

**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ**  
**НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ**  
**ІМЕНІ О. О. БОГОМОЛЬЦЯ**  
**ФАРМАЦЕВТИЧНИЙ ФАКУЛЬТЕТ**  
**КАФЕДРА АНАЛІТИЧНОЇ, ФІЗИЧНОЇ ТА КОЛОЇДНОЇ ХІМІЇ**

**ВИПУСКНА КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА**  
на тему **«ВИЗНАЧЕННЯ ВМІСТУ КАТІОНІВ КУПРУМУ В**  
**ЛІКАРСЬКИХ ЗАСОБАХ СОРБЦІЙНО-ФОТОМЕТРИЧНИМ**  
**МЕТОДОМ»**

**Виконав:** здобувач вищої освіти 3-го курсу, групи 11Б2А напрямку підготовки 226 «Охорона здоров'я» освітня програма «Фармація»  
**Таран Євген Олегович**

**Керівниця:** завідувачка кафедри, к.х.н., доцентка Зайцева Галина Миколаївна

**Рецензентка:** к.фарм.н., дацентка  
**Козіко Наталія Олександрівна**

**Київ – 2024**

## ЗМІСТ

Перелік умовних позначень, символів, скорочень і термінів.	4
Вступ.	5
ОСНОВНА ЧАСТИНА. Розділ 1. Купрум, методи визначення.	7
1.1. Застосування солей купруму.	7
1.2. Фізико-хімічні властивості купруму.	7
1.3. Механізм та метаболізм катіонів Купруму.	7
1.4. Фармакологічні ефекти катіону Купруму, побічні ефекти та передозування.	8
1.5. Методи ідентифікації та кількісного визначення катіонів Купруму.	10
1.6. Методи вилучення та концентрування катіонів Купруму.	11
Розділ 2. Експериментальна частина.	12
2.1. Матеріали та методи.	12
2.1.1. Мета дослідження.	12
2.1.2. Об'єкти дослідження.	12
2.2. Посуд та обладнання.	14
2.3. Приготування розчинів.	14
2.3.1. Приготування стандартного розчину.	15
2.4. Методики дослідження.	15
2.4.1. Методика визначення концентрації стандартного розчину.	15
2.4.2. Методика спектрофотометричного визначення катіонів Купруму з ПАР.	16
2.4.3. Методики дослідження впливу кислотності середовища, об'єму розчину на ступінь вилучення та десорбції катіонів Купруму.	16
2.4.4. Методика кількісного сорбційно-фотометричного визначення катіонів Купруму у рідких лікарських формах.	17
2.4.5. Методика кількісного сорбційно-фотометричного визначення	18

катіонів Купруму у твердих лікарських формах.	
Розділ 3. Результати та їх обговорення.	19
3.1. Аналіз залежності величини % сорбції від рН розчину.	19
3.2. Побудова градувального графіка та аналіз лінійності методики.	22
3.3. Результати кількісного сорбційно-фотометричного визначення катіонів Купруму у лікарських засобах.	25
3.4. Оцінка специфічності методики.	26
3.5. Перевірка внутрішньолабораторної прецизійності.	26
3.6. Правильність методики.	28
Висновки.	29
Список використаних джерел.	30
Додатки.	32
Анотація (Summary).	39

## ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ

ДФУ - державна фармакопея України.

Ph.Eur. – European Pharmacopoeia.

РЛФ – рідка лікарська форма.

ТЛФ – тверда лікарська форма.

ЛЗ – лікарській засіб.

ХМК – хімічно-модифікований кремнезем.

NRS-SiO<sub>2</sub> - Кремнезем з ковалентно закріпленими групами пропілтіоетиламіном.

НМУ – Національний медичний університет імені О.О. Богомольця.

GLP- належна лабораторна практика.

г – грам.

мл – мілілітр.

С<sup>0</sup> – градуси Цельсія.

ПАР - 4 - (2-Піріділазо)резорцин натрієва сіль.

ЕДТА – динатрієва сіль етилендіамінтетраамінооцтової кислоти.

## ВСТУП

Хімічний елемент Купрум є одним із життєво необхідних мікроелементів, масова частка якого в людському організмі становить  $1 \cdot 10^{-4} \%$  [1]. Солі міді беруть активну участь у білковому обміні, сприяючи росту та розвитку організму, процесам кровотворення, хребтоутворення, діяльності мозку та серця, фізичному розвитку тощо. Але крім участі у біохімічних процесах, Купрум має виражену антиоксидантну та протизапальну властивість. Саме тому Купрум наявний у низці фармацевтичних продуктів і найбільш вживаною сіллю у лікарських засобах є мідь сульфат пентагідрат [(Додаток 1) 2]. Сполука  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  входить до складу комплексних полівітамінних препаратів а при місцевому (в офтальмології) використанні проявляє антисептичну (знезаражуючу) і в'язучу дію. Зміна балансу Купруму в організмі також може викликати серйозні захворювання (хвороба Вільсона, наприклад) [3-7].

**Актуальність теми:** Контроль лікарських засобів, дієтичних добавок є необхідною складовою фармації і здійснюється відповідно регламентованих методик [8-9]. Оскільки кількісне визначення катіонів Купруму, як правило, проводиться після його відокремлення від схожих за властивостями мікроелементів, то представляло інтерес дослідити можливість відокремлення катіонів Купруму шляхом твердофазної екстракції.

**Мета:** розробити методику сорбційно-фотометричного визначення катіонів Купруму у лікарських засобах.

### **Завдання:**

- 1 Проаналізувати методи ідентифікації та кількісного визначення мікрокількостей катіонів Купруму у лікарських засобах.

- 2 Дослідити сорбційні характеристики вилучення іонів Купруму кремнеземом NRS-SiO<sub>2</sub> з розчинів лікарських засобів (рідкої та твердої лікарських форм) і розробити сорбційно-фотометричну методику кількісного визначення іонів Купруму.
- 3 Провести часткову валідацію методики.

**Методи дослідження:** бібліосемантичний, сорбційний, спектрофотометричний.

**Новизна та значення одержаних результатів:**

Визначено оптимальні умови кількісного вилучення іонів Купруму з розчинів лікарських засобів твердофазним адсорбентом NRS-SiO<sub>2</sub>

Встановлено, що катіони Купруму з розчину твердої лікарської форми – полівітаміни «Квадевіт» селективно вилучаються кремнеземом з ковалентно закріпленими групами пропілтіоетиламіну.

Розроблено і валідовано (частково) методику визначення вмісту іонів Купруму у рідких та твердих лікарських формах шляхом їх сорбції на NRS-SiO<sub>2</sub> з послідовним визначенням вмісту у елюаті спектрофотометричним методом.

**Апробація результатів дослідження:**

Зайцева Г.М., Таран Є.О. Визначення вмісту катіонів купруму в лікарських засобах сорбційно-фотометричним методом. The 14th International scientific and practical conference “World trends, realities and accompanying problems of development” (December 19 - 22, 2023) Copenhagen, Denmark. International Science Group. 2023. P . 282-283.

ISBN – 979-8-89238-617-3 DOI – 10.46299/ISG.2023.2.14

**Структура роботи:** робота представлена на 41 сторінці, до складу входить таблиць -4, рисунків – 3, додатків -6.

## **ОСНОВНА ЧАСТИНА. Розділ 1. Купрум, методи визначення.**

### **1.1. Застосування солей купруму.**

У медицині та фармації застосовують тільки солі Купруму (II) у вигляді купрум сульфат пентагідрату, купрум сульфату та купрум цитрату[3-7].

У нашому дослідженні ми використовували лікарські засоби, до складу який входить катіон Купруму у складі сульфат пентагідрату  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ .

### **1.2. Фізико-хімічні властивості купруму.**

Купрум (мідь, Cu) є хімічним елементом з атомним номером 29 та валентними електронами  $3d^{10}4s^1$ , метал. Молярна маса 63,62 г/моль. Хімічна активність вільного купруму не є значною, у природі метал зустрічається у вільному вигляді, але, найчастіше, входить до складу солей [1].

