

Региональная конференция по научно-техническому творчеству школьников
«Лабиринты науки»

Секция ХИМИЯ

Исследовательская работа

**«РАЗРАБОТКА НОВОГО МЕТОДА КОЛИЧЕСТВЕННОГО АНАЛИЗА НА
СОДЕРЖАНИЕ МЕТИЛОВОГО ЭФИРА САЛИЦИЛОВОЙ КИСЛОТЫ В
МЯГКОЙ ЛЕКАРСТВЕННОЙ ФОРМЕ»**

Работу выполнил –
ученик 10 «Ф» класса лицея № 86 г.
Ярославля
Репкин Петр Иванович

Руководитель –
Специалист дирекции по
биотехнологическим проектам АО
ГК «Р-ФАРМ»
Камнева Анастасия Анатольевна

Ярославль 2022

Оглавление

1. Введение.....	3
1.1. Литературный обзор	3
1.2. Актуальность работы	3
1.3. Цель и задачи	4
2. Теоретические сведения	4
2.1. Области применение метилсалицилата.	4
2.2. Теоретические основы фотометрического метода анализа.	5
3. Практическая часть	5
3.1. Выбор объектов для эксперимента и их анализ.....	5
3.2. Титриметрический анализ лекарственных средств.	6
3.3. Фотометрический анализ лекарственных средств.....	7
4. Заключение.....	9
5. Список использованных источников	11

1. Введение

1.1. Литературный обзор

В современном мире химическая промышленность является одной из наиболее стремительно развивающихся и растущих отраслей экономики. Вся химическая продукция, выпущенная с предприятий любой направленности, будь то пищевая, лакокрасочная, фармацевтическая отрасль, должна проходить строжайшие проверки на соответствие нормативной документации. В связи с этим, мы сочли необходимым углубиться в тему поиска оптимальных методов анализа для химических производств.²

Качественно новые ветви развития появляются в фармацевтической промышленности. В частности, в Ярославской области сосредоточено большое количество крупных фармацевтических предприятий. Этот факт находит отклик в выборе объекта нашего исследования.⁵

1.2. Актуальность работы

В данной работе рассмотрен новый метод количественного анализа, отличный от предложенного в Государственной Фармакопее РФ, для определения содержания основного действующего вещества в лекарственной форме на основе метилсалицилата (приложение 1).

Предложенный метод анализа имеет преимущества, по отношению к изложенному в фармакопейной статье:

- имеет более высокую точность и чувствительность, в отличие от титриметрического метода анализа с визуальной индикацией;
- экономит временные ресурсы;
- имеет перспективы автоматизации расчетов с использованием ПО MS Excel.

1.3. Цель и задачи

Целью работы является разработка нового метода количественного определения метилового эфира салициловой кислоты, его валидация и стандартизация.

Для достижения цели работы были поставлены следующие задачи:

1. Проанализировать фармакопейным методом линейку лекарственных средств разных производителей;
2. Проанализировать, предложенным в настоящей работе, методом перечень аналогичных п. 1 лекарственных средств;
3. Сравнить полученные обоими методами результаты с составом, представленным производителями;
4. Провести необходимое количество независимых определений для установления валидности, погрешности, доверительного интервала, сходимости и воспроизводимости методики.

2. Теоретические сведения

2.1. Области применение метилсалицилата.

Метилловый эфир салициловой кислоты (IUPAC: метил 2-гидроксибензоат) был впервые выделен французским ученым по имени Огюст Каур в 1843 году из грушанки. Позднее было выяснено, что вещество содержится во многих фруктах и эфирных маслах, а также в белом вине и шалфее. В настоящее время в промышленности метилсалицилат получают путем органического синтеза.

Метил 2-гидроксибензоат находит широкое применение во многих областях. Вещество обладает анальгезирующим и противовоспалительным действием, благодаря чему входит в состав лекарственных средств местного действия для лечения болей в мышцах, растяжений, воспалений в суставах. В следствие наличия приятного запаха, используется в пищевой промышленности в качестве ароматизатора. В косметической промышленности находит

применение как разогревающее средство местного действия, вызывающее поверхностное покраснение кожи. Известны претенденты включения субстанции в состав солнцезащитных кремов, как химического фильтра.⁶⁻⁹

2.2. Теоретические основы фотометрического метода анализа.

