

**Федеральное государственное автономное образовательное учреждение
высшего образования
РОССИЙСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
имени Н.И. Пирогова
Минздрава России**

**СБОРНИК МЕТОДИЧЕСКИХ МАТЕРИАЛОВ ПО
ДОПОЛНИТЕЛЬНОЙ ОБЩЕОБРАЗОВАТЕЛЬНОЙ ПРОГРАММЕ
ЦТПО РНИМУ им. Н. И. Пирогова
«Лабораторная оценка качества лекарств»**

(Ознакомительный уровень)

Направленность:
естественнонаучная
Возраст обучающихся –
13 - 18 лет
Срок реализации программы – 36 часа

Разработчик:
Сепп Владислав Валентинович

Москва

Пояснительная записка

Программа реализуется в рамках медико-инженерной направленности на базе центра технологической поддержки образования РНИМУ им Н.И.Пирогова.

Актуальность и педагогическая целесообразность.

Школьники, определяясь с будущей профессией и специальностью, ориентированы на выбор специальности, в которой есть практическая составляющая, которую они могли бы с интересом освоить. Современная фармация неразрывно связана с техникой, инженерным делом и аналитическими методами исследования. Изучение методов и методик оценки качества требует освоения высокотехнологичных и современных методов исследования. Предоставляя возможность школьнику ознакомиться с актуальными на сегодняшний день подходами к проведению оценки качества лекарственных средств и фармацевтических субстанций, а затем закрепить теоретические знания при работе на исследовательском оборудовании, реализация данной программы позволяет развивать в школьниках навыки исследователя и способствовать профориентации.

Цель – изучение общих подходов и аналитических методов и методик, применяемых в оценке качества лекарственных средств и фармацевтических субстанций с использованием химических реактивов, аналитических тест-систем, с дальнейшей расшифровкой и интерпретацией результатов.

1.1 Планируемые результаты.

1. Знать:

- Общие подходы к оценке качества лекарственных средств и фарм. субстанций;

- Методы оценки качества лекарственных средств и фарм. субстанций;
- Методики оценки качества лекарственных средств и фарм. субстанций

2. Уметь:

- Определять актуальный для конкретного лекарственного средства комплекс методов и методик исследования качества;
- Подбирать оптимальные методики в рамках выбранного метода исследований

1.2 Категория обучающихся/слушателей: 13 – 18 лет

1.3 Форма обучения: очная.

1.4 Срок освоения (трудоемкость) программы: 36 часа.

1.5 Форма и режим занятий. Занятия проходят 2 раза в неделю по 2 ак/ч. Во время занятий предусмотрен 15 минутный перерыв на отдых, проветривание лаборатории.

1.6 Количество обучающихся в группе: не более 40 человек.

1.7 Срок реализации программы: сентябрь – декабрь 2021 г.

Раздел 2. «Содержание программы»

Содержание учебно-тематического плана

Тема 1. Оценка качества лекарственных средств – определение, терминология, история возникновения.

Тема 2. Общие подходы и методологические основы анализа качества лекарственных средств и фарм. субстанций.

Тема 3. Физические методы контроля качества лекарственных средств.

Тема 4. Химические методы контроля качества лекарственных средств.

Тема 5. Физико-химические методы контроля качества лекарственных средств.

Тема 6. Высокотехнологические современные методики контроля качества лекарственных средств.

Тема 5. Итоговое занятие.

Раздел 3. «Формы аттестации и оценочные материалы»

В конце каждой темы проводится проверка знаний в форме короткого опроса и/или беседы, позволяющего выявить усвоение материала обучающимися. Вопросы, которые возникают у обучающихся в процессе обучения, выносятся на общее обсуждение также в диалоговой форме разбора материала. В качестве проверки используются различные формы подведения итогов: проведение внутренних соревнований между обучающимися учебных групп.

Раздел 4. «Организационно - педагогические условия реализации программы»

4.1 Учебно-методическое и информационное обеспечение программы.

Для успешного проведения занятий очень важна подготовка к ним, заключающаяся в планировании работы, подготовке материальной базы и самоподготовке педагога. В этой связи продумывается вводная, основная и заключительная части занятий; просматривается необходимая литература, отмечаются новые термины и понятия, которые следует разъяснить обучающимся, выделяется теоретический материал, намечается содержание беседы или рассказа, подготавливаются наглядные пособия для постановки опыта, а также подбирается соответствующий дидактический материал.

4.2. Материально-технические условия реализации программы.

Для проведения занятий необходимо достаточно просторное помещение, которое должно быть хорошо освещено и оборудовано необходимой мебелью: столы, стулья, шкафы – витрины для хранения материалов, специального инструментария, а также необходимое аналитическое оборудование.

Для реализации программы необходимы:

1. Образцы анализируемых лекарственных средств и фармацевтических субстанций.
2. Миницентрифуга.
3. Компьютеры.
4. Системное программное обеспечение (Windows).
5. Программное обеспечение для проектной деятельности (Microsoft Office).
6. Принтер.
7. Картридж, бумага.
8. Проектор мультимедийный.
9. Экран для проектора.
10. Сканер.
11. Термостат.
12. Вортекс (для перемешивания).
13. Пипетки-дозаторы для определенного объема.
14. Пипетки-дозаторы переменного объема.
15. Расходные материалы: носики, пробирки, перчатки.
16. Набор реактивов для анализа образца методом ВЭЖХ.
17. Амплификатор.
18. Система детекции результатов ВЭЖХ.
19. Спектрофотометр.

Лабораторная оценка качества лекарств



Классификация лекарственных форм. Общие принципы оценки их качества

Разнообразие лекарственных форм обуславливает необходимость использовать в фармацевтической практике несколько их классификаций.