Купрум сульфат  $\text{CuSO}_4$  є кристалічною сполукою білого кольору, яка при поглинанні води стає блакитною. При розчиненні міді у концентрованій  $\text{H}_2\text{SO}_4$  утворюється сіль  $\text{CuSO}_4$ :



Мідь взаємодіє з галогенами, з кислотами окисниками (наприклад, нітратною), з деякими активними неметалами (наприклад, S).

Сіль  $\text{CuSO}_4$  підлягає гідролізу, взаємодіє з лугами, вступає у реакції комплексоутворення завдяки акцепторним властивостям катіона  $\text{Cu}^{2+}$ [2].

### **1.3. Механізм та метаболізм катіонів Купруму.**

Як було зазначено вище, катіон Купрум відноситься до мікроелементів, і, відповідно, грає важливу роль у біохімічних реакціях метаболізму. Як правило, міді у жіночому організмі більше ніж у чоловічому. Знаходиться Купрум переважно у жовчному міхурі та печінці і він специфічно діє на

синтез гемоглобіну та утворення еритроцитів оскільки солі купруму позитивно впливають на розвиток та зростання людського організму[3-7].

#### **1.4. Фармакологічні ефекти катіону Купруму, побічні ефекти та передозування.**

Катіони Купруму надходять до організму з їжею та через епідерміс, накопичуються у печинці, м'язах, крові. Катіони Купруму приймають участь у біохімічних процесах формування гемоглобіну, нейрологічній діяльності, безперебійному функціонуванні імунної системи[3-7]:

- Катіон Купруму необхідний мікроелемент для синтезу білка, який є трансфером кисню у червоних кров'яних тільцях;
- катіони Купруму допомагають виробляти та утримувати нейротрансмітери (сератонін та норадреналін);
- катіони Купруму входять до складу ферментів, які покращують енергетичний обмін та метаболізм;
- катіони Купруму входять до складу ферментів-антиоксидантів, ферментів, які допомагають організму боротися зі стресом, беруть участь у гальмуванні процесів старіння;
- катіони Купруму беруть участь у формуванні та функціонуванні білка колагену;
- катіони Купруму мають протизапальний ефект.

Але надвисока концентрація катіонів Купруму призводить до негативних проявів оскільки мідь має певну токсичність. Отруєння може бути результатом неправильного вживання вітамінів або дієтичних добавок, до складу яких входить мідь. Результатом цього є різні прояви алергії, роздратування слизового покриття, шкіри, дихальних шляхів. Катіони Купруму можуть руйнувати клітини еритроцитів, що приводить до виникнення гемодіалізу. При інтоксикації катіонами Купруму страждає весь організм і наслідками цього є ниркова та печінкова недостатність, ломота у м'язах, лихоманка, депресивний стан і занепад сил. Зовнішніми проявами



отруєння є сухість у роті, кашель, характерний мідний присмак, почервоніння очей, забарвлення калу у синій колір.

Зустрічаються нерідкі випадки, які пов'язані з незасвоєнням організмом міді належним чином і причин для цього достатньо, а саме:

- збільшений рівень кислотності у шлунку;
- присутність конкуруючих елементів (катионів Цинку або Феруму);
- генетичні порушення (наприклад, хвороба Вілсона).

*Препарати міді, які використовують у медицині, фармації та ветеринарії[1].*

*CuSO<sub>4</sub>.* Застосовують розчин концентрації 0,25% в офтальмології при лікуванні кон'юнктивітів, трахоми.

*Цитрат міді.* Входить до складу препарату «Офтальмол», мазь.

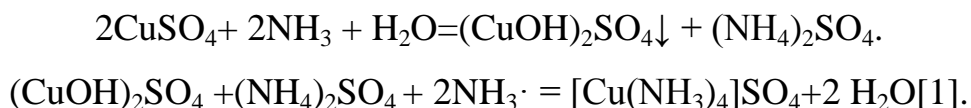
*Дієтична добавка.* Квадевіт.

*Ветеринарний препарат.* Оліговіт.

## 1.5. Методи ідентифікації та кількісного визначення катіонів Купруму.

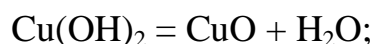
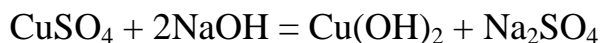
*Фармакопейна реакція ідентифікації катіонів Купруму:*

- при дії на розчин, що містить катіони Купруму розчину амоніаку спочатку утворюється синій осад основної солі. При подальшому додаванні осад розчиняється з утворенням розчинного комплексу синьофіолетового кольору:

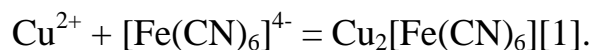


*Інші реакції:*

- катіони Купруму можна ідентифікувати і за допомогою і інших (нефармакопейних) реакцій, наприклад, при дії на сіль міді розчином NaOH утворюється синій осад  $\text{Cu}(\text{OH})_2$ , який при нагріванні стає чорним, оскільки утворюється  $\text{CuO}$ :



- при взаємодії катіону  $\text{Cu}^{2+}$  з  $\text{S}^{2-}$  утворюється чорний осад  $\text{CuS}$ :
- при взаємодії катіонів Купруму з фероціанідом утворюється осад шоколадного кольору, який розчиняється у розчині амоніаку:



Ідентифікувати катіони Купруму можна і різноманітними фізичними методами[1].

*Кількісно* згідно з Європейською фармакопеею визначення проводять методом йодометрії за замісником[9].

## 1.6. Методи вилучення та концентрування катіонів Купруму.

Для кількісного визначення катіонів Купруму у концентраціях менш ніж  $1 \cdot 10^{-4}$  М методи об'ємного аналізу не є робочими, оскільки чутливість титриметрії є значно низкою, відповідно, передувати процедурі кількісного визначення має процес концентрування, наприклад, твердофазна екстракція[10].

При розробці методик кількісного визначення актуальним є поєднання інструментальних методів дослідження (наприклад, спектрофотометрії) з попереднім концентруванням і послідовним елююванням малих кількостей іонів металів або іонних асоціатів металів з органічними реагентами. Твердофазними реагентами при концентруванні металів можуть бути різні матеріали (оксид алюмінію, силікогелі, хімічно-модифіковані силікагелі) [10]. На даний час дослідники все більше звертають увагу на ХМК, оскільки різноманіття ХМК дає можливість опрацювання методик селективного вилучення іонів або функціональних груп з розчину [11-14]. Наприклад, сульфур- та нітроген-вмісні аналітичні ліганди виявляють високу спорідненість до катіонів Купруму і закріплення на поверхні кремнезему такого типу лігандів відкриває перспективи для створення твердофазних екстрагентів щодо вилучення катіонів Купруму з розчинів завдяки утворенню на поверхні сорбенту стійких комплексних сполук.

## Розділ 2. Експериментальна частина.

Випускна кваліфікаційна робота була виконана на кафедрі аналітичної, фізичної та колоїдної хімії НМУ імені О.О. Богомольця.

### 2.1. Матеріали та методи.

#### 2.1.1. Мета дослідження.

Метою нашого дослідження було моделювання, розробка та апробація нової альтернативної методики кількісного визначення катіонів Купруму у лікарських засобах сорбційно-фотометричним методом.

#### 2.1.2. Об'єкти дослідження.

Об'єктами дослідження було обрано рідку лікарську форму (РЛФ) купрум сульфат ( $\text{Cu}(\text{P}(\text{O})_3)_2$ ,  $\text{Cu}(\text{P}(\text{O})_3)_2$ ) у вигляді очних крапель (0,25% розчин), яку застосовують при лікуванні кон'юнктивітів (зразок 1) та тверду лікарську форму (ТЛФ) у вигляді полівітамінів «Квадевіт» (1 таблетка містить 1,56 мг купрум сульфату, що відповідає 0,4 мг купруму ) (зразок 2):

Зразок 1 – рецептурний лікарський засіб 0,25% розчин купрум сульфату у воді.

