок нерастворим. В третьей - наблюдается растворение осадка.

б) Смочить кристаллы глюконата кальция 10 % раствором соляной кислоты. Убедитесь, что внесённые кристаллы в бесцветное пламя, окрашивают его в кирпично-красный цвет.

Глюконат-ион.

Добавить к 5 мл 10 % раствора глюконата кальция 2 кап 5 % раствора железа (III) хлорида. Убедитесь в появлении светло-зеленого окрашивания.

Оформите протокол. Сделайте выводы о подлинности лекарственного препарата глюконата кальция.

Контрольные вопросы к лабораторной работе:

1. Опишите внешний вид кальция глюконата в порошке.
2. Охарактеризуйте растворимость кальция глюконата в воде, спирте.
3. Приведите реакции подлинности на кальций-ион и глюконат-ион.

2. 7 Качественные реакции на антибиотики

Цель занятия: приобрести практический навык обнаружения антибиотиков с помощью качественных реакций.

Задачи: освоить способы проведения анализа на подлинность антибиотиков.

2. 7. 1 Обнаружение пенициллина реакцией с гидроксиламином

В случае нагревания пенициллина и гидроксиламина раскрывается лактамное кольцо пенициллина с образованием α -гидроксамовой кислоты, дающей с хлорным железом продукт красного цвета.

Реактивы, исследуемый материал: 0,5 % водный раствор пенициллина; 5 % раствор гидроксиламина; 5% раствор хлорного железа.

Оборудование: штатив с пробирками; пипетки вместимостью 1,5 см³, спиртовка.

Ход работы: добавить в пробирку к 5 кап 0,5 % водного раствора пенициллина 2 кап 5 % раствора гидроксиламина. Смесь нагреть до кипения. Охладить и прибавить 1 кап 5% раствора хлорного железа. Убедиться в появлении розового или красного окрашивания.

2. 7. 2 Качественные реакции на тетрациклин

Образование фенолятов железа.

Обнаружение препаратов тетрациклина основано на способности последнего образовывать феноляты железа с хлорным железом.

Реактивы, исследуемый материал: 0,5 % водный раствор тетрациклина; 5 % раствор хлорного железа.

Оборудование: штатив с пробирками; пипетки вместимостью 1,5 см³.

Ход работы: внесите последовательно 10 кап 0,5 % водного раствора тетрациклина и 1-2 кап 5 % раствора хлорного железа. Убедитесь в появлении коричневой окраски.

Реакция с серной кислотой.

В случае добавления к таблетированной форме тетрациклина (предварительно растёртого в порошок) серной кислоты, появляется красное окрашивание в результате водоотнимающего действия.

Реактивы, исследуемый материал: тетрациклин в таблетках; концентрированная серная кислота.

Оборудование: штатив с пробирками; пипетки вместимостью 1,5 см³.

Ход работы: добавьте к 10 мг предварительно растёртого в порошок тетрациклина 10 капель концентрированной серной кислоты. Убедитесь, что полученный раствор окрашивается в красный цвет.

Оформите протокол. Сделайте выводы.

Контрольные вопросы к лабораторной работе

1. Перечислите группы антибиотиков, согласно классификации по способу получения антибиотиков.

2. Приведите классификацию антибиотиков по спектру действия.

3. В каких случаях отдаётся предпочтение антибиотикам узкого спектра действия?

4. Перечислите антибиотики, относящиеся к группе бета-лактамовых антибиотиков?

5. С чем связано название группы бета-лактамовых антибиотиков?

2. 8 Качественный и количественный анализ лекарственной формы раствора резорцина

Цель занятия: приобрести практический навык качественного и количественного анализа лекарственных форм.

Задачи: освоить качественный и количественный анализ лекарственной формы раствора резорцина.

Реактивы, исследуемый материал: 2 % раствор резорцина; 10 % раствор сульфата железа (III); фталазол; концентрированная серная кислота; 10 % раствор гидроксида натрия; 0,1 н раствор бромата калия; бромид калия; 5 % раствор хлороводородной кислоты; йодид калия; хлороформ; 0,1 н раствор тиосульфата натрия.