Классификация по агрегатному состоянию и консистенции включает следующие группы:

- твердые (порошки, таблетки, драже, гранулы, сборы, брикеты, спансулы);
- жидкие (истинные и коллоидные растворы, суспензии, эмульсии, капли, настои, настойки, отвары, сиропы, экстракты, слизи, микстуры);
- мягкие (мази, линименты, суппозитории, пилюли, капсулы, пластыри, пленки, пасты);
- газообразные (аэрозоли, газы)

Одно и то же лекарственное средство может применяться в разных формах.



Классификация лекарственных форм

По числу содержащихся лекарственных веществ, все лекарственные формы делятся на:

- одно-,
- двух-
- и так далее,
- т. е. на многокомпонентные лекарственные смеси.



Нормативные требования к качеству лекарственных форм учитывают тот факт, что они производятся преимущественно предприятиями фармацевтической промышленности.

Поэтому их называют *готовые лекарственные средства* или *лекарственные формы* в отличие от *экстемпоральных* лекарственных средств или форм (от лат. *ex tempore* – в нужный момент, незамедлительно), которые изготавливают в аптеках.

Качество всех лекарственных форм контролируют в соответствии с требованиями ГФ и другой НТД.

Большинство разделов ФС о качестве лекарственной формы по структуре и содержанию мало отличаются от соответствующих разделов ФС на лекарственное средство.



Для стандартов качества лекарственных форм существуют следующие особенности:

- состав приводят в виде перечня исходных компонентов с указанием НТД, соответствующей каждому из них;
- индивидуальное содержание компонента указывают в расчете на 100 г или 100 мл лекарственной формы, на 1 таблетку, драже и т. п.;
- сведения о внешнем виде (цвет, запах) и физико-химических свойствах указывают в разделе «Описание»;
- описание испытаний на подлинность приводят в соответствующем разделе ФС, причем в случае лекарственных форм сложного состава испытаниям подвергают каждый компонент;
- способ количественного определения каждого вещества описывают в разделе «Количественное определение» и указывают его содержание в % или активность в ЕД в расчете на 1 таблетку, 1 мл, 1 капсулу и т. п.;



Таким образом, основными этапами оценки качества лекарственных форм являются:

- испытания на подлинность
- количественное определение каждого вещества.

Подлинность однокомпонентных лекарственных форм подтверждают такими же химическими реакциями, как и для соответствующего индивидуального лекарственного вещества.



Фармацевтический химия или химия лекарственных средств — это наука о химических свойствах и превращениях лекарственных веществ, методах их разработки и получения, качественного и количественного анализа.

Фармацевтический анализ является одним из основных разделов фармацевтической химии. Фармацевтический анализ служит для определения химической характеристики и измерения биологически активных веществ на всех этапах производства: от контроля сырья до оценки качества полученного лекарственного вещества, изучения его стабильности, установления сроков годности и стандартизации готового лекарственного средства.

Фармацевтический анализ



- Изучает химическую характеристику и измерения биологически активных веществ на всех этапах производства:
- от контроля сырья до оценки качества полученного лекарственного вещества,
- изучение его стабильности,
- установление сроков годности и
- стандартизация готовой лекарственной формы

Особенности фармацевтического анализа



- анализу подвергают вещества различной химической природы: неорганические, элементарноорганические, радиоактивные, органические соединения от простых алифатических до сложных природных биологически активных веществ
- чрезвычайно широк диапазон концентраций анализируемых веществ
- объектами фармацевтического анализа являются не только индивидуальные лекарственные вещества, но и смеси, содержащие различное число компонентов

Требования к фармацевтическому анализу

- должен быть достаточно специфичен и чувствителен,
- точен по отношению к нормативам, обусловленным ГФУ, ВФС, ФС и другой АНД,
- выполняться в короткие промежутки времени с использованием минимальных количеств испытуемых лекарственных препаратов и реактивов.



Фармацевтический анализ включает:

- фармакопейный анализ,
- постадийный контроль производства лекарственных средств,
- анализ лекарственных форм индивидуального изготовления,
- экспресс-анализ в условиях аптеки и
- биофармацевтический анализ



Основные принципы фармацевтического анализа

Критерии:

- избирательность,
- чувствительность,
- точность,
- время, затраченное на выполнение анализа,
- израсходованное количество анализируемого препарата (лекарственной формы)



Фармацевтический анализ характеризуется следующими особенностями:

- широкий диапазон анализируемых веществ (неорганические, органические, элементарорганические, радиоактивные, полимерные, биологические объекты, сырье и т. д.);
- разрабатываются методики исследования как для индивидуальных веществ, так и для многокомпонентных смесей;
- вовлекается широкий диапазон концентраций;
- количество лекарственных средств с каждым годом увеличивается. Это вызывает необходимость разработки новых способов анализа.
- способы фармацевтического анализа нуждаются в систематическом совершенствовании в связи с непрерывным повышением требований к качеству лекарственных средств. Поэтому необходимо широкое использование не только химических, но и более совершенных физико-химических методов для оценки качества лекарств.

Особенности фармацевтического анализа

Основные этапы исследования и оценки качества синтезированных лекарственных веществ:

- отделение и очистка вещества от промежуточных продуктов синтеза и побочных веществ;
- установление физических свойств;
- определение состава и структуры вещества с помощью химических и физико-химических методов исследования.

Почти всегда синтезированные лекарственные вещества содержат примеси других веществ, что может стать причиной нежелательных побочных эффектов, снижения терапевтического действия, а иногда и отравления организма.

Поэтому очевидна роль *фармацевтического анализа* – одного из основных разделов фармацевтической химии.

Он включает совокупность способов исследования лекарственных средств, лекарственных форм, изложенных в ГФ и другой НТД на всех этапах производства: от контроля исходного сырья до получения конечного продукта; изучение стабильности лекарственного средства, установления сроков годности и стандартизации готовой лекарственной формы.