Зразок 2 – Квадевіт.



Квадевіт, 1 таблетка, містить вітамін А (2500 МО), вітамін Е (3 мг), вітамін В1 (2,5 мг), вітамін В2 (2,5 мг), вітамін В6 (2 мг), фолієву кислоту (0,1 мг), рутин (10 мг), нікотинамід (20 мг), вітамін С (75 мг), вітамін В12 (10 мг), L-Глутамінову кислоту (50 мг), DL-Метіонін (50 мг), кальцію D-пантотенат (5 мг), фітин (30 мг), калій (10,5 мг), мідь (0,4 мг), натрій кроскармелоза, маніт, магній стеарат. Оболонка складається з суміші для плівкового покриття Opadry AMB II White та Opadry II Yellow. Склад дієтичної добавки зазначено в інструкції для застосування.

Як твердофазний екстрагент ми використовували кремнезем з ковалентно закріпленими групами пропілтіетиламіну (NRS-SiO<sub>2</sub>), концентрація прищеплених груп  $C_{NRS}=0,60$  ммоль/г, оскільки у попередніх дослідженнях [11-14] був зроблений наголос на спорідненості груп – NRS до катіонів Купруму [11]. Купрум утворює комплексну сполуку із закріпленим лігадом на поверхні сорбенту складу ML, утворення якої залежить від рН розчину, тому катіони Купруму легко десорбують розчином хлоридної кислоти [11].

## 2.2. Посуд та обладнання.

1. Ваги лабораторні Radwag AS-220 R2 (Додаток 2).
2. Фотометр КФК-3 (Додаток 3).
3. рН – метр (Додаток 4).
4. Мірний посуд класу А (Додаток 5).
5. Порцелянова ступка.
6. Купрум сульфат пентагідрат, CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O, ч.д.а.
7. NaOH 0,1 М.
8. HCl 0,1 М.
9. Na<sub>2</sub>B<sub>4</sub>O<sub>7</sub>·10H<sub>2</sub>O, ч.д.а.
10. ЕДТА, 0,1М.

11.  $\text{NH}_4\text{Cl}$ , ч.д.а.
12. Концентрований розчин амоніаку, х.ч.
13. Мурексид, х.ч.
14. ПАР, х.ч.

### **2.3. Приготування розчинів.**

- Розчини 0,1 М  $\text{HCl}$  та  $\text{NaOH}$  готували зі стандарт-титру шляхом розведення вмісту ампули у мірній колбі на 1л;
- Розчин  $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7 \cdot 10 \text{H}_2\text{O}$  0,05 М готували розчиненням 19,05 г у очищеній воді у мірній колбі на 1 л;
- Розчин ЕДТА 0,01М готували зі стандарт-титру 0,1 М шляхом розведення;
- Розчин  $\text{NH}_4\text{Cl}$  з масовою часткою 10% готували розчиненням 50 г  $\text{NH}_4\text{Cl}$  у очищеній воді у мірній колбі на 0,5л;
- Розчин  $\text{NH}_4\text{OH}$  (1;1) готували змішуванням 25 мл  $\text{NH}_4\text{OH}$  (конц) та 25 мл води очищеної;
- Мурексид, 1%; готували шляхом перетирання у ступці 1 г індикатора і 100 г натрій хлориду.
- Розчин ПАР 0,025% готували шляхом розчинення 0,062 г ПАР у воді, об'ємом 0,25 мл.
- Буферний розчин з  $\text{pH} = 9.8$  готували шляхом додавання до 181 мл розчину  $\text{NaOH}$  0,1 М розчину 0,05 М натрій тетраборату до 0,5 л.

#### **2.3.1. Приготування стандартного розчину.**

Вихідний стандартний розчин купрум сульфату концентрації 0,01 М готували наступним чином: 1,2485 г  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  переносили у мірну колбу

на 0,5л, додавали воду очищену до розчинення наважки та доводили до позначки 0,5 л водою. Колбу закривали притертою пробкою, ретельно перемішували. Комплексометрично визначали точну концентрацію купрум сульфату у стандартному розчині з мурексидом[14].

Для приготування розчинів меншої концентрації використовували загальновідомий метод розведення.

## **2.4. Методики дослідження.**

### **2.4.1. Методика визначення концентрації стандартного розчину.**

10 мл солі купрум сульфату приготовленого згідно п.2.3.1. поміщали у колбу для титрування, додавали воду до 50 мл, 1 мл розчину  $\text{NH}_4\text{Cl}$  з масовою часткою 10%, 2 краплі розчину  $\text{NH}_4\text{OH}$  (1:1), 30 мг приготованої суміші мурексид/натрій хлорид, та титрували 0,01 М розчином ЕДТА до зміни кольору індикатора мурексиду з жовтого на фіалковий. Проводили 5 паралельних титрувань[15-16].

Концентрацію катіонів Купруму у стандартному розчині розраховували за стандартною формулою комплексометричного визначення:

$$c(\text{Cu}^{2+}) = \frac{c(\text{EDTA}) \cdot V(\text{EDTA})}{V(\text{Cu}^{2+})},$$

$c(\text{EDTA})$  – концентрація розчину ЕДТА, моль/л

$V(\text{EDTA})$  - об'єм розчину ЕДТА, що пішов на титрування, мл

$V(\text{Cu}^{2+})$  - об'єм аліквоти розчину купрум сульфату, мл.

### **2.4.2. Методика спектрофотометричного визначення катіонів Купруму з ПАР.**

Аліквотну частину розчину об'ємом 5 мл, що містить катіони Купруму, поміщали у мірну колбу на 25 мл, додавали 2,5 мл розчину ПАР з

масовою часткою 0,025%, 5 мл буферного розчину з рН = 9,8, воду до позначки та перемішували. Оптичну густину розчину вимірювали спектрофотометрично при  $\lambda=500$  нм та  $l=0,5$  см відносно розчину порівняння (розчин, що містить вище вказані кількості реактивів, але не містить катіонів Купруму).

#### **2.4.3. Методики дослідження впливу кислотності середовища, об'єму розчину на ступінь вилучення та десорбції катіонів Купруму.**

*Вплив кислотності середовища* на ступінь вилучення катіонів Купруму з розчинів зразків досліджували у статичних умовах. Для цього у 8 контактних колб зважували 0,1 г NRS-SiO<sub>2</sub>, додавали 25 мл розчину купрум сульфату з молярною концентрацією  $1,0054 \cdot 10^{-4}$  моль/л (концентрація була встановлена комплексометрично) і створювали певне значення рН від 1,0 до 8,0 шляхом додавання до контактних колб розчинів хлоридної кислоти (0,1 М) чи натрій гідроксиду (0,1 М). Отриману суміш перемішували на магнітних мішалках 15 хв. Відокремлювали тверду фазу та аналізували розчин на вміст катіонів Купруму спектрофотометрично (п.2.3.2.). Після визначення аналізували залежність % сорбції від рН розчину.

*Вплив об'єму розчину зразків* на сорбцію катіонів Купруму вивчали у статичному режимі. Для цього аліквотну частину стандартного розчину об'ємом 1 мл поміщали і мірні колби змінного об'єму 0,025-0,2л, створювали оптимальне значення рН розчину, доводили водою очищеною до позначки та перемішували. Приготовлені розчини контактували з 0,1 г сорбенту впродовж 20 хв при постійному перемішуванні. Тверду фазу відокремлювали та аналізували розчин на вміст іонів купруму, як описано вище.

*Десорбували катіони Купруму* шляхом обробки твердої фази, яка містить сорбовані катіони металу на поверхні NRS-SiO<sub>2</sub>, розчином кислоти хлоридної (5 мл) з молярною концентрацією 0,1 М (рН=1) [2]. Суміш



перемішували 15 хв та фільтруванням відокремлювали тверду фазу. В елюаті визначають вміст катіонів Купруму у розчині так, як описано вище.