Фотометрический метод основан на явлении пропускания излучения видимого спектра через окрашенный раствор, при этом отдельный участок спектра поглощается. Аналитическим сигналом в методе служит разница в интенсивностях падающего и, прошедшего через анализируемый раствор, света. Чем интенсивнее окрашен раствор, тем больше он поглощает. Зависимость оптической плотности от концентрации описывается законом Бугера-Ламберта-Бера:

$$A = \varepsilon * c * l$$

где,

A — оптическая плотность раствора;

ε — коэффициент экстинкции (светопропускания), зависящий от природы вещества и длины волны падающего света, $\text{л}/(\text{моль} * \text{мм})$;

c — концентрация раствора, $\text{моль}/\text{л}$,

l — длина поглощающего слоя (кюветы), мм.

Существует три метода количественного анализа: метод градуировочного графика, метод добавок, метод стандартного раствора.³

3. Практическая часть

3.1. Выбор объектов для эксперимента и их анализ.

Лекарственные средства, в которых основным действующим веществом является метилсалицилат, представлены широким спектром мазей, кремов и

гелей. Для анализа были подобраны все виды мягких лекарственных форм: мазь Бом-Венге (Самара, Тула), гель Диклоран + (Индия), крем Бенгей (Франция).

Каждый из препаратов содержит от 10% до 20% метилового эфира салициловой кислоты, остальную массу составляют вспомогательные вещества (вазелин, парафины, карбомер, вода) и ментол. Некоторые из последних способны оказывать влияние на результаты количественного анализа обоими методами (приложение 2).

3.2. Титриметрический анализ лекарственных средств.

Анализ выполнялся в соответствии с проектом ОФС (приложение 3). Сущность метода: щелочной гидролиз (омыление) сложноэфирной группы метилсалицилата избытком гидроксида натрия и последующим оттитровыванием избытка соляной кислотой.

Выполнению анализа предшествовала стандартизация обоих титрантов по ГОСТ 25794.1-83 (приложение 1). Установочным веществом для гидроксида натрия являлась янтарная кислота (ч.д.а.), для соляной кислоты – прокаленный карбонат натрия (ч.д.а.). Экспериментальные и расчетные данные представлены в таблице 1 приложения 4.

Поправочные коэффициенты обоих растворов находятся в интервале $(1,00 \pm 0,03)$, следовательно титранты пригодны для проведения определений.

При выполнении анализа был произведен пересчет массы навески анализируемого лекарственного средства в соответствии с массовой долей (указанной производителем) определяемого вещества в нем. Результаты расчета приведены вместе с данными титриметрического определения содержания метилсалицилата в препаратах в таблице 1. Массовую долю действующего вещества определяли в двух независимых повторениях. Расчет вели по формуле:

$$\omega = \frac{(C_{NaOH} * V_{NaOH} * K_{NaOH} - C_{HCl} * V_{HCl} * K_{HCl}) * M_{ДВ}}{m_H * 1000} * 100\%$$

где, $M_{\text{ДВ}}$ – молекулярная масса эквивалента метилсалицилата, 152,15 г/моль;

$m_{\text{н}}$ – масса навески препарата, г.

Таблица 1 – Результаты определения массовой доли метилсалицилата в мягких лекарственных формах титриметрическим методом

Определение массовой доли метилового эфира салициловой кислоты в мягких лекарственных формах					
Наименование препарата	ω вещества (по составу), %	Масса препарата, г	Объем NaOH, мл	Объем HCl, мл	ω вещества (анализ), %
Бом-венге (Самара)	20	4,6180	25,00	13,35	19
		4,6461	25,00	13,10	19
Бом-венге (Тула)	20	5,4432	25,00	12,50	17
		5,0928	25,00	12,35	18
Диклоран + гель (Индия)	10	9,0638	25,00	7,50	14
		10,0273	25,00	7,60	13
Бенгей крем (Франция)	15	6,9560	25,00	7,05	19
		7,4284	25,00	7,50	18

В ходе эксперимента было выявлено, что титриметрический анализ дает завышенные значения содержания действующего вещества в препаратах «Диклоран +» и «Бенгей». «Диклоран +» содержит этиленгликоль, который реагирует со щелочью и образует гликолят. «Бенгей» содержит полисорбат 85, спан 65 и глицерил моностеарат, имеющие сложноэфирные группы, которые так же подвергаются щелочному гидролизу (приложение 2).

3.3. Фотометрический анализ лекарственных средств

А. Рабочий диапазон концентраций

Для проведения анализа методом градуировочного графика необходимо было подобрать диапазон рабочих концентраций, так как в справочной литературе не приводят коэффициент экстинкции для комплексов фенолов с железом (III). С этой целью были приготовлены растворы с различным содержанием стандарта (салициловой кислоты): 1.00 мг/см³, 0.10 мг/см³ и 0.01 мг/см³. В каждый раствор

было добавлено избыточное количество ионов железа (1.00 см^3 2% раствора). Самый концентрированный раствор не был измерен, так как прибор не работает с такими большими значениями оптических плотностей. Поглощение второго раствора соответствовало верхней границе разрешенного диапазона – 1.15 ед. Измерения проводились в кювете на 10 мм при длине волны 530 нм, так как в этой области наблюдается максимальная оптическая плотность всех испытуемых растворов.

Б. Построение градуировочного графика

В 7 мерных колб, вместимостью 50.00 см^3 , было внесено 0.00, 1.00, 2.00, 4.00, 6.00, 8.00, 10.00 см^3 раствора салициловой кислоты с концентрацией 0.50 мг/см^3 в изопропанол. В каждую колбу было добавлено по 1.00 см^3 2% раствора хлорида железа (III). Готовили две градуировочные серии.

Фотометрировали при выбранных условиях каждый раствор по два раза после выдержки 15 минут (для развития окраски).

По полученным данным строили график зависимости оптической плотности (A) от концентрации салициловой кислоты (C, мг/см^3) в растворе. Показания прибора приведены в таблице 2 приложения 4; график – рисунок 1 в приложения 5.

Коэффициент корреляции для градуировочной зависимости равен 0.9996, что говорит о сохранении линейности в выбранном диапазоне концентраций.

В. Проведение определений

Каждый препарат был отвешен на аналитических весах (в соответствии с таблицей 3), растворен в изопропанол в мерной колбе вместимостью 50.00 см^3 и отфильтрован. Из фильтрата была отобрана аликвота 10.00 см^3 , перенесена в мерную колбу вместимостью 50.00 см^3 , добавлен 1.00 см^3 2% раствора хлорида железа (III). Растворы были измерены через 15 минут в тех же условиях.

Каждый препарат анализировался в двух повторениях.

Массовую концентрацию метилового эфира салициловой кислоты находили по уравнению линии тренда к градуировочному графику с последующим пересчетом по молекулярной массе. Результаты анализа приведены в таблице 2.

Таблица 2 – Результаты определения массовой доли метилсалицилата в мягких лекарственных формах фотометрическим методом

ЛС	Массовая доля ДВ (по составу), %	Масса навески, г	С (теор), мг/мл	Оптическая плотность			С (пр), моль/л	Массовая доля (анализ), %
				A1	A2	Аср		
Бом-Венге (Самара)	20	1,0015	0,088	0,978	0,978	0,978	0,087	19,82
		0,9992	0,088	0,981	0,987	0,984	0,088	19,99
Бом-Венге (Тула)	20	0,9997	0,088	0,954	0,953	0,954	0,085	19,36
		1,0084	0,089	0,996	0,995	0,996	0,089	20,04
Диклоран + (Индия)	10	1,9994	0,088	1,160	1,160	1,160	0,104	11,78
		1,9945	0,088	1,133	1,134	1,134	0,101	11,53
Бенгей (Франция)	15	1,4991	0,099	1,079	1,080	1,080	0,097	14,61
		1,5026	0,099	1,043	1,043	1,043	0,093	14,09

Из таблицы видно, что для препарата «Диклоран +» получены завышенные значения. В составе данного лекарственного средства присутствуют бутангидроксианизол и бутилгидрокситолуол – фенолы, которые так же дают образование комплексного соединения с ионом железа (III). Но такие компоненты встречаются реже, чем вещества со сложноэфирными группами в составе лекарственных средств с метилсалицилатом.

4. Заключение

1. Подобранные лекарственные средства были проанализированы методом обратного кислотно-основного титрования, описанного в Государственной Фармакопее РФ для количественного определения метилового эфира салициловой кислоты;

2. Подобранные лекарственные средства были проанализированы фотометрическим методом, в основе которого лежит качественная реакция на фенольную группу метилового эфира салициловой кислоты с ионом железа (III);

3. По результатам, полученным в ходе эксперимента, установлено, что фотометрический метод наиболее селективен и чувствителен к определяемому веществу, а также на его осуществление затрачивается меньше временных ресурсов;

4. В продолжение работы предстоит синтезировать модельную субстанцию (метилвый эфир салициловой кислоты), с помощью которой провести необходимое количество независимых определений для установления валидности, погрешности, доверительного интервала, сходимости и воспроизводимости методики.

5. Список использованных источников

1. ГОСТ 25794.1-83. Методы приготовления титрованных растворов для кислотно-основного титрования: дата введения 1984-07-01. – URL: <https://docs.cntd.ru/document/1200017569> (дата обращения: 11.10.2022). – Текст: электронный.
2. Лисицкий Н.Н., Антохин Ю.Н. Развитие фармацевтической промышленности в России: системные проблемы и перспективы // Экономика. Право. Инновации. – 2022. - №2. – С. 4-11.
3. Н.В.Алов. Основы аналитической химии. В 2 т. Т. 2 : учеб. для студ. учреждений О-753 высш. проф. Образования/ под ред. Ю.А.Золотова. — 5-е изд., стер. — М. : Издательский центр «Академия», 2012. — 416 с.
4. Справочник лекарственных средств ViDAL. Препараты с метилсалицилат. – URL: <https://www.vidal.ru/drugs/molecule-in/676> (дата обращения 08.10.2022). – Текст: электронный.
5. Хосева Е.Н. Состояние Российской фармацевтической отрасли на современном этапе // Качественная клиническая практика. – 2014. - №3. – С. 35-40.
6. Beutner R., Calesnick B., Powell E., Bortin L. On the absorption and excretion of methyl salicylate administered by inunction. J. Lab. Clin. Med. 1943; 28: 1655–1663
7. Green B.G., Flammer L.J. Methyl salicylate as a Cutaneous stimulus: A psychophysical analysis. Somatosensory & Motor Res, 1989 (6). P. 253-274.
8. Gross M., Greenberg L. A. The Salicylates. Hillhouse Press, New Haven, CT.1948
9. Johnson P.N. Methyl salicylate/aspirin (salicylate) equivalence: who do you trust? Vet Hum Toxicol, 1984. P. 317 -318.

ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ

<u>Левоментол+Метилсалицилат,</u> мазь для наружного применения	ФС
<u>Levomentholum + Methyl Salicylatum,</u> <u>unguentum ad usum externum.</u>	Взамен ФС 42-332-88

Настоящая фармакопейная статья распространяется на Левоментол+Метилсалицилат, мазь для наружного применения. Препарат должен соответствовать требованиям ОФС «Мазь» и ниже приведенным требованиям.

Содержит левоментола $C_{10}H_{20}O$ не менее 96,0 % и не более 104,0 % заявленного количества, метилсалицилата $C_8H_8O_3$ не менее 94,0 % и не более 106,0 % от заявленного количества.

Описание. Содержание раздела приводится в соответствии с ОФС «Мазь».

Подлинность

1. **Качественная реакция.** Около 0,5 г препарата нагревают с 1 мл серной кислоты концентрированной на водяной бане до расплавления основы, прибавляют 1 мл ванилина раствор 1 % в серной кислоте и встряхивают; должно появиться коричнево-желтое окрашивание, которое при прибавлении 1 мл воды переходит в фиолетово-красное окрашивание (левоментол).

2. **Качественная реакция.** Около 0,5 г препарата взбалтывают с 5 мл горячей воды, прибавляют 0,1 мл железа(III) хлорида раствора 3 %; должно появиться фиолетовое окрашивание (метилсалицилат).

РН. От 5,5 до 8,0. В соответствии с требованиями ОФС «Потенциометрия», метод 3.

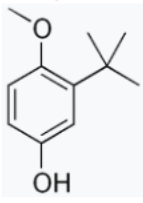
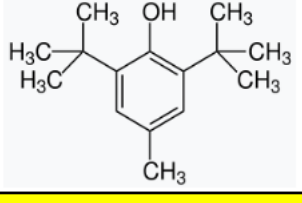
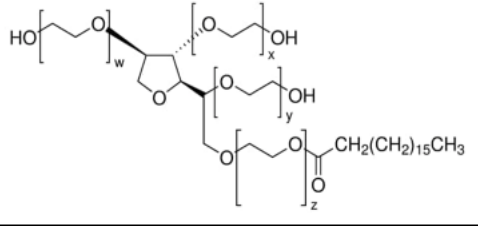
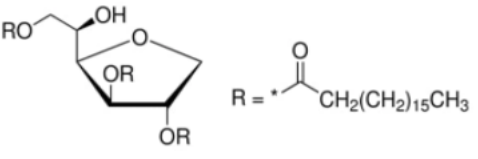
Метилсалицилат

Около 1,0 г (точная навеска) препарата помещают в коническую колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 25 мл 0,1 М раствора натрия гидроксида и нагревают на водяной бане с обратным холодильником в течение 1 ч. После охлаждения в колбу добавляют 0,1 мл фенолфталеина раствора 1 %, избыток щелочи титруют 0,1 М раствором хлористоводородной кислоты.

Параллельно проводят контрольный опыт.

1 мл 0,1 М раствора натрия гидроксида соответствует 0,01521 г метилсалицилата ($C_8H_8O_3$).

Приложение 2

Наименование ЛС	Компоненты	Количество
Бом-венге (Самарамедпром)	Метилсалицилат	20,20%
	Ментол	3,90%
	Вазелин медицинский	68,90%
	Парафины нефтяные	7,00%
Бом-венге (Тульская фармацевтическая фабрика)	Метилсалицилат	20,20%
	Ментол	3,90%
	Вазелин медицинский	68,90%
	Парафины нефтяные	7,00%
Диклоран + гель (Индия, Юник Фармасьютикал Лабораториз)	Диклофенак диэтиламина	1,16%
	Метилсалицилат	10,00%
	Ментол	5,00%
	Льняное масло	3,00%
	Карбомер	1,00%
	Пропиленгликоль	10,00%
	Вода	до 70%
	Бутилгидроксианизол 	0,02%
	Бутилгидрокситолуол 	0,20%
Бенгей крем (Франция, Янссен-Силаг)	Метилсалицилат	15,00%
	Ментол	10,00%
	Стеариновая кислота	13,00%
	Глицерил моностеарат	8,00%
	Ланолин безводный	2,00%
	Полисорбат 85 	2,00%
	Спан 65 	1,00%
	Триэтаноламин	1,00%
	Вода	48,00%

С. 6 ГОСТ 25794.1—83

2.1—2.1.2. (Измененная редакция, Изм. № 1).

2.1.3. *Определение коэффициента поправки*

2.1.3.1. *Определение коэффициента поправки по безводному углекислому натрию*

Формула Na_2CO_3 .

Относительная молекулярная масса — 105,99.

Молярная масса эквивалента — 53,00 г/моль.

В зависимости от молярной концентрации приготовленного раствора кислоты навески безводного углекислого натрия взвешивают в закрытом стаканчике для взвешивания в соответствии с табл. 3.

Навеску помещают в коническую колбу, прибавляют 40 см³ воды, добавляют 3—4 капли раствора смешанного индикатора и титруют из бюретки раствором кислоты до перехода зеленой окраски раствора в красно-фиолетовую (для растворов массовой концентрации 0,1 моль/дм³ переход наблюдается на фоне молочного стекла).

Таблица 3

Заданная молярная концентрация титрованных растворов		Масса навески Na_2CO_3 , г
серной кислоты	соляной кислоты	
$c(\frac{1}{2} \text{H}_2\text{SO}_4) = 1$ моль/дм ³ (1 н.)	$c(\text{HCl}) = 1$ моль/дм ³ (1 н.)	От 1,6000 до 2,1000
$c(\frac{1}{2} \text{H}_2\text{SO}_4) = 0,5$ моль/дм ³ (0,5 н.)	$c(\text{HCl}) = 0,5$ моль/дм ³ (0,5 н.)	» 0,8000 » 1,0000
$c(\frac{1}{2} \text{H}_2\text{SO}_4) = 0,1$ моль/дм ³ (0,1 н.)	$c(\text{HCl}) = 0,1$ моль/дм ³ (0,1 н.)	» 0,1600 » 0,2100

Затем раствор нагревают, кипятят 2—3 мин для удаления углекислоты и после охлаждения продолжают титрование до перехода вновь появившейся окраски раствора в красно-фиолетовую.

Допускается применять в качестве индикатора метиловый оранжевый, при этом окраска раствора переходит из желтой в оранжевую.

2.2.3.3. *Определение коэффициента поправки по янтарной кислоте*

Формула $\text{CO}_2\text{H}(\text{CH}_2)_2\text{CO}_2\text{H}$.

Относительная молекулярная масса — 118,09.

Молярная масса эквивалента — 59,04 г/моль.

В зависимости от молярной концентрации приготовленного раствора гидроокиси натрия навески янтарной кислоты взвешивают в стаканчике для взвешивания в соответствии с табл. 5.

Таблица 5

Молярная концентрация	$c(\text{NaOH}) = 1$ моль/дм ³ (1 н.)	$c(\text{NaOH}) = 0,5$ моль/дм ³ (0,5 н.)	$c(\text{NaOH}) = 0,1$ моль/дм ³ (0,1 н.)
Масса янтарной кислоты, г	2,0000—2,4000	1,0000—1,2000	0,2000—0,2400

Навеску янтарной кислоты помещают в коническую колбу, растворяют в 40 см³ воды, добавляют 2—3 капли раствора фенолфталеина и титруют из бюретки раствором гидроокиси натрия до появления не исчезающей в течение 50—60 с розовой окраски.

Раствор гидроокиси натрия с коэффициентом поправки, определенным по янтарной кислоте, рекомендуется применять при титровании органических кислот и слабых минеральных кислот.

Приложение 4

Таблица 1 – Установка поправочных коэффициентов для гидроксида натрия и соляной кислоты

0,1М NaOH			0,1М HCl		
Масса янтарной кислоты, г	Объем титранта, мл	Поправочный коэффициент	Масса карбоната натрия, г	Объем титранта, мл	Поправочный коэффициент
0,2212	38,40	0,9757	0,2082	38,75	1,0140
0,2288	39,20	0,9886	0,1802	34,10	0,9971
0,2256	38,20	1,0003	0,2060	38,50	1,0096
Среднее значение поправочного коэффициента:		0,9882	Среднее значение поправочного коэффициента:		1,0069

Таблица 2 – Экспериментальные данные для построения градуировочного графика

Номер р-ра	Объем ал-ты, мл	С, ммоль/л	Серия 1			Серия 2			Аср
			A1	A2	Аср	A1	A2	Аср	
1	1,00	0,0100	0,094	0,093	0,094	0,112	0,114	0,113	0,103
2	2,00	0,0200	0,219	0,220	0,220	0,230	0,231	0,231	0,225
3	4,00	0,0400	0,443	0,444	0,444	0,457	0,456	0,457	0,450
4	6,00	0,0601	0,674	0,672	0,673	0,674	0,674	0,674	0,674
5	8,00	0,0801	0,897	0,897	0,897	0,925	0,926	0,926	0,911
6	10,00	0,1001	1,060	1,061	1,061	1,151	1,151	1,151	1,106

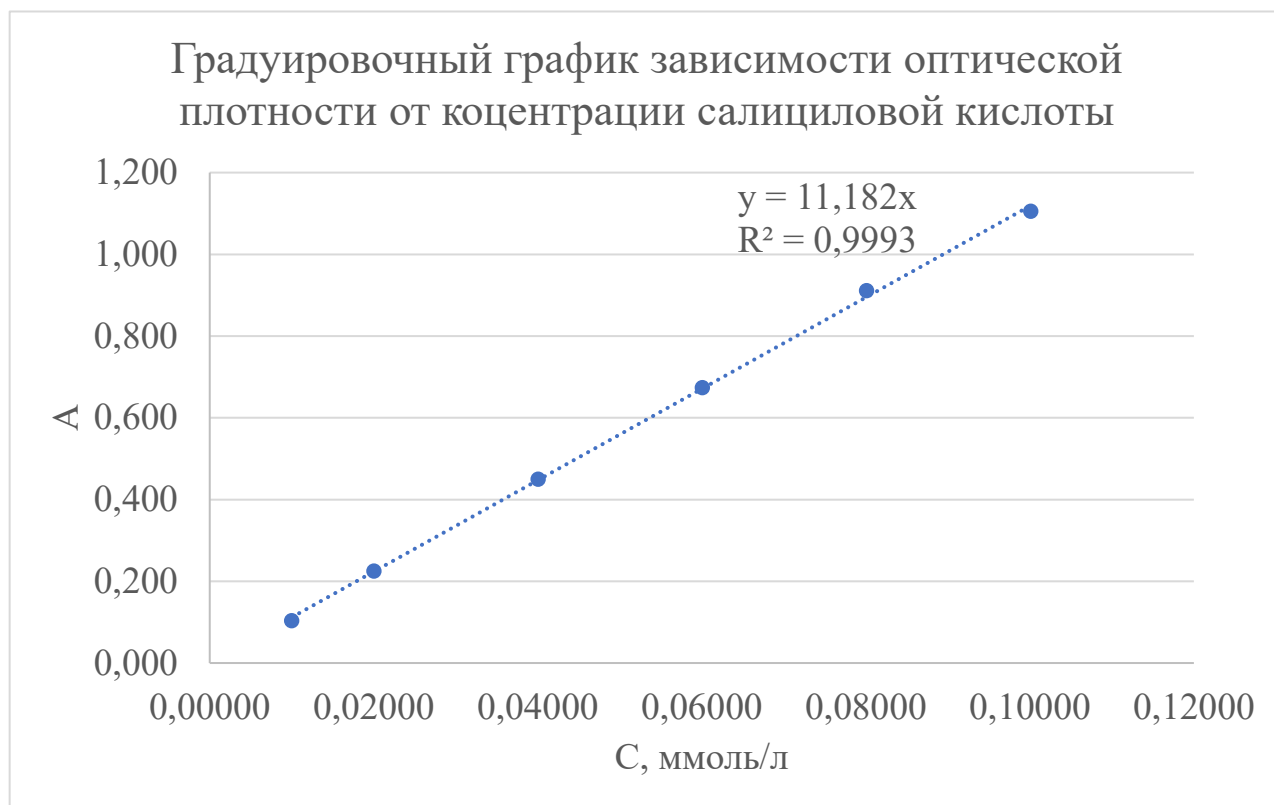


Рисунок 1 – градуировочный график зависимости оптической плотности от концентрации салициловой кислоты