Фармакопейный анализ

проводят на основании методов исследования лекарственных веществ, средств и форм, изложенных в ГФ, ФС и ВФС.

В зависимости от его результатов делается вывод о соответствии объекта исследования принятым стандартам.

Несоответствие этим требованиям хотя бы по одному из показателей исключает применение его в медицинской практике.

Таким образом, лекарственные вещества, средства и формы должны быть фармакопейного качества. Эта оценка степени чистоты не может быть заменена на такие квалификационные характеристики, как химически чистые (х. ч.), чистые для анализа (ч. д. а.) и др.

При проведении фармакопейного анализа лекарственного средства устанавливаются его физические и физико-химические свойства, показатели качества:

подлинность, доброкачественность, а также количественное содержание активной субстанции в лекарственном средстве или ингредиентов в лекарственном препарате.

Каждый из перечисленных выше этапов фармакопейного анализа имеет свою цель, однако результаты рассматриваются не изолированно, а дополняют друг друга при оценке качества лекарственного средства.

Например, растворимость лекарственного вещества и рН его водного раствора могут служить критериями и подлинности, и доброкачественности.

В ФС описаны методики соответствующих испытаний применительно к тому или иному фармакопейному препарату. Многие из этих методик идентичны.

Для обобщения большого объема частных сведений по фармакопейному анализу в ГФ приведены общие принципы испытаний на подлинность, чистоту и количественное определение лекарственных веществ.

Фармакопейный анализ

Виды и методы:

- химические,
- физико-химические,
- биологические



Основные критерии фармакопейного анализа

- избирательность;
- точность;
- чувствительность;
- продолжительность;
- количество лекарственных средств или препаратов, необходимое для проведения анализа



Все твердые лекарственные формы анализируют по показателям:

- «средняя масса и однородность по массе»,
- «количественное определение»
- «микробиологическая чистота».

Таблетки, драже, капсулы и гранулы тестируют на:

- растворение или распадаемость,
- посторонние примеси (родственные соединения).

Суппозитории – на однородность дозирования, температуре плавления или времени полной деформации.



Для мягких лекарственных форм обязательными контролируемыми параметрами являются:

- масса содержимого упаковки
- микробиологическая чистота или стерильность
- количественное определение
- посторонние примеси (родственные соединения).

Обязательный минимум контроля жидких лекарственных форм:

- номинальный объем
- микробиологическая чистота
- количественное определение.



В общие и частные ФС на настойки и экстракты до сих пор принято включать:

- органолептические пробы
- простейшие тесты по определению прозрачности, цветности, запаха и вкуса.

В настоящее время в зарубежных документах прослеживается тенденция объективизировать эти показатели за счет использования эталонов и стандартов.

Отсутствие в отечественной фармакопее эталонов цветности и запаха для настоек и экстрактов приводит к появлению на рынке одноименных лекарственных средств с неодинаковыми оттенками цвета и запахом, что нежелательно.

В связи с этим актуальным является разработка методик адекватного определения с помощью объективных способов анализа.



Важнейший показатель качества жидких спиртосодержащих фитопрепаратов – содержание в них этанола.

Отечественная ОФС рекомендует пикнометрический способ и газовую хроматографию.

Методики ГЖХ, предложенные Европейской фармакопеей, позволяют так же определить токсичные примеси метанола и изопропанола в этаноле.

Пополнение арсенала НД такими методиками – важная и перспективная задача.



Лекарственные формы для инъекций подлежат обязательной проверке по следующим показателям:

- прозрачность,
- рН (кислотность или щелочность),
- механические включения,
- номинальный объем,
- стерильность,
- количественное определение.

Другие показатели, например цветность, плотность, вязкость, содержание веществ гистаминоподобного действия и др., проверяются в зависимости от природы субстанции, технологии получения данной лекарственной формы и способа ее применения.



Аэрозоли при анализе качества минимально подлежат испытаниям на:

- герметичность баллона
- определение выхода содержимого упаковки
- микробиологическую чистоту
- количественное содержание действующих веществ.



Оценка качества одно- и многокомпонентных лекарственных форм может осложняться взаимодействиями лекарственного вещества с:

- Растворителем
- наполнителем
- Стабилизатором
- консервантом и другими вспомогательными веществами.

Поэтому при анализе твердых лекарственных форм наполнитель следует отделять от лекарственного вещества.



При анализе многокомпонентных лекарственных форм способы определения индивидуальных лекарственных веществ в большинстве случаев не дают положительных результатов. Испытания необходимо проводить с соблюдением следующих правил:

- выбирать условия, позволяющие анализировать одно вещество в присутствии других;
- проводить по возможности предварительное разделение лекарственных веществ, а также отделение их от вспомогательных веществ (например, экстракцией, хроматографическим методом и др.);
- учитывать те индивидуальные физико-химические свойства компонентов, которые могут стать причиной нежелательных взаимодействий при анализе лекарственных форм (адсорбции, гидролиза и т. д.);
- использовать модельные смеси для отработки оптимальных методик разделения компонентов и их



К сожалению, очень редко удается найти универсальный метод, позволяющий оценить соответствие фармакопейным стандартам всех активных компонентов лекарственной формы.

Поэтому испытания проводят, сочетая несколько методов с учетом особенностей физико-химических свойств компонентов:

растворимости, окислительно-восстановительных, кислотно-основных и др.

В методиках, описанных в ГФ, в основном применяют макрометод и определение проводят по физиологически активной части молекулы вещества.



Общие принципы и методы определения подлинности лекарственных веществ

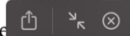
Испытание на *подлинность* - это подтверждение идентичности анализируемого лекарственного вещества или лекарственной формы, осуществляемое на основе требований НД с помощью физических, химических или физико-химических методов.