#### **2.4.4. Методика кількісного сорбційно-фотометричного визначення катіонів Купруму у рідких лікарських формах.**

0,2 мл розчину рідкої лікарської форми (зразок 1) до допомогою мікропіпетки переносили у мірну колбу на 25 мл. Створювали рН розчину 6,0-7,0, додавали воду очищену до позначки, перемішували. Підготовлений розчин додавали до 0,1 г NRS-SiO<sub>2</sub>, постійно перемішували впродовж 15 хв. Після контакту тверду фазу відокремлювали від розчину фільтруванням через паперовий фільтр. Катіони Купруму десорбували 5 мл розчину 0,1 М кислоти хлоридної. Елюат відокремлювали від твердої фази методом декантування і аналізували вміст катіонів Купруму спектрофотометричним методом за реакцією з ПАР. Концентрацію катіонів Купруму розраховували за даними градувального графіка з врахування ступеня розведення зразка.

#### **2.4.5. Методика кількісного сорбційно-фотометричного визначення катіонів Купруму у твердих лікарських формах.**

1 таблетку зразка 2 (згідно з інструкцією для медичного застосування таблетка містить 0,4 мг купруму чи 1,56 мг купрум сульфату) перетирали у порцеляновій ступці з невеликою кількістю води до отримання однорідної маси. Отриману суміш переносили у колбу на 25 мл. Створювали рН розчину 6,0-7,0, додавали воду до позначки та перемішували. Суміш пропускали через фільтр і отриманий розчин додавали до 0,1 г NRS-SiO<sub>2</sub>, постійно перемішували впродовж 15 хв. Після контакту тверду фазу відокремлювали від розчину фільтруванням через паперовий фільтр. Катіони Купруму десорбували 5 мл розчину 0,1 М кислоти хлоридної. Елюат відокремлювали від твердої фази методом декантування і аналізували вміст

катіонів Купруму спектрофотометричним методом за реакцією з ПАР. Концентрацію катіонів Купруму розраховували за даними градуювального графіка з врахування ступеня розведення зразка.

### Розділ 3. Результати та їх обговорення.

Перед апробацією сорбційно-фотометричної методики нами була визначена концентрація стандартного розчину комплексонометрично. Результати титрування розчином ЕДТА солі  $\text{CuSO}_4$  та кількісне визначення наведено у Таблиці 1:

Таблиця 1. Експериментальні дані титрування стандартного розчину розчином ЕДТА:  $c(\text{ЕДТА})=0,0100 \text{ М}$ , об'єм стандартного розчину 10мл,  $n=5$ .

№	V (ЕДТА), мл	$C_i(\text{Cu}^{2+}), \text{М} \cdot 10^{-2}$	$C_{\text{сер}}(\text{Cu}^{2+}), \text{М} \cdot 10^{-2}$
1	10,03	1,003	1,0054
2	10,06	1,006	
3	10,09	1,009	
4	10,06	1,006	
5	10,03	1,003	

Отже, концентрація стандартного розчину дорівнює  $1,0054 \cdot 10^{-2} \text{ М}$ .

#### 3.1. Аналіз залежності ступеня сорбції від рН розчину.

Дослідженнями, які були зроблені раніше, доведено, що твердофазна екстракція залежить від рН розчину, тому ми аналізували залежність величини сорбції від рН розчину (п. 2.4.3.). Для наочності, на Рис. 1 та 2 наведено функція графічної залежності ступеня сорбції (%) від рН:

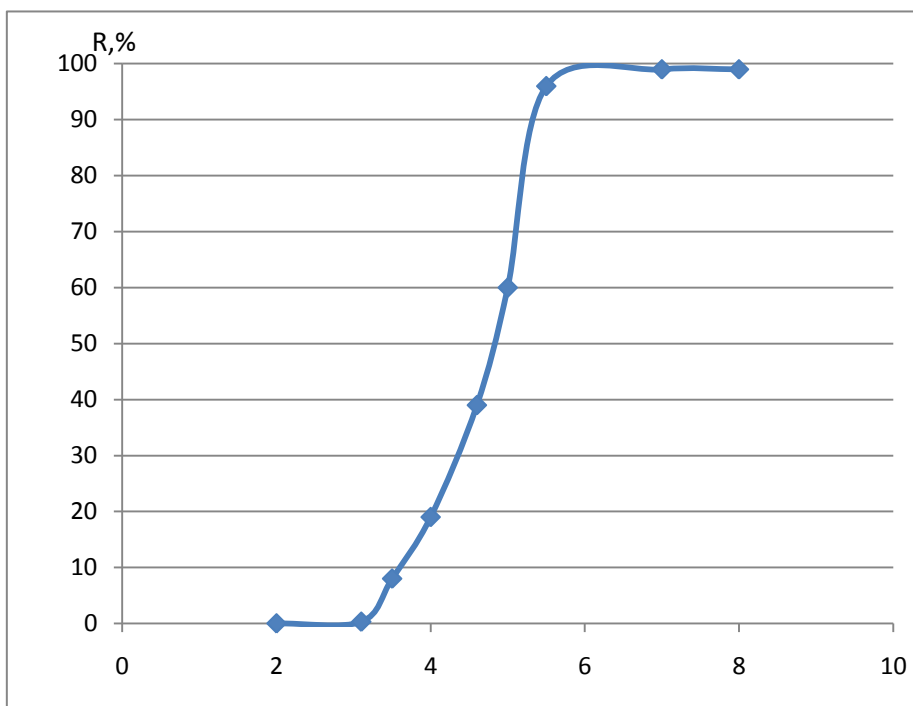


Рис. 1. Залежність ступеня сорбції катіонів Купруму (зразок 1)  $R, \%$  від рН розчину на  $\text{NRS-SiO}_2$ :  $m_c = 0.1$  г,  $C_{\text{Cu}} = 1,253 \cdot 10^{-4}$  моль/;  $\tau = 15$  хв.

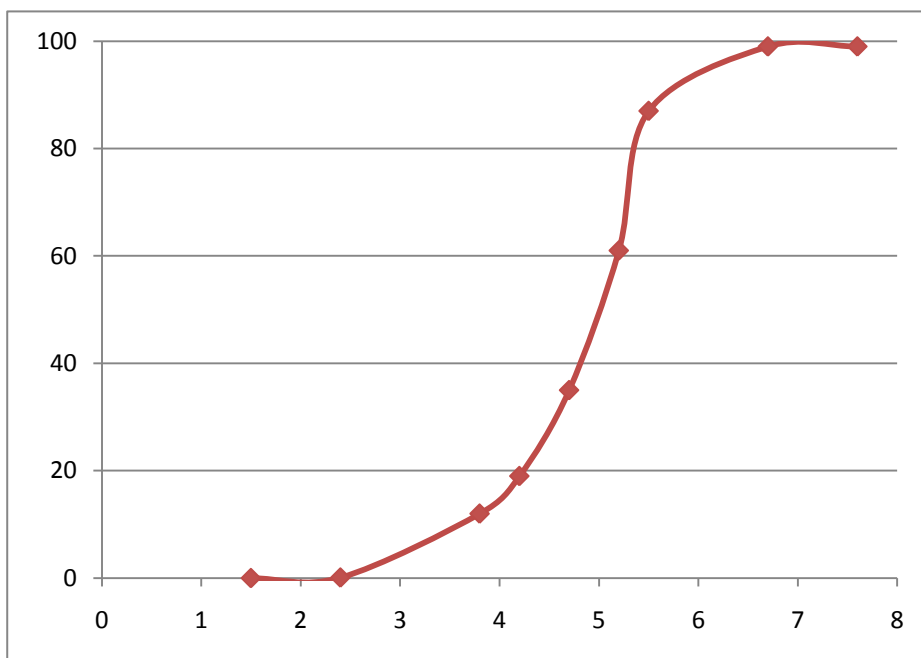


Рис. 2. Залежність ступеня сорбції катіонів Купруму (зразок 2)  $R, \%$  від рН розчину на  $\text{NRS-SiO}_2$ :  $m_c = 0.1$  г,  $C_{\text{Cu}} = 3,9 \cdot 10^{-4}$  моль/;  $\tau = 15$  хв.

