



АВТОРСКАЯ ШКОЛА  
МЕДПЕРЕВОДА  
ОЛЬГИ ГИЛЯРЕВСКОЙ



ВЕБИНАР 4  
МЕТОДЫ АНАЛИЗА  
ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ  
ЧАСТЬ 2

АННА  
ТРИФОНОВА  
18 декабря 2020 г.

Оригинал	Переводчик	Редактор
<b>Heavy metals</b>	<b>Тяжелые металлы</b>	<b>Тяжелые металлы</b>
<p>Weigh accurately about 1.0 g of indomethacin, perform the test according to method 2. Prepare the reference solution with 1.0 ml of lead standard solution (not more than 10 ppm).</p>	<p>Взвешивают 1,0 г (точная навеска) индометацина и <b>проводят испытание в соответствии с требованиями ОФС «Тяжелые металлы»</b>, метод 2. Готовят <b>раствор сравнения</b> посредством разведения 1,0 мл <b>основного стандартного раствора</b> (не более 10 ppm).</p>	<p><u>Взвешивают около 1,0 г (точная навеска)</u> индометацина, проводят испытание в соответствии с <u>методом 2</u>. Готовят <u>эталонный раствор</u>, используя 1,0 мл <u>стандартного раствора свинца</u> (не более 10 ppm).</p>

Оригинал	Переводчик	Редактор
<b>Particle size</b>	<b>Размер частиц</b>	<b>Размер частиц</b>
<p>In a 150 ml beaker, containing 100 ml of solution 1, disperse 0.04 g of the product being examined.</p> <p>Stir magnetically for 5 minutes.</p> <p>Sonicate for 3 minutes and stir again.</p> <p>Take the sample while stirring and put it into the cuvette. Carry out the particle size determination.</p>	<p>0,04 г испытуемого продукта помещают в мерный стакан вместимостью 150 мл, в который предварительно добавили 100 мл раствора № 1.</p> <p><b>Раствор</b> перемешивают <b>магнитной мешалкой</b>. Затем обрабатывают ультразвуком в течение 3 минут и снова перемешивают.</p> <p><b>При перемешивании образца часть</b> переносят в <b>кювет</b>.</p> <p>Проводят процедуру определения размера частиц.</p>	<p>В мерном стакане вместимостью 150 мл, содержащем 100 мл раствора 1, <u>диспергируют</u> 0,04 г испытуемого продукта.</p> <p><u>Перемешивают с помощью магнитной мешалки</u>. Затем обрабатывают ультразвуком в течение 3 минут и снова перемешивают.</p> <p><u>Не прекращая перемешивание</u>, отбирают образец и <u>помещают его в кювету</u>. Проводят процедуру определения размера частиц.</p>

Оригинал	Переводчик	Редактор
<p><b>Related substances</b></p>	<p><b>Родственные примеси</b></p>	<p><b>Родственные примеси</b></p>
<p>Dissolve 0.10 g of indomethacin in 10 ml of methanol, and use this solution as the sample solution. Pipet 1 ml of the sample solution, add 10 ml of buffer I, and make up to 100 ml with methanol. Pipet 5 ml of the sample solution, and add methanol to make 50 ml and use this solution as the standard solution.</p>	<p><b>0.10</b> г индометацина <b>растворяют</b> в 10 мл метанола, и используют <b>раствор</b> как <b>анализируемый раствор</b>.  Отбирают 1 мл анализируемого раствора, добавляют 10 мл буфера 1, доводят объем <b>раствора</b> до 100 мл <b>е</b> метанолом. Отбирают 5 мл анализируемого раствора, доводят объем <b>раствора с метанолом до метки 50 мл</b> и используют раствор как стандартный раствор.</p>	<p><u>0,10</u> г индометацина растворяют в 10 мл <u>метанола</u>. <u>Полученный раствор</u> используют в качестве испытуемого раствора.  Отбирают 1 мл испытуемого раствора, переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл, добавляют 10 мл буферного раствора 1 и доводят до метки метанолом.  5 мл испытуемого раствора переносят в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят метанолом до метки. Полученный раствор используют в качестве стандартного раствора.</p>