С этой целью ГФ предлагает комплекс испытаний.

В перечень определяемых показателей входит:

- характерный внешний вид;
- растворимость;
- температуры кипения, плавления;
- плотность;
- вязкость;
- температурный интервал перегонки;
- удельное вращение (или угол вращения);
- pH водного раствора;
- спектры поглощения в УФ или видимой области спектра;
- полосы поглощения в ИК-спектре;
- величина отношения оптических плотностей при определенной длине волны;
- показатель преломления раствора;
- удельный показатель поглощения;
- химические реакции на ионы и функциональные группы, обуславливающие биологическую активность.



Физические методы установления подлинности

Они основаны на проверке физических свойств или измерении физических констант лекарственных веществ.

Подлинность лекарственного вещества подтверждает соответствие фармакопейным стандартам его:

- агрегатного состояния,
- формы кристаллов,
- окраски,
- запаха,
- гигроскопичности,
- выветриваемости,
- устойчивости к воздействию света и кислорода воздуха,
- летучести и др.

Эти свойства препарата приведены в разделе "Описание" ФС.



Для установления чистоты лекарственных веществ используют различные физические, физико-химические, химические методы анализа или их сочетание. ГФ предлагает следующие физические и физико-химические методы:

- ✓ определение температур плавления и затвердевания, а также температурных пределов перегонки;
- ✓ определение плотности,
- ✓ определение показателей преломления (рефрактометрия),
- ✓ определение оптического вращения (поляриметрия);
- ✓ спектрофотометрия (ультрафиолетовая, инфракрасная);
- ✓ фотоколориметрия,
- ✓ эмиссионная и атомно-абсорбционная спектрометрия,
- ✓ флуориметрия,
- ✓ спектроскопия ядерного магнитного резонанса,
- ✓ масс-спектрометрия;
- ✓ хроматография (адсорбционная, распределительная, ионообменная, газовая, высокоэффективная жидкостная);
- ✓ электрофорез (фронтальный, зональный, капиллярный);
- ✓ электрометрические методы (потенциометрическое определение pH, потенциометрическое титрование, амперометрическое титрование, вольтамперометрия).



32

Испытание на **отсутствии запаха** в препаратах проводят сразу после вскрытия упаковки. Для анализа твердых веществ 1-2 г препарата равномерно распределяют на часовом стекле диаметром 6-8 см и через 2 минуты определяют запах на расстоянии 4-6 см. Затем определяют форму кристаллов и окраску вещества.



Окраска лекарственного вещества – это одна из характерных свойств, позволяющая осуществить предварительную идентификацию.

Значения степени белизны и степени яркости являются характеристиками качества белых и белых с оттенками лекарственных веществ.

Их допустимые пределы регламентируются в частных статьях.



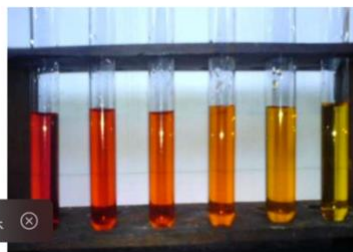
Физические свойства твердых ЛВ:

- форма кристаллов или аморфное вещество;
- его устойчивость (к свету, кислороду, гигроскопичность и степень выветривания);
- запах;
- цвет;
- степени белизны.



➤ Для жидкостей устанавливают:

- цвет;
- запах;
- летучесть;
- подвижность;
- воспламеняемость.



Определение степени белизны порошкообразных лекарственных средств - это физический метод, впервые включенный в ГФ XI.

Степень белизны твердых лекарственных веществ можно оценить различными инструментальными методами на основе спектральной характеристики света, отраженного от образца.

Для этого определяют **коэффициенты отражения** при освещении образца белым светом, полученным от специального источника со спектральным распределением или пропущенным через светофильтры.

Он позволяет определить наличие или отсутствие цветового оттенка по степени белизны и степени яркости.

Для белых веществ степень белизны теоретически равна 1. Вещества, у которых степень белизны 0,95 - 1, а степень яркости менее 0,85, имеют сероватый оттенок.

Более точную оценку белизны лекарственных веществ можно осуществить с помощью спектрофотометров отражения.

В некоторых случаях при характеристике окраски лекарственного средства в фармакопее указывается на возможность ее изменения. Изменение внешнего вида объекта может происходить под влиянием различных факторов (влаги, воздуха, других газов, освещения, изменения температуры, пыли и др.) и проявляется как отсыревание порошка, образование осадка, изменение цвета, выделение газа и т. п.

В основе этих явлений, как правило, лежат химические реакции различных типов.

В разделе «Описание» указывается на возможность изменения внешнего вида лекарственного средства при хранении (продукты выветривания и др.). Фармакологические последствия таких изменений могут проявляться в нарушении дозировки лекарственного средства, токсичности, несовместимости компонентов в препарате.

При изменении внешнего вида лекарственного средства должно быть подвергнуто контролю качества на соответствие стандартам ГФ или другой НТД.

Для правильного вывода о соответствии внешнего вида лекарственного средства требованиям ГФ необходимо установить связь между изменением внешнего вида и физико-химическими процессами, которые могут происходить под влиянием факторов с участием лекарственного средства.

Важный показатель подлинности - *растворимость* лекарственного вещества в воде, растворах кислот, щелочей, органических растворителях.

Растворимость в ГФ рассматривают не как физическую константу, а как свойство, которое может служить ориентировочной характеристикой испытуемого препарата.

В ГФ приняты условные термины, обозначающие растворимость лекарственного вещества.

Условные термины в ГФ (очень легко растворим, растворим, практически нерастворим и др.) характеризуют объем (в миллилитрах) растворителя, необходимого для растворения 1 г вещества.

В ФС встречаются обозначения растворимости в виде соотношения содержания весовой части вещества в указанном объеме раствора.