Як бачимо з Рис.1, з розчину РЛФ катіони Купруму не вилучаються у кислому середовищі до  $pH = 3$ . У слабкокислому розчині ступінь сорбції катіонів Купруму поступово збільшується зі зростанням величини  $pH$ . Кількісна сорбція катіонів Купруму спостерігається при  $pH > 5,7$ .

Аналогічно протікає вилучення катіонів Купруму з приготовленого розчину твердої лікарської форми. До  $pH 2,5$  катіони Купруму залишаються у розчині, а при досягненні  $pH = 6,0$  – спостерігається кількісна сорбція.

Таким чином, оптимальне значення кислотності середовища для проведення твердофазної екстракції катіонів Купруму з розчинів лікарських форм становить  $pH=6-7$ .

При моделюванні методики ми враховували, що важливою характеристикою твердофазної екстракції є співвідношення  $m/V$  - *маса сорбенту:об'єм досліджуваного розчину*. Особливого значення ця величина набуває при пробопідготовці твердих лікарських форм. Для визначення оптимального співвідношення  $m/V$ , та, відповідно, для забезпечення кількісного вилучення катіонів Купруму, ми проаналізували залежність ступеня сорбції катіонів Купруму на  $NRS-SiO_2$  від об'єму розчину зразка. Результати наведено у Таблиці 2:

Таблиця 2. Визначення впливу об'єму стандартного розчину та розчину зразка 2 на ступінь вилучення катіонів Купруму:  $m_c = 0.1$  г,  $pH=6.0$ ,  $\tau = 15$  хв.

Об'єм розчину, мл	Стандартний розчин		Зразок 2	
	$C_{Cu}, 10^{-4}$ М	Знайдено $C_{Cu}$ $10^{-4}$ моль	$C_{Cu}, 10^{-4}$ моль	Знайдено $C_{Cu} 10^{-4}$ М
25	4	3,86±0,04	3,9	3,85±0,03
50	2	1,93±0,03	1,95	1,87±0,04
100	1	0,93±0,05	0,98	0,90±0,03
200	0,5	0,45±0,04	0,49	0,45±0,03

Результати експерименту, представлені у Таблиці 2, свідчать про придатність вибраного сорбенту для вилучення катіонів Купруму з високим значенням ступеня сорбції. Зі збільшенням об'єму розчину (у вивчених межах) ступінь вилучення дещо зменшується. Отже, для подальших досліджень логічно обрати об'єм розчину 25-50 мл.

### **3.2. Побудова градувального графіка та аналіз лінійності методики.**

Для вивчення залежності оптичної густини від концентрації розчину готували серію розведених стандартних розчинів з розчину, концентрація якого була визначена попередньо комплексометрично.

Для цього у мірні колби об'ємом 25 мл за допомогою піпетки переносили 0,5; 1,0; 2,0; 3,0; 4,0 мл стандартного розчину концентрації  $1,0054 \cdot 10^{-4}$  М, створювали рН 6-7 шляхом додавання розчину 0,1 М кислоти хлоридної або натрій гідроксиду, додавали воду до позначки і перемішували. Отримані розчини додавали до NRS-SiO<sub>2</sub>, постійно перемішували, через 15 хв. відокремлювали тверду фазу. Наступним кроком елюювали катіони Купруму. Елюат кількісно переносили у колбу на 25 мл, додавали 2,5 мл розчину ПАР 0,025%, 5 мл буферного розчину з рН 9,8, і доводили розчин водою до риски. Розчини перемішували і аналізували спектрофотометрично за умов:  $\lambda=500$  нм,  $\ell =0,5$  см відносно розчину порівняння. Результати представлено у Таблиці 3 та на Рис.3:

Таблиця 3. Залежність оптичної густини від концентрації стандартного розчину:  $C_{ст}(Cu^{2+}) = 1,0054 \cdot 10^{-4}$  М, ПАР 0,025%, рН 9,8 , V = 25мл,  $\lambda=500$  нм,  $\ell = 0,5$ см

№ розчину	V, мл стандартного розчину	$C \cdot 10^{-6}$ , М стандартного розчину	A, $\lambda=500$ нм, $\ell = 0,5$ см
1	0,5	2	0,12
2	1,0	4	0,24
3	2,0	8	0,49
4	3,0	12	0,68
5	4,0	16	0,90

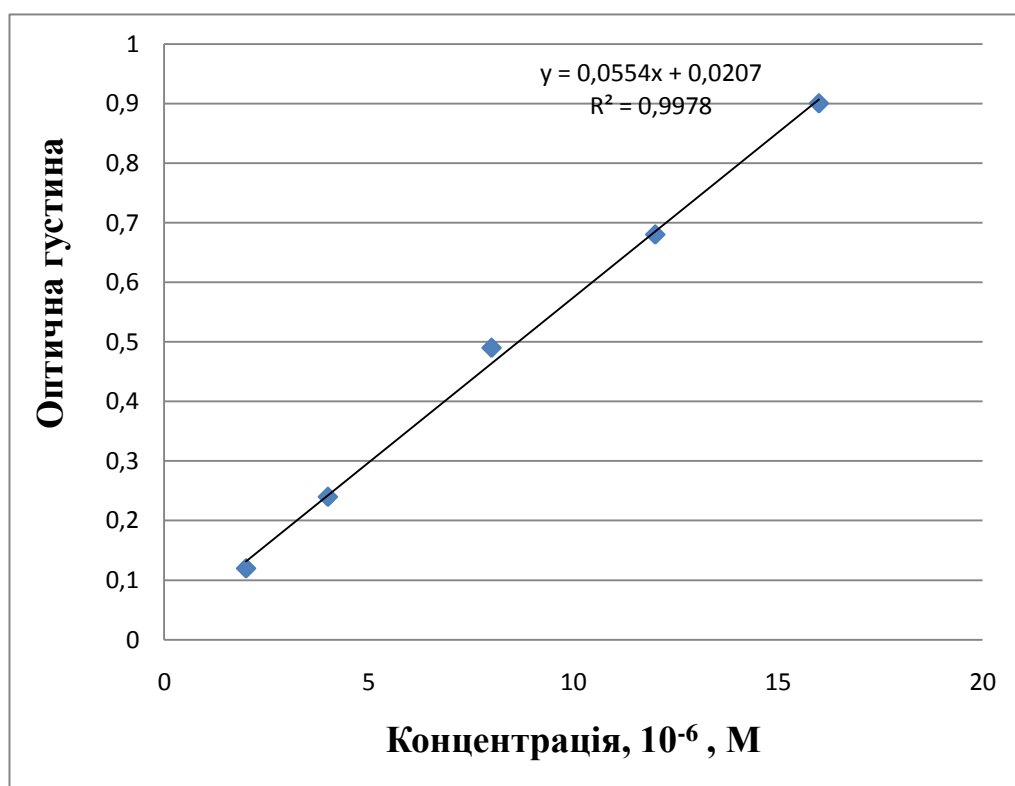


Рис.3. Градувальний графік визначення концентрації катіонів Купруму.

$C_{ст}(Cu^{2+}) = 1,0054 \cdot 10^{-4}$  М, ПАР 0,025%, рН 9,8 , V = 25мл,  $\lambda=500$  нм,  $\ell = 0,5$ см

Статистична оцінка параметрів лінійної залежності[17-18].