Оборудование: штатив с пробирками; коблы с притёртой пробкой на 50 мл; пипетки вместимостью 1,5 см³, спиртовка.

Ход работы.

Пропись:

Раствор резорцина 2 % - 30 мл

Solutio resorcini 2 % - 30 ml

Провести качественные реакции лекарственного препарата.

1. Добавить к раствору резорцина 1 – 2 кап раствора железа (III). Убедиться в появлении фиолетового окрашивания.

2. Добавить к 0,05г резорцина 0,05г фталазола и 3-5 капель концентрированной серной кислоты, затем сплавить на пламени горелки. После

этого охладить и растворить в 2–3 мл 10 % гидроксида натрия. После этого добавить 1 мл воды. Убедиться в появлении ярко-зеленой флуоресценции.

Провести количественное определение лекарственного препарата.

Поместить 0,5 мл исследуемого раствора в колбу с притертой пробкой, прибавить 10 мл 0,1 н. раствора бромата калия, 0,5 г бромида калия, 5 мл разведённой хлороводородной кислоты. Скрыть пробкой, содержимое перемешать и оставить в темном месте на 10 мин. Затем к смеси добавить 0,5 г йодида калия, 2-3 мл хлороформа, перемешать и титровать выделившийся йод 0,1 н раствором тиосульфата натрия (при взбалтывании) до обесцвечивания хлороформного слоя (V). Параллельно провести контрольный опыт (V).

Содержание резорцина в процентах (X) рассчитать по формуле:

$$X = \frac{(V_1 - V) \cdot K \cdot T \cdot 100}{a} \%,$$

где V_1 - объем стандартного раствора (0,1н. $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$), пошедший на титрование в контрольном опыте, мл;

V- объем стандартного раствора (0,1н. $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$), пошедший на титрование анализируемого раствора, мл;

a - объём анализируемого раствора, взятый для определения (0,5мл);

K - поправочный коэффициент к концентрации титранта;

T - титр стандартного раствора по определяемому веществу (0,001835).

Оформите протокол. Сделайте выводы.

Контрольные вопросы к лабораторной работе

1. Перечислите качественные реакции на резорцин.

2. Рассчитайте содержание резорцина в процентах по формуле, приведённой выше.

3 Данные фармакопей лекарственных препаратов

3.1 Вода очищенная (ФС 42-0324-09)

Настоящая фармакопейная статья распространяется на Воду очищенную, получаемую из воды питьевой методами дистилляции, ионного обмена, обратного осмоса, комбинацией этих методов или другим способом и применяемую для приготовления нестерильных лекарственных средств, воды для инъекций, а также для проведения испытаний лекарственных средств.

Вода очищенная не должна содержать антимикробных консервантов или других добавок.

Описание. Бесцветная прозрачная жидкость без запаха.

pH. От 5,0 до 7,0. К 100 мл воды очищенной прибавляют 0,3 мл насыщенного раствора калия хлорида и определяют pH полученного раствора потенциометрически.

Кислотность или щелочность. К 20 мл воды очищенной прибавляют 0,05 мл 0,1 % раствора фенолового красного. Если появилась желтая окраска, то она должна измениться на красную от прибавления не более 0,1 мл 0,01 М раствора натрия гидроксида. Если появилась красная окраска, то она должна измениться на желтую от прибавления не более 0,15 мл 0,01 М раствора хлористоводородной кислоты.

Электропроводность. Определение проводят как в потоке (непосредственно в производственной линии), так и автономно (в стационарных условиях), с помощью оборудования – кондуктометров, внесенных в Государственный реестр средств измерений.

Оборудование

Ячейка электропроводности. Постоянная ячейки, определяемая с помощью стандартных растворов с электропроводностью менее 1500 мкСм/см, должна находиться в пределах ± 2 % от заявленного значения.

Сухой остаток. 100 мл воды очищенной выпаривают досуха и сушат при

температуре от 100 °С до 105 °С до постоянной массы. Остаток не должен превышать 0,001 %.