Например, препарат растворяется в воде в соотношении 1:10, тогда следует брать 1 г вещества и 10 мл растворителя.

Или, растворимость может обозначаться в соотношении массовых частей.

Например, препарат растворим в 7 частях глицерина, тогда следует взять 1 г вещества и 7 г глицерина

Условные термины для характеристики растворимости лекарственного средства

Условный термин	Сокращенное обозначение условного термина	Примерное количество растворителя (мл), необходимое для растворения 1 г вещества
Очень легко растворим	оч. л.р.	до 1
Легко растворим	л.р.	от 1 до 10
Растворим	р.	от 10 до 30
Умеренно растворим	ум.р.	от 30 до 100
Мало растворим	м.р.	от 100 до 1000
Очень мало растворим	оч.м.р.	от 1000 до 10000
Практически нерастворим	пр.н.р.	10000 и выше

Определение физических констант

➤ **температура плавления (разложения)** - константа, характеризующая подлинность твердых веществ. Является постоянной величиной для индивидуального вещества. Для установления температуры плавления ГФ рекомендует капиллярный метод, позволяющий подтвердить подлинность и ориентировочно степень чистоты лекарственного вещества.

Так как в лекарственных веществах допускается некоторое содержание примесей, то температура плавления может быть выражена не всегда четко, поэтому под *температурой плавления* подразумевает интервал температур, при котором происходит процесс плавления испытуемого препарата от появления первых капель жидкости до полного перехода вещества в жидкое состояние.

Некоторые органические соединения при нагревании разлагаются. Процесс этот происходит при *температуре разложения*. Приведенные в частных ФС интервалы плавления указывают на то, что между началом и окончанием плавления лекарственного вещества интервал не должен превышать 2° С. Если он превышает 2° С, то в частной статье должно быть указано, на какую величину. Если переход вещества из твердого в жидкое состояние нечеткий, то вместо интервала температуры плавления устанавливают температуру, при которой происходит только начало или только окончание плавления. Это значение температуры должно укладываться в интервал, приведенный в частной ФС.

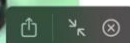
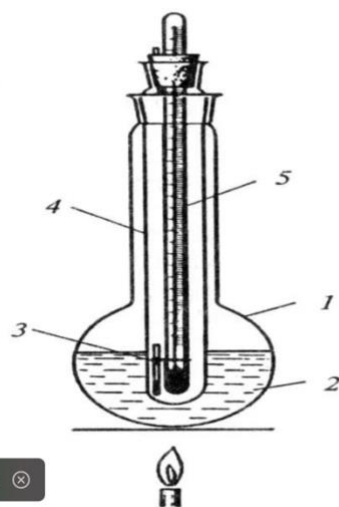
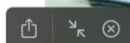
Описание прибора и методика определения температуры плавления приведено в ФС ГФ "Определение температуры плавления".

Определение физических констант

- *Температура затвердевания* - это наиболее высокая температура, при которой происходит переход вещества из жидкого состояния в твердое. Устройство прибора и методика определения температуры затвердевания приведены в ОФС ГФ.
- *Температура кипения* - это интервал между начальной и конечной температурой кипения при нормальном давлении. Температуру, при которой в приемник перегнались первые 5 капель жидкости, называют начальной температурой кипения, а температуру, при которой перешло в приемник 95 % жидкости - конечной температурой кипения.



Температура затвердевания — наиболее высокая температура, при которой в течение короткого времени происходит переход ЛВ из жидкого в твердое состояние.



Определение физических констант

• **Плотность.** Для ее определения берут массу вещества определенного объема. Плотность устанавливают с помощью пикнометра (точность до 0,001) или ареометра (точность до 0,01) по методикам, описанным в ГФ, строго соблюдая температурный режим, так как плотность зависит от температуры. Обычно это достигают термостатированием пикнометра при 20° С.

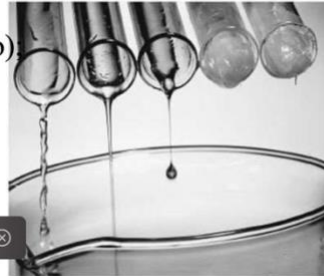
• **Относительная вязкость** – это отношение вязкости исследуемой жидкости к вязкости воды, принятой за единицу. Используют для оценки качества жидких препаратов, имеющих вязкую консистенцию, например глицерина, вазелина, масел, обычно определяют. Для измерения кинематической вязкости используют различные модификации вискозиметров. Динамическую вязкость можно установить с помощью ротационных вискозиметров различных модификаций или микрореометров.



Вязкость (внутреннее трение) — свойство текучих тел (жидкостей) оказывать сопротивление перемещению одной их части относительно другой при определенной температуре.

Различают вязкость:

- динамическую (абсолютную);
- удельную, приведенную;
- характеристическую;
- кинематическую.



- ИК-спектрофотометр (для определения подлинности); спектрофотометр для спектрометрии в видимой и УФ-области (определение подлинности, количественное определение, однородность дозирования, растворимость);
- оборудование для тонкослойной хроматографии (ТСХ) (определение подлинности, родственных примесей);
- хроматограф для высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) (определение подлинности, количественное определение, определение родственных примесей, однородности дозирования, растворимости);
- газожидкостной хроматограф (ГЖХ) (содержание примесей, определение однородности дозирования);
- поляриметр (определение подлинности, количественное определение);
- потенциометр (измерение pH, количественное определение);
- атомно-абсорбционный спектрофотометр (элементный анализ тяжелых металлов и неметаллов);
- титратор К. Фишера (определение содержания воды);
- дериватограф (определение потери массы при высушивании).