Величину залишкової дисперсії  $s_0^2$  визначали за формулою

$$s_0^2 = \frac{\sum_{i=1}^n (y_i - Y_i)^2}{v} = \frac{\sum_{i=1}^n y_i^2 - a \cdot \sum_{i=1}^n y_i - b \cdot \sum_{i=1}^n x_i \cdot y_i}{v}, s_0^2 = 0,0003$$

дисперсії констант  $a$  і  $b$  визначали за рівняннями:

$$s_b^2 = \frac{n \cdot s_0^2}{n \cdot \sum_{i=1}^n x_i^2 - (\sum_{i=1}^n x_i)^2},$$

$$s_b^2 = 2,285 \cdot 10^{-6}$$

$$s_a^2 = \frac{s_b^2}{n} \cdot \sum_{i=1}^n x_i^2.$$

$$s_a^2 = 0,000221$$

Стандартні відхилення  $s_b$  і  $s_a$  і величини  $\Delta_b$  і  $\Delta_a$  (напівширини довірчих інтервалів) визначали за формулами:

$$s_b = \sqrt{s_b^2}, \quad s_b = 0,00151$$

$$s_a = \sqrt{s_a^2}, \quad s_a = 0,0149$$

$$\Delta_b = t(P, v) \cdot s_b, v = n - 2, \quad t(0,95, 3) = 3,1824 \quad \Delta_b = 0,00481$$

$$\Delta_a = t(P, v) \cdot s_a, v = n - 2. \quad \Delta_a = 0,0473$$

Відповідно, довірчі інтервали для констант  $a$  і  $b$  розраховують за рівняннями:

$$a \pm s_a \cdot t(P, v), \quad b \pm s_b \cdot t(P, v),$$

Рівняння лінійної регресії:  $y = 0,0554x + 0,0207$

Довірчий інтервал для коефіцієнта  $a$ :  $0,0554 \pm 0,0473$ , довірчий інтервал для коефіцієнта  $b$ :  $0,0207 \pm 0,00481$ , наведені результати відповідають вимогам ДФУ[17-18].



### 3.3. Результати кількісного сорбційно-фотометричного визначення катіонів Купруму у лікарських засобах.

Результати проведених попередніх досліджень дозволили змоделювати, апробувати та запропонувати нову сучасну та експресну сорбційно-фотометричну методику визначення вмісту катіонів Купруму у зразках лікарських засобів (Таблиця 4).

*Принцип методу* полягає у попередньому концентруванні катіонів Cu(II) методом твердофазної екстракції на кремнеземі, модифікованому групами пропілтіоетиламіну з наступним десорбування катіонів з фази сорбента розчином хлоридної кислоти. Вміст катіонів Купруму в елюаті визначали спектрофотометрично так, як наведено вище.

Таблиця 4. Результати сорбційно-фотометричного визначення катіонів Купруму в зразках:  $m(\text{сорбенту})=0,1\text{г}$ ,  $V(\text{розчину})=25\text{мл}$ ,  $\text{pH}=6-7$ ,  $V(\text{елюенту})=5\text{мл}$ ,  $\tau=15\text{хв}$ .

N	Зразок 1	Зразок 2
	$\text{CuSO}_4 \cdot 10^{-2} \text{ M}$	$\text{CuSO}_4, \text{ мг}$
1	1,51	1,49
2	1,48	1,49
3	1,52	1,50
4	1,50	1,48
5	1,49	1,51

Вміст  $\text{Cu}^{2+}$  (у перерахунку на купрум сульфат) за результатами визначення запропонованою методикою складає: у зразку рідкої лікарської форми  $0,23 \pm 0,01\%$ ; у зразку твердої лікарської форми –  $1,498 \pm 0,012 \text{ мг}$ .

### 3.4. Оцінка специфічності методики.

Авторами [11] показано, що катіони Купруму кількісно вилучаються з водного розчину у нейтральному середовищі. Оскільки діюча речовина купрум сульфат у фармацевтичних препаратах міститься у суміші з багатьма іншими хімічними сполуками, то представляло інтерес дослідити характер сорбції катіонів Купруму з розчинів зразків лікарських засобів на фоні низки компонентів, що фактично доводить специфічність запропонованої методики. Як зазначено у Таблиці 4, результати визначеного кількісного вмісту катіонів Купруму корелюють з вмістом катіонів Купруму, який зазначено в інструкції для медичного застосування і інші іони, мелекули, функціональні групи не заважають визначенню.

### 3.5. Перевірка внутрішньолабораторної прецизійності.

Внутрішньолабораторна прецизійність характеризує вплив внутрішньолабораторних змін у процесі проведення однакових експериментальних дій: різні дні, різні температурні режими лабораторій, різні реактиви тощо. Відтворюваність характеризує прецизійність у міжлабораторному експерименті[17-18].

Внутрішньолабораторну прецизійність оцінювали за результатами досліджень, які проводили у різні календарні дати. Оцінку збіжності проводили, використовуючи нижчезазначені статистичні величини, а саме [17-18]:

$|x_1 - x_n| < L(P, n) \cdot s$ , де  $x_1$  – найменше значення вибірки,  $x_n$  – найбільше значення вибірки,  $s$  – стандартне відхилення,  $L(P, n)$  – фактор, розрахований за Пірсоном при довірчій ймовірності  $P = 0,95$  та відповідному обсязі вибірки  $n$  (значення фактору  $L(95\%, n)$  наведені нижче):

Значення фактору  $L$  (95%,  $n$ ) для різного обсягу вибірки

$n$	2	3	4
$L(P, n)$	2,77	3,31	3,65

Зразок 1

№п/п	День 1	День 2
	Вміст діючої речовини, $10^{-2}M$	
1	1,51	1,50
2	1,48	1,51
3	1,52	1,52
4	1,50	1,51
5	1,49	1,50
Середнє значення	$1,50 \cdot 10^{-2}$	$1,51 \cdot 10^{-2}$
Результати перевірки внутрішньолабораторної точності		
Об'єднане середнє	$1,50 \cdot 10^{-2}$	
Відносне стандартне відхилення (%)	0,84	
Коефіцієнт Стьюдента (95%, 9)	2,2622	
Відносний довірчий інтервал (%)	1,90	
Критичне значення для збіжності результатів	1,90 % < 2,0 %	

Результати для зразку 1 можна вважати збіжними, критичне значення розраховується для кожного методу індивідуально, але можна прийняти за 2,0%.

Зразок 2

	День 1	День 2
	Вміст діючої речовини, мг	
1	1,49	1,48
2	1,49	1,48
3	1,50	1,50
4	1,48	1,51
5	1,51	1,50
Середнє значення	1,49	1,49

Результати перевірки внутрішньолабораторної точності	
Об'єднане середнє	1,49
Відносне стандартне відхилення (%)	0,78
Коефіцієнт Стьюдента (95%, 9)	2,2622
Відносний довірчий інтервал (%)	1,76
Критичне значення для збіжності результатів	1,76 % < 2,0 %

Внутрішньолабораторна точність розробленої методики підтверджена величиною відносного довірчого інтервалу, що відповідає критерію прийнятності: значення відносного довірчого інтервалу не перевищує максимальну припустиму невизначеність аналізу (2,0%).

Результати для зразку 2 можна вважати збіжними.

### 3.6. Правильність методики.

Перевірка правильності за методом «введено-знайдено» свідчить про достатню точність і відтворюваність методики. Встановлено, що відносна похибка середнього значення відповідає вимогам ДФУ[8], тому методику можна вважати правильною.