Оригинал	Переводчик	Редактор
<b>Assay</b>	<b>Количественное определение</b>	<b>Количественное определение</b>
<p>Weigh accurately about 0.2 g of previously dried indomethacin, dissolve in 25 ml of ethanol, add 25 ml of water and titrate with 0.1 M sodium hydroxide (indicator: 3 drops of phenolphthalein). Each ml of 0.1 M sodium hydroxide = 25.429 mg of C<sub>16</sub>H<sub>14</sub>O<sub>3</sub>. Acceptance criteria: 99.0–101.0 %.</p>	<p><b>0,2 г (точная навеска)</b> индометацина (предварительно высушенного) растворяют в 25 мл <b>этилового спирта</b>, добавляют 25 мл воды и титруют <b>0,1 М гидроксидом натрия</b> (индикатор: 3 капли фенолфталеина). <b>Каждый</b> мл <b>0,1 М гидроксида натрия равен</b> 25,429 мг C<sub>16</sub>H<sub>14</sub>O<sub>3</sub>. Критерии приемлемости: 99,0–101,0 %.</p>	<p><u>Точную навеску предварительно высушенного индометацина массой около 0,2 г</u> растворяют в 25 мл этанола, добавляют 25 мл воды и титруют <u>0,1 М раствором натрия гидроксида</u> (индикатор: 3 капли фенолфталеина). <u>1 мл 0,1 М раствора натрия гидроксида соответствует</u> 25,429 мг C<sub>16</sub>H<sub>14</sub>O<sub>3</sub>. Критерии приемлемости: 99,0–101,0 %.</p>

# План

1

Инструментальн  
ые  
методы анализа

Общие принципы

2

Электрохимически  
е  
методы анализа

3

Спектральные  
методы анализа

Вебинар 4

# ФИЗИЧЕСКИЕ И ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА (ГФ XIV, т. 1)

---

- Спектрометрия в ближней инфракрасной области (ОФС. 1.2.1.1.0001.15)
- Спектрометрия в инфракрасной области (ОФС. 1.2.1.1.0002.15)
- Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях (ОФС. 1.2.1.1.0003.15)
- Атомно-эмиссионная спектрометрия (ОФС. 1.2.1.1.0004.15)
- Атомно-абсорбционная спектрометрия (ОФС. 1.2.1.1.0005.18)
- Флуориметрия (ОФС. 1.2.1.1.0006.15)
- Спектроскопия ядерного магнитного резонанса (ОФС. 1.2.1.1.0007.15)
- Масс-спектрометрия (ОФС. 1.2.1.1.0008.15)
- Рамановская спектрометрия (ОФС. 1.2.1.1.0009.15)
- Рефрактометрия (ОФС. 1.2.1. 0017.15)
- Поляриметрия (ОФС. 1.2.1. 0018.15)
- Амперометрическое титрование (ОФС. 1.2.1.19.0001.15)
- Потенциометрическое титрование (ОФС. 1.2.1.19.0002.15)
- **Хроматография (9 статей)**

- Около 50 методов и их разновидностей

# Основные инструментальные методы анализа в фармацевтическом контроле качества

- Хроматография  
*Chromatography*
- Абсорбционная спектрометрия  
*Absorption spectrophotometry*
- Потенциометрия  
*Potentiometry*
- Атомно-абсорбционная спектрометрия  
*Atomic absorption spectrometry*
- ЯМР-спектроскопия  
*NMR-spectroscopy*



- Подлинность, родственные примеси, количественное определение  
*Identification, Related substances, Assay*
- Подлинность, количественное определение  
*Identification, Assay*
- Количественное определение, определение pH  
*Assay, pH determination*
- Тяжелые металлы  
*Heavy metals*
- Подлинность, количественное определение  
*Identification, Assay*

- химические (*Chemical methods*)
- физико-химические (*Physicochemical methods*)
- физические (*Physical methods*)
- биологические (*Biological methods*)



### Физико-химические методы анализа