50

Химические методы установления подлинности

- Химические методы установления подлинности лекарственного средства заключаются в идентификации с помощью химических реакций на определенные катионы, анионы, функциональные группы.
- *Неорганические* лекарственные вещества идентифицируют с помощью химических реакций на катионы и анионы которые входят в состав молекулы препарата.
- Качественный *элементный анализ* используют для испытания подлинности лекарственных веществ, содержащих в молекуле атомы серы, фосфора, галогенов и др. Так как атомы этих элементов не ионизированы, то необходима предварительная их минерализация. В результате чего происходит разрушение органической части молекулы, а атомы серы, галогенов и т. д. образуют ионы, которые затем идентифицируют с помощью соответствующих реакций.

Химические методы установления подлинности

Идентификацию *органических* лекарственных веществ проводят с использованием функционального анализа.

Для проведения фармакопейного анализа используются:

- общие реакции, типичные для целого класса или группы соединений;
- специфические реакции, присущие данному веществу и позволяющие отличить его среди соединений данного класса, группы.

Специфичность реакции характеризуется возможностью обнаружить одни ионы в присутствии других.

К сожалению, специфических реакций немного. Чаще в анализе лекарственных веществ встречаются реакции, которые называются **селективными (избирательными)**, когда реактив образует различные по внешним признакам продукты реакции с несколькими ионами или функциональными группами, иногда даже в одинаковых условиях.

Избирательность метода очень важна при проведении анализа многокомпонентных лекарственных средств, а так же при определении содержания основного компонента в присутствии продуктов его превращения при хранении вследствие воздействия факторов внешней среды.

Факторы **точности и чувствительности** являются определяющими при отборе аналитических методов для включения их в практику фармацевтического анализа.

При выполнении серийных анализов на химико-фармацевтических предприятиях, а так же при выполнении экспресс-анализа в аптеках важен **фактор времени**. Поэтому для этих целей выбираются экспрессные методы, но не в ущерб другим характеристикам.

Учитываются также такие характеристики как **воспроизводимость и правильность методики**.

Высокоэффективные современные физические и физико-химические методы анализа ЛС

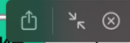


Основные виды ВЭЖХ

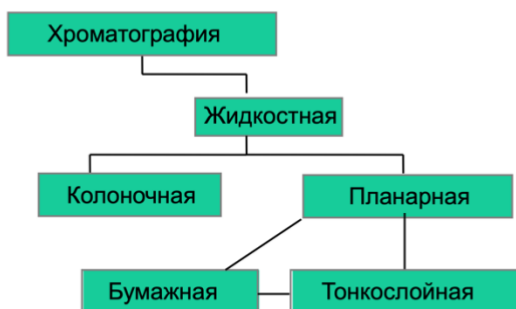
- Нормально-фазовая
- Обращенно-фазовая
- Гидрофильная
- Ион-парная
- Эксклюзионная
- Ультра-ВЭЖХ



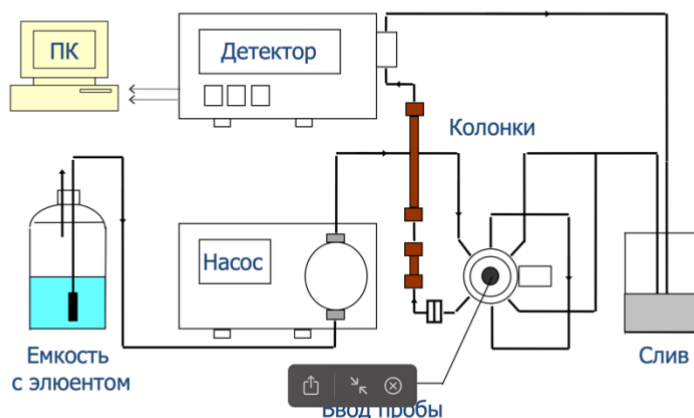
Виды ВЭЖХ по механизму взаимодействий



Виды ВЭЖХ по технике исполнения

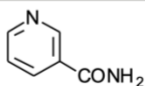


Основные узлы жидкостных хроматографических систем

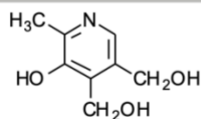


Водорастворимые витамины

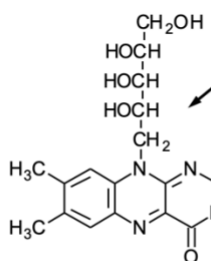
Никотинамид (B₃)



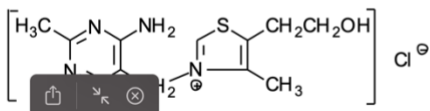
Пиридоксин (B₆)



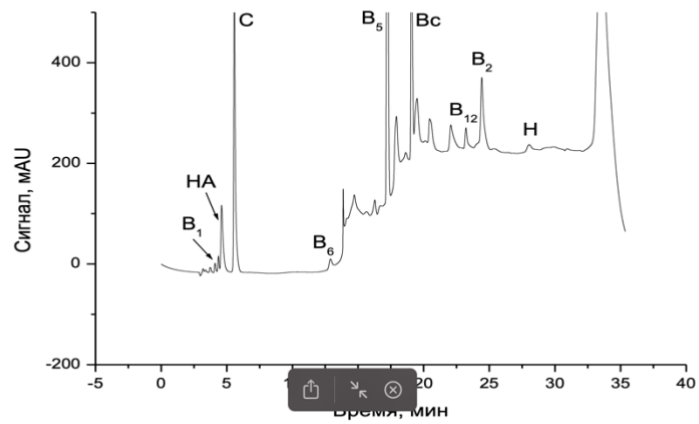
Рибофлавин (B₂)



Тиамин (B₁)