Восстанавливающие вещества. 100 мл воды очищенной доводят до кипения, прибавляют 0,1 мл 0,02 М раствора калия перманганата и 2 мл серной кислоты разведенной 16 %, кипятят 10 мин; розовая окраска должна сохраниться.

Углерода диоксид. При взбалтывании воды очищенной с равным объемом известковой воды в наполненном доверху и хорошо закрытом сосуде не должно быть помутнения в течение 1 ч.

Нитраты и нитриты. К 5 мл воды очищенной осторожно прибавляют 1 мл свежеприготовленного раствора дифениламина; не должно появляться голубого окрашивания.

Аммоний. 10 мл воды очищенной должны выдерживать испытание на аммоний с использованием эталонного раствора, содержащего 1 мл стандартного раствора аммоний-иона (2 мкг/мл) и 9 мл воды, свободной от аммиака (не более 0,00002 %).

Примечание. Стандартный раствор аммоний-иона (2 мкг/мл) готовят разбавлением стандартного раствора аммоний -иона (200 мкг/мл) водой, свободной от аммиака.

Хлориды. К 10 мл воды очищенной прибавляют 0,5 мл азотной кислоты, 0,5 мл 2 % раствора серебра нитрата, перемешивают и оставляют на 5 мин. Не должно быть опалесценции.

Сульфаты. К 10 мл воды очищенной прибавляют 0,5 мл хлористоводородной кислоты, разведенной 8,3 % и 1 мл 5 % раствора бария хлорида, перемешивают и оставляют на 10 мин. Не должно быть помутнения.

Кальций и магний. К 100 мл воды очищенной прибавляют 2 мл буферного раствора аммония хлорида рН 10,0, 50 мг индикаторной смеси протравного черного 11 и 0,5 мл 0,01 М раствора натрия эдетата; должна наблюдаться чисто голубая окраска раствора.

Тяжелые металлы. 120 мл испытуемой воды, очищенной упаривают до объема 20 мл. 10 мл оставшейся после упаривания воды должны выдерживать

испытание на тяжелые металлы с использованием эталонного раствора, содержащего 1 мл стандартного раствора свинец-иона (5 мкг/мл) и 9 мл испытуемой воды очищенной (не более 0,00001 % в испытуемой воде очищенной).

Примечание. Стандартный раствор свинец-иона (5 мкг/мл) готовят разбавлением стандартного раствора свинец -иона (100 мкг/мл) испытуемой водой очищенной.

Микробиологическая чистота. Не более 100 микроорганизмов в 1 мл при отсутствии бактерий сем. Enterobacteriaceae, Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa.

Испытание проводят методом мембранной фильтрации. Объем образца для испытания должен составлять не менее 50 мл.

Хранение и распределение. Вода очищенная хранится и распределяется в условиях, предотвращающих рост микроорганизмов и исключающих возможность любой другой контаминации.

3. 2 Ацетилсалициловая кислота (ФС 42-0220-07)

Кислота 2-ацетоксибензойная, $C_9H_8O_4$

М.м. 180,15

Содержит не менее 99,5 % $C_9H_8O_4$ в пересчете на сухое вещество.

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

Растворимость. Легко растворим в спирте 96 %, растворим в хлороформе, в растворах щелочей едких и углекислых, мало растворим в воде.

Подлинность. Инфракрасный спектр субстанции, снятый в диске с Калия бромидом, в области от 4000 до 400 см, по положению полос поглощения должен соответствовать рисунку спектра ацетилсалициловой кислоты. Ультрафиолетовый спектр поглощения 0,007 % раствора субстанции в хлороформе в области от 260 до 350 нм должен иметь максимум при 278 нм. Ультрафиолетовый спектр поглощения 0,001 % раствора субстанции в 0,1 М растворе серной кислоты в области от 220 до

350 нм должен иметь максимумы при 228 нм и 276 нм и минимум 257 нм.

0,5 г субстанции кипятят в течение 3 мин с 5 мл раствора натрия гидроксида, охлаждают, нейтрализуют серной кислотой, разведенной 16 %; образуется белый кристаллический осадок. К осадку прибавляют 0,1 мл раствора железа (III) хлорида; появляется фиолетовое окрашивание.