Таблиця 4. Результати сорбційно-фотометричного визначення іонів Купруму в зразку 2 запропонованим методом та методом добавок:  $m_c = 0,1$  г;  $pH = 2,8-3$ ;  $V_{ел.} = 5$  мл, елюент  $HCl$  0,1М. ;  $n = 3$

Метал	V проби, $cm^3$	Введено, Купруму, мг	Знайдено, мг	Знайдено запропонованим методом, мг	Sr
Зразок 1	25	1,00	1,34±0,03	0,38±0,026	0,001
	50	1,00	1,41±0,03		
	25	1,50	2,86±0,02		

## ВИСНОВКИ

1. На основі проведеного бібліосемантичного аналізу для визначення мікрокількостей катіонів Купруму у лікарських засобах обрано сорбційно-фотометричний метод та твердофазний естрагент NRS-SiO<sub>2</sub>.
2. Визначено оптимальні умови вилучення іонів Купруму кремнеземом NRS-SiO<sub>2</sub> з розчинів лікарських засобів. Розроблена та апробована сорбційно-фотометрична методика кількісного визначення катіонів Купруму у рідкій та твердій лікарських формах.
3. Валідація розробленої методики за специфічністю, лінійністю, правильністю та збіжністю результатів визначення відповідає критеріям прийнятності згідно ДФУ

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. <https://www.pharmencyclopedia.com.ua/article/3761/kuprum>
2. Фармацевтична хімія: Підручник. Ред. П.О. Безуглий. – Вінниця: Нова Книга, 2008 – 560с.
3. Фармакологія за Рангом і Дейлом, пер.9-го англ.вид. у 2-х томах Т.1/Джеймс М.Рітер, Род Флавер, ГремГендерсон, Юн Конг Лоук, Девід Мак К,юн, Гемфрі П Ранг; наук.ред.перекл. Ганна Зайченко, Микола Хайтович.-К.ВСВ ”Медицина“, 2021-588 с.
4. Фармакологія з основами патології / Колесник Ю.М.,Чекман І.С., Беленічев І.Ф., Горчакова Н.О., Нагорна О.О., Бухтіярова Н.В., Моргунцова С.А., Зайченко Г.В. : підручник. Вінниця: Нова книга, 2021. – 572 с.
5. Побічна дія ліків: підручник для студентів вищих навчальних закладів медичної освіти/Беленічев І.Ф., Горчакова Н.О., Бухтіярова Н.В, Самура Т.А., Бухтіярова Т.А., Нагорна О.О., Моргунцова С.А., Єгоров А.А., Риженко О.В., Тихоновський О.В. Запорізький державний медичний Університет. Вінниця: Нова книга, 2021. – 360 с.
6. Фармакологія. Підручник для медичних і стоматологічного факультетів Вищих медичних навчальних закладів освіти. І.С.Чекман, В.М.Бобирьов, В.В.Кресюн, В.В.Годован, Н.О.Горчакова, Л.І.Казак, Т.В.Кава, Г.Ю.ОстровськаТ.А.Петрова, Л.М.Рябушко Вінниця: Нова книга, 2020. – 472 с.
7. Pharmacology / [M. A. Clark, R. Finkel, J. A. Rey et al.]. – [7th ed.]. – Baltimore : Lippincott Williams & Wilkins, 2018. – 638 p.
8. Державна Фармакопея України/Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». — 1-е вид. — Харків: ПІРЕГ, 2001. — 556 с.
9. European Pharmacopoeia. 8.0.– P. 3003.

10. Зайцев, В.М. Хімічно модифіковані кремнезему: Навчальний посібник для студентів хімічних спеціальностей / В.М. Зайцев; КНУТШ - Київ: Київський університет, 2005. - 171с.
11. ГМ Зайцева, ОП Коноплицька, ВА Халаф, ВМ Зайцев. Сорбційно-атомно-абсорбційне визначення Cu (II), Cd (II), Zn (II), та Pb (II) у питній воді за допомогою кремнезему, модифікованого пропілтіоетиламіном. Укр. хім. журн.–2006.–72, 108-113.
12. Обушенко Тетяна Іванівна, Толстопалова Наталія Михайлівна, Науменко Анна Сергіївна ФЛОТОЕКСТРАКЦІЯ ІОНІВ МІДІ З ВОДНИХ РОЗЧИНІВ International Scientific Journal “Internauka”, 2018, № 8(48), 1 т., с. 147-152.
13. Гомеля, М. Д., Іванова, В. П., & Трус, І. М. (2018). ЕФЕКТИВНІСТЬ ВИЛУЧЕННЯ ІОНІВ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ З РОЗВЕДЕНИХ РОЗЧИНІВ ІОНООБМІННИМ МЕТОДОМ. *Технічні науки та технології*, 2017, (4(10), 154–162. ]
14. Г. Н. Зайцева, О. П. Рябушко - Закономірності сорбції та механізм комплексоутворення амінофосфонові кислоти, закріпленої на поверхні кремнезему з іонами металу. Український хімічний журнал, 1992, 58 (11), 965-972].
15. Шварценбах Г., Флашка Т. Комплексометрическое титрование.- М.:Химия, 1970.-360с.
16. Пилипенко А. П., Пятницький И. В. Аналитическая химия. Книга 2 - М.: Химия, 1990.
17. Валідація аналітичних методик і випробувань. Державна Фармакопея України. Державне підприємство «Науково-експертний фармакопейний центр». 1-е видання. Харків : РІРЕГ, 2001. С.58 – 67. Доповнення 1. 2004. С. 2 – 4.

18.Георгіянц В.А. Валідація аналітичних методик у фармації : теорія, нормативні аспекти, проблеми практики. В.А. Георгіянц. О.А. Євтіфєєва. *Фармацевтичний часопис*. 2007. №2. С.13 – 18.



# ДОДАТКИ

## Додаток 1. Витяг з Європейської фармакопеї.

EUROPEAN PHARMACOPOEIA 8.0

Cortisone acetate

### ASSAY

Dissolve 0.125 g in 50 mL of water R. Add 2 mL of sulfuric acid R and 3 g of potassium iodide R. Titrate with 0.1 M sodium thiosulfate, using 1 mL of starch solution R, added towards the end of the titration.

1 mL of 0.1 M sodium thiosulfate is equivalent to 15.96 mg of CuSO<sub>4</sub>.

### STORAGE

In an airtight container.

01/2008:0894  
corrected 7.0

## COPPER SULFATE PENTAHYDRATE

### Cupri sulfas pentahydricus

CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O *M*<sub>r</sub> 249.7  
[7758-99-8]

### DEFINITION

Content: 99.0 per cent to 101.0 per cent.

### CHARACTERS

*Appearance*: blue, crystalline powder or transparent, blue crystals.

*Solubility*: freely soluble in water, soluble in methanol, practically insoluble in ethanol (96 per cent).

### IDENTIFICATION

- A. Add several drops of dilute ammonia R2 to 1 mL of solution S (see Tests). A blue precipitate is formed. On further addition of dilute ammonia R2 the precipitate dissolves and a dark blue colour is produced.
- B. Loss on drying (see Tests).
- C. Dilute 1 mL of solution S to 5 mL with water R. The solution gives reaction (a) of sulfates (2.3.1).

### TESTS

**Solution S.** Dissolve 5 g in water R and dilute to 100 mL with the same solvent.

**Appearance of solution.** Solution S is clear (2.2.1).

**Chlorides** (2.4.4): maximum 100 ppm.

Dilute 10 mL of solution S to 15 mL with water R.

**Iron**: maximum 100 ppm.

Atomic absorption spectrometry (2.2.23, Method I).

*Test solution.* Dissolve 0.5 g in 10 mL of water R, add 2.5 mL of lead-free nitric acid R and dilute to 25.0 mL with water R.

*Reference solutions.* Prepare the reference solutions using iron standard solution (20 ppm Fe) R, adding 2.5 mL of lead-free nitric acid R and diluting to 25.0 mL with water R.

*Source*: iron hollow-cathode lamp.

*Wavelength*: 248.3 nm.

*Atomisation device*: air-acetylene flame.

*Copper may form explosive acetylides with acetylene. Therefore, clean the burner thoroughly before any residues become dry.*

**Lead**: maximum 50 ppm.

Atomic absorption spectrometry (2.2.23, Method I).

*Test solution.* Dissolve 2.5 g in 10 mL of water R, add 2.5 mL of lead-free nitric acid R and dilute to 25.0 mL with water R.

*Reference solutions.* Prepare the reference solutions using lead standard solution (100 ppm Pb) R, adding 2.5 mL of lead-free nitric acid R and diluting to 25.0 mL with water R.

*Source*: lead hollow-cathode lamp.