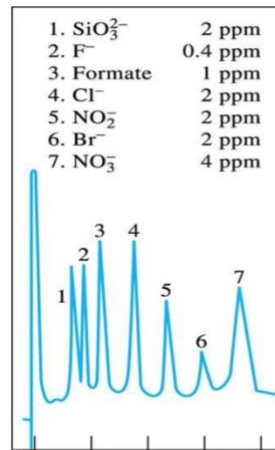
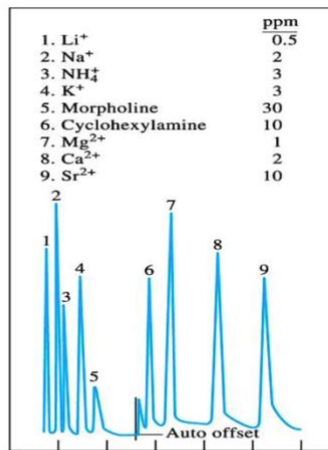
Определение водорастворимых витаминов в таблетках



Система высокоэффективной ионной хроматографии PE 200 Series (PerkinElmer, США)

Схема ионного хроматографа





Ионные хроматограммы катионов и анионов



Ионный хроматограф PIA 1000

Газовая хроматография (ГХ)

ГХ – метод хроматографического анализа, в котором подвижной фазой служит газ (пар)



Разделение компонентов в ГХ основано на различии скоростей движения и размывания концентрационных зон исследуемых веществ, движущихся в потоке газовой фазы относительно слоя неподвижной, причем эти в-ва распределены между обеими фазами

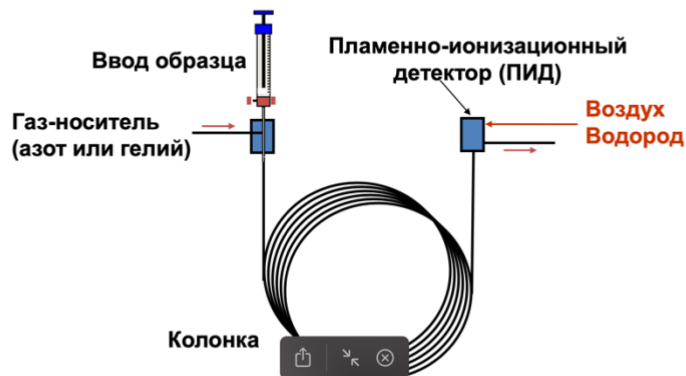
Газ-носитель (H₂, He, воздух, N₂, Ar, CO₂ и др.) должен иметь небольшую вязкость и обеспечивать высокую чувствительность детектирования

ГХ используют для анализа газообразных, жидких и твердых веществ с молекулярной массой меньше 400, которые должны удовлетворять определенным требованиям:

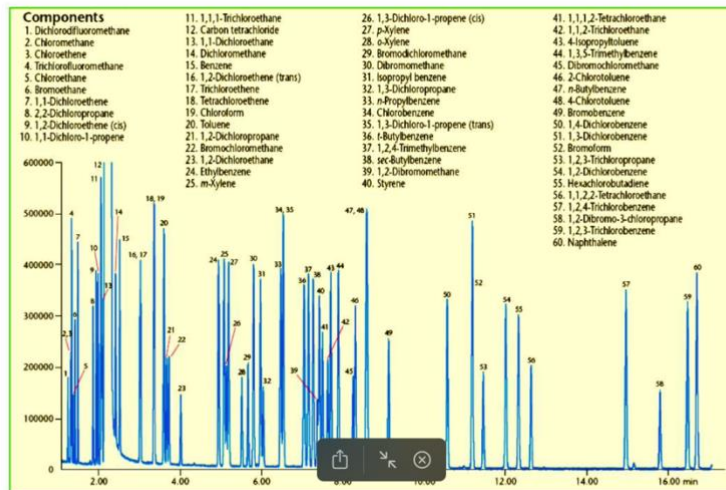
- ☐ летучесть, термостабильность, инертность, лёгкость получения

Этим требованиям в полной мере удовлетворяют, как правило, органические вещества, поэтому газовую хроматографию широко используют как серийный метод анализа органических соединений.

Принципиальная схема газового хроматографа



Газовая хроматограмма смеси веществ



Масс-спектрометрия

метод основан на ионизации атомов и молекул вещества и последующем разделении образующихся ионов в соответствии с их массовым числом m/z - отношением массы иона к его заряду - в электрическом или магнитном поле.

МС позволяет определить:

1. Молекулярную массу вещества.
2. Молекулярную формулу вещества.
3. Строение вещества.



70

Масс-спектрометрия

метод основан на ионизации атомов и молекул вещества и последующем разделении образующихся ионов в соответствии с их массовым числом m/z - отношением массы иона к его заряду - в электрическом или магнитном поле.



69

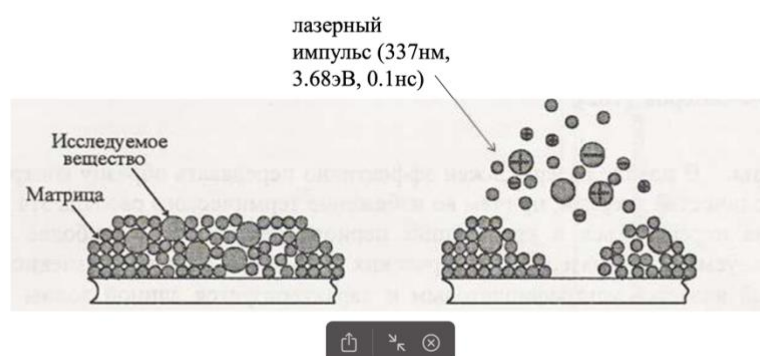
МС позволяет определить:

1. Молекулярную массу вещества.
2. Молекулярную формулу вещества.
3. Строение вещества.



70

Взаимодействие лазерного импульса с образцом МЛДИ



71

В масс-спектрометрии регистрируются только заряженные частицы: катион-радикалы ABC^+ и катионы A^+ , AB^+ , C^+ .