К 0,2 г субстанции прибавляют 0,5 мл серной кислоты концентрированной, перемешивают, прибавляют 0,1 мл воды; появляется запах уксусной кислоты. Прибавляют 0,1 мл формалина; появляется розовое окрашивание.

Прозрачность раствора. Раствор 2 г субстанции в 20 мл спирта 96 % должен быть прозрачным или выдерживать сравнение с эталоном I.

Цветность раствора. Раствор, полученный в испытании на прозрачность раствора, должен быть бесцветным или выдерживать сравнение с эталоном В9.

Вещества, нерастворимые в растворе натрия карбоната. 0,5 г субстанции растворяют в 10 мл теплого 10 % раствора натрия карбоната. Полученный раствор должен быть прозрачным или выдерживать сравнение с эталоном I.

Салициловая кислота свободная. Испытуемый раствор. Около 0,3 г субстанции (точная навеска) помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, растворяют в 10 мл спирта 96 %, прибавляют 1 мл 0,2 % раствора квасцов железоммониевых, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

Стандартный раствор. Около 0,06 г (точная навеска) стандартного образца салициловой кислоты (стандарт ВР или аналогичного качества) помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в спирте 96 %, доводят объем раствора спиртом 96 % до метки и перемешивают. К 1 мл полученного раствора прибавляют 39 мл спирта 96 %, 4 мл 0,2 % раствора железоммониевых квасцов и количественно разбавляют водой до 100 мл. Используют свежеприготовленные растворы.

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

Посторонние примеси.

Хлориды. 1,5 г субстанции взбалтывают в течение 2 мин. с 30 мл воды и

фильтруют. 10 мл фильтрата должны выдерживать испытание на хлориды (не более 0,004 % в субстанции).

Сульфаты. 10 мл фильтрата, полученного в испытании на Хлориды, должны выдерживать испытание на сульфаты (не более 0,02 % в субстанции).

Потеря в массе при высушивании. Около 1 г субстанции (точная навеска) сушат при температуре от 80 до 85 град. С до постоянной массы. Потеря в массе не должна превышать 0,5 %.

Сульфатная зола и тяжелые металлы. Сульфатная зола из 1 г субстанции (точная навеска не должна превышать 0,1 % и должна выдерживать испытание на тяжелые металлы (не более 0,001 % в субстанции).

Остаточные органические растворители. В соответствии с требованиями ОФС "Остаточные органические растворители".

Микробиологическая чистота. В соответствии с требованиями ОФС "Микробиологическая чистота".

Количественное определение. Около 0,5 г субстанции (точная навеска) растворяют в 10 мл нейтрализованного по фенолфталеину и охлажденного до температуры 8-10 град. С спирта 96 % и титруют 0,1 М раствором натрия гидроксида до появления розового окрашивания (индикатор - 0,1 мл 1 % раствора фенолфталеина). 1 мл 0,1 М раствора натрия гидроксида соответствует 18,02 мг $C_9H_8O_4$.

Хранение. В сухом месте.

3. 3 Кальция глюконат (ФС 42-0238-07)

Кальция глюконат, моногидрат

$C_{12}H_{22}CaO_{14} \times H_2O$ М.м.448,4

Содержит не менее 99,0 % и не более 101,0 % $C_{12}H_{22}CaO_{14} \times H_2O$ (для приготовления стерильных лекарственных форм).

Содержит не менее 98,5 % и не более 102,0 % $C_{12}H_{22}CaO_{14} \times H_2O$ (для приготовления нестерильных лекарственных форм).

Описание. Белый или почти белый зернистый или кристаллический порошок без запаха.

Растворимость. Легко растворим в кипящей воде, умеренно (медленно) растворим в воде, практически нерастворим в спирте 96 %.

Подлинность. Инфракрасный спектр субстанции, снятый в диске с Калия -1 бромидом, в области от 4000 до 400 см по положению полос поглощения должен соответствовать рисунку спектра кальция глюконата.

1 г субстанции растворяют в 50 мл воды, прибавляют 0,3 мл 3 % раствора железа(III) хлорида; появляется светло-зеленое окрашивание.

Субстанция дает характерные реакции на кальций.

Прозрачность раствора. 1 г субстанции растворяют в 50 мл воды при температуре 60 °С, охлаждают. Полученный раствор должен выдерживать сравнение с эталонной суспензией II.

Цветность раствора. Раствор, полученный в испытании на Прозрачность раствора, должен выдерживать сравнение с эталоном У6.

pH. От 6,0 до 7,2 (2 % раствор).

Декстрин, сахароза. 0,5 г субстанции растворяют при нагревании в смеси 2 мл хлористоводородной кислоты разведенной 8,3 % и 10 мл воды. К охлажденному раствору постепенно прибавляют 8 мл раствора натрия карбоната и через 5 мин. фильтруют. К 5 мл фильтрата прибавляют 1 мл реактива Фелинга и кипятят на водяной бане; не должен образовываться красный осадок.

Галогены. Испытуемый раствор. 0,5 г субстанции растворяют при нагревании в 25 мл воды и охлаждают.

Эталонный раствор. 1,03 г предварительно высушенного при 110 °С натрия бромида помещают в мерную колбу вместимостью 1 л, растворяют в воде и доводят объем раствора водой до метки. 5 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 1 л и доводят объем раствора водой до метки. 1 мл эталонного раствора содержит 0,004 мг бром-иона.

К 10 мл испытуемого и эталонного растворов прибавляют по 0,5 мл азотной кислоты, 0,5 мл 2 % раствора серебра нитрата, перемешивают и выдерживают в

течение 5 мин.

Опалесценция испытуемого раствора не должна превышать опалесценцию эталонного раствора (не более 0,02 % в субстанции).

Сульфаты. 10 мл раствора, приготовленного для испытания на галогены, должны выдерживать испытание на сульфаты (не более 0,01 % в субстанции).

Магний и щелочные металлы. В мерную колбу вместимостью 200 мл помещают 1 г субстанции, растворяют в 100 мл кипящей воды, прибавляют 10 мл 0,3 % раствора аммония хлорида, 1 мл 10 М раствора аммиака и по каплям 50 мл нагретого до 60 °С 2,5 % раствора аммония оксалата и выдерживают в течение 4 ч. Полученный раствор разбавляют водой до 200 мл и фильтруют.

Выпаривают 100 мл фильтрата досуха и прокаливают сухой остаток при 500 °С. После прокаливания масса остатка не должна превышать 2 мг (не более 0,4 % в субстанции).

Тяжелые металлы. 0,5 г субстанции растворяют при нагревании в смеси 2 мл хлористоводородной кислоты, разведенной 8,3 % и 8 мл воды и охлаждают. Полученный раствор должен выдерживать испытание на тяжелые металлы (не более 0,001 % в субстанции).

Мышьяк. 0,25 г субстанции должны выдерживать испытание на мышьяк (не более 0,0002 % в субстанции).

Потеря в массе при высушивании. Около 0,5 г (точная навеска) субстанции сушат при температуре от 100 °С до 105 °С до постоянной массы. Потеря в массе не должна превышать 1,0 %.

Бактериальные эндотоксины. Не более 0,17 ЕЭ на 1 мг субстанции.

Испытание проводят для субстанции, предназначенной для приготовления инъекционных лекарственных форм.

Микробиологическая чистота. В соответствии с требованиями ОФС "Микробиологическая чистота".

Количественное определение. Около 0,4 г (точная навеска) субстанции растворяют при нагревании в 20 мл воды. После охлаждения прибавляют 10 мл аммиачного буферного раствора и титруют 0,05 М раствором натрия эдетата до

появления сине-фиолетового окрашивания (индикатор -0,5 мл раствора кислотного хромового темно-синего).

1 мл 0,05 М раствора трилона Б соответствует 22,42 мг $C_{12}H_{22}CaO_{14} \times H_2O$.

Хранение. В сухом, защищенном от света месте.