*Wavelength*: 217.0 nm.

*Atomisation device*: air-acetylene flame.

*Copper may form explosive acetylides with acetylene. Therefore, clean the burner thoroughly before any residues become dry.*

**Loss on drying** (2.2.32): 35.0 per cent to 36.5 per cent, determined on 0.500 g by drying in an oven at 250 ± 10 °C.

### ASSAY

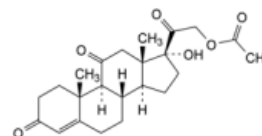
Dissolve 0.200 g in 50 mL of water R. Add 2 mL of sulfuric acid R and 3 g of potassium iodide R. Titrate with 0.1 M sodium thiosulfate, adding 1 mL of starch solution R towards the end of the titration.

1 mL 0.1 M sodium thiosulfate is equivalent to 24.97 mg of CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O.

01/2008:0321  
corrected 6.0

## CORTISONE ACETATE

### Cortisoni acetat



C<sub>23</sub>H<sub>36</sub>O<sub>6</sub> *M*<sub>r</sub> 402.5  
[50-04-4]

### DEFINITION

17-Hydroxy-3,11,20-trioxopregn-4-en-21-yl acetate.

Content: 97.0 per cent to 103.0 per cent (dried substance).

### CHARACTERS

*Appearance*: white or almost white, crystalline powder.

*Solubility*: practically insoluble in water, freely soluble in methylene chloride, soluble in dioxan, sparingly soluble in acetone, slightly soluble in ethanol (96 per cent) and in methanol.

It shows polymorphism (5.9).

### IDENTIFICATION

*First identification*: A, B.

*Second identification*: C, D, E.

A. Infrared absorption spectrophotometry (2.2.24).

*Comparison*: cortisone acetate CRS.

If the spectra obtained in the solid state show differences, record new spectra using 50 g/L solutions in methylene chloride R in a 0.2 mm cell.

B. Thin-layer chromatography (2.2.27).

*Solvent mixture*: methanol R, methylene chloride R (1:9 V/V).

*Test solution.* Dissolve 10 mg of the substance to be examined in the solvent mixture and dilute to 10 mL with the solvent mixture.

*Reference solution (a).* Dissolve 20 mg of cortisone acetate CRS in the solvent mixture and dilute to 20 mL with the solvent mixture.

*Reference solution (b).* Dissolve 10 mg of hydrocortisone acetate R in reference solution (a) and dilute to 10 mL with reference solution (a).

*Plate*: TLC silica gel F<sub>254</sub> plate R.

*Mobile phase*: add a mixture of 1.2 volumes of water R and 8 volumes of methanol R to a mixture of 15 volumes of ether R and 77 volumes of methylene chloride R.

*Application*: 5 µL.

*Development*: over a path of 15 cm.

*Drying*: in air.

General Notices (1) apply to all monographs and other texts

1965

## Додаток 2.

Ваги лабораторні Mettler Toledo XS204, допустиме навантаження становить 220 г, дискретність – 0,1 мг.



### Додаток 3. Фотометр КФК-3



Технічні характеристики:

Спектральний діапазон роботи фотометра- 315 до 990 нм

Спектральний інтервал, що виділяється монохроматором фотометра  $\leq 7$  нм,

Межі виміру:

коефіцієнта пропускання  $t$ : 0.1 - 100%

оптичної густини : 0 - 3

Основна абсолютна похибка вимірювання  $t$ , - 0,5%

Основна абсолютна похибка встановлення довжини хвилі- 3 нм

Диспергувальний елемент дифракційна решітка увігнута, R: 250 мм

Джерело випромінювання: лампа галогенна КМГ 12-10

Приймач випромінювання: фотодіод ФД 288 Д

Маса, кг, не більше: 15

Додаток 4. рН-метр Metrohm 826 pH mobile.



Діапазон вимірювання	pH 0 ... 14 (-8 ... 22)
Потенціал U	$\pm 1200$ mV
Температура	-150.0 ... +250.0 ° C (Pt 1000); -5.0 ... + 250 ° C (NTC)
Дозвіл pH	0.001
Дозвіл U	0.1 mV
Дозвіл T	0.1 °C

Додаток 5. Мірний посуд класу А.





## Анотація (Summary)

### DETERMINATION OF THE CONTENT OF COPPER CATIONS IN MEDICINAL PRODUCTS USING THE SORPTION-PHOTOMETRIC METHOD

Copper (Cuprum) is one of the essential trace elements, the mass fraction of which in the human body is  $1 \cdot 10^{-4}\%$ . Copper salts take an active part in protein metabolism, contributing to the growth and development of the body, the processes of hematopoiesis, spine formation, brain and heart activity, physical development, etc. Cuprum has pronounced antioxidant, anti-inflammatory properties. Therefore, copper is present in a number of pharmaceutical products. The most widely used salt in medicines is copper sulfate pentahydrate ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) - it is included in a number of complex multivitamin preparations. When used locally,  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  exhibits an antiseptic (disinfectant) and astringent effect.  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  solutions are also used orally for phosphorus poisoning. A change in the balance of the cuprum cation in the body can also cause serious diseases (Wilson's disease, for example).

Control of medicines and dietary supplements is a necessary component of pharmacy and is carried out in accordance with regulated methods. Since the quantitative determination of cuprum cations is usually carried out after its separation from trace elements with similar properties, it was of interest to investigate the possibility of separating cuprum cations by solid-phase extraction. Sulfur- and nitrogen-containing analytical ligands show a high affinity for cuprum cations. Fixation of this type of ligands on the surface of silica opened prospects for the creation of solid-phase extractants for the extraction of copper cations from solutions due to the formation of stable complex compounds on the surface of the sorbent.

The aim of the study was to develop a technique for sorption-photometric determination of copper cations in pharmaceutical preparations. The objects of the

study were selected medicinal form Copper sulfate (Cupri sulfas, Cuprum sulfuricum) in the form of eye drops (0.25% solution), which is used in the treatment of conjunctivitis (sample 1) and in the form of multivitamins (1 tablet contains 1.56 mg of copper sulfate) (sample 2) and silica with covalently attached propylthioethylamine groups (NRS-SiO<sub>2</sub>), C NRS=0.60 mmol/g

In this study, the influence of the acidity of the medium, the volume of the analyzed solution, and the duration of contact of the phases on the degree of extraction of copper cations from the solutions of drug samples was determined. Sorption processes and desorption of copper cations from the sorbent surface by eluent solutions were studied in static mode. The concentration of copper before and after contact with the sorbent was determined spectrophotometrically by reaction with pyridylase resorcinol.

As a result of the study, it was found that copper ions are quantitatively extracted by the sorbent from a neutral and weakly alkaline medium. A 0.1 mol/l solution of hydrochloric acid was studied as an eluent. It was established that 10 ml of eluent is sufficient for quantitative desorption. It has been shown that the duration of contact with the copper sulfate/NRS-SiO<sub>2</sub> solution affects the degree of extraction of copper cations and is 15 minutes under optimal conditions.

The results of the conducted research made it possible to propose a sorption-photometric method for determining the content of copper in samples of medicinal products. The principle of the method consists in the concentration of Cu(II) ions by the method of solid-phase extraction on silica modified with propylthioethylamine groups to desorb it from the sorbent phase with a hydrochloric acid solution. The content of copper ions in the eluate is determined spectrophotometrically. Under optimal extraction conditions, other active substances in the solid dosage form - multivitamins (sample 2) do not affect the degree of copper extraction

The content of metal ions Cu<sup>2+</sup> (in terms of copper sulfate) according to the results of determination by the proposed method is: in the sample of liquid dosage form  $0.23 \pm 0.01\%$ ; in a sample of a solid dosage form –  $1.498 \pm 0.012$  mg in a



tablet. Verification of correctness by the "entered-found" method indicates sufficient accuracy and reproducibility of the method. It has been established that the relative error of the mean value meets the requirements of the Federal Statistical Office.