Незаряженные радикальные частицы BC^\cdot , C^\cdot , AB^\cdot не регистрируются.



72

Масс - анализатор

Масс –анализатор – устройство для разделения ионов в соответствии с отношением m/z

Основные типы масс-анализаторов:

1. магнитные
2. квадрупольные
3. времяпролетные

73

Магнитный масс - анализатор

Изменение траектории заряженной частицы под действием магнитного поля.

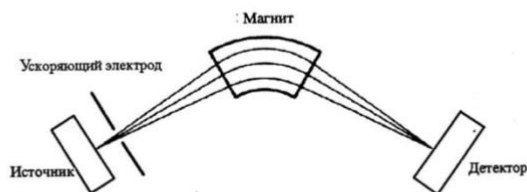
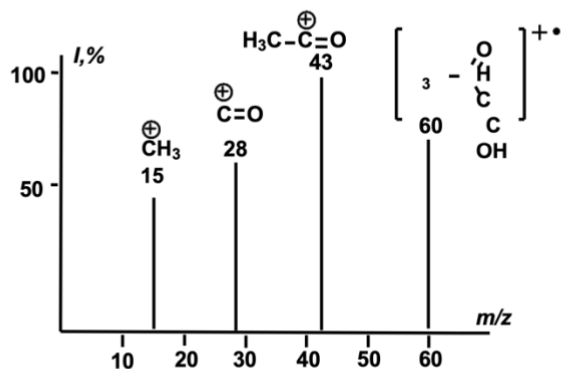


Схема масс-спектрометра с магнитным анализатором

траектория заряженных частиц в магнитном поле искривляется, при этом кривизны зависит от их массы и заряда

74

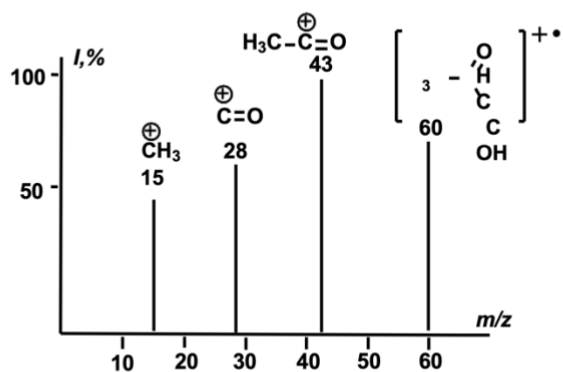
Масс-спектр уксусной кислоты



1. Молекулярная масса – 60.
2. Химическая формула – $C_2H_4O_2$.
3. Строение вещества – CH_3COOH .

75

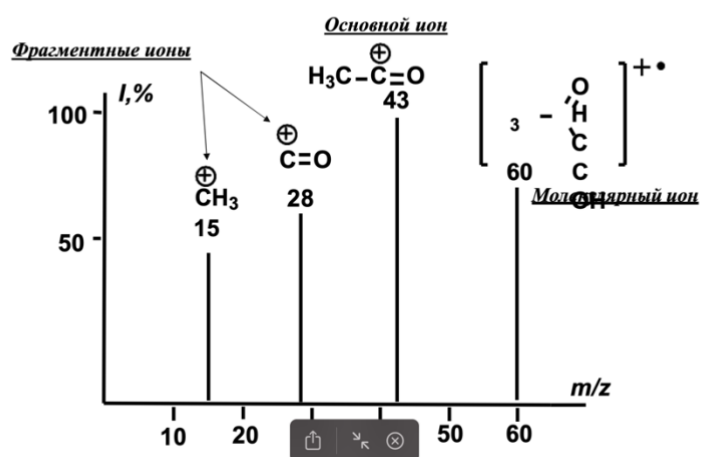
Масс-спектр уксусной кислоты



1. Молекулярная масса – 60.
2. Химическая формула – $C_2H_4O_2$.
3. Строение вещества – CH_3COOH .

75

Масс-спектр уксусной кислоты



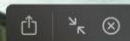
76

ЖИДКОСТНАЯ ХРОМАТО-МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЯ

- Сочетание ВЭЖХ и МС.
- Анализ смесей труднолетучих, полярных веществ, не поддающихся анализу методом газожидкостной хроматографии.



77



78

Детекторы ионов

- Сначала использовалась *фотопластинка*.
- В настоящее время применяют диодные вторично-электронные умножители, в которых ион, попадая на первый диод выбивает из него пучок электронов, которые в свою очередь, попадая на следующий диод, выбивают из него ещё большее количество электронов и т. д.
- микроканальные умножители, системы типа диодных матриц и коллекторы, собирающие все ионы, попавшие в точку пространства (коллекторы Фарадея)

79

Для МС характерны

- Использование небольших навесок (1 мг и меньше)
- Высокая чувствительность
 - все элементы периодической системы определяют с чувствительностью 10^{-12} г
 - при использовании лазерных источников ионизации достигается чувствительность 10^{-19} г
- Универсальность – возможность анализа широкого круга объектов от элементов до сложных белковых молекул
- Высокая специфичность и селективность
- Недостаток масс-спектрометрии: это деструктивный метод анализа, и использованный образец нельзя восстановить для дальнейшего анализа или синтеза

Области применения МС

- Ядерная энергетика
- Археология
- Нефтехимия
- Геохимия (изотопная геохронология)
- Агрохимия
- Химическая промышленность
- Анализ полупроводниковых материалов, особо чистых металлов, тонких пленок и порошков (например, оксидов U и РЗЭ)
- Фармацевтика - для контроля качества производимых лекарств и выявления фальсификатов
- Медицинская диагностика
- Биохимия – идентификация белков, исследование метаболизма лекарственных средств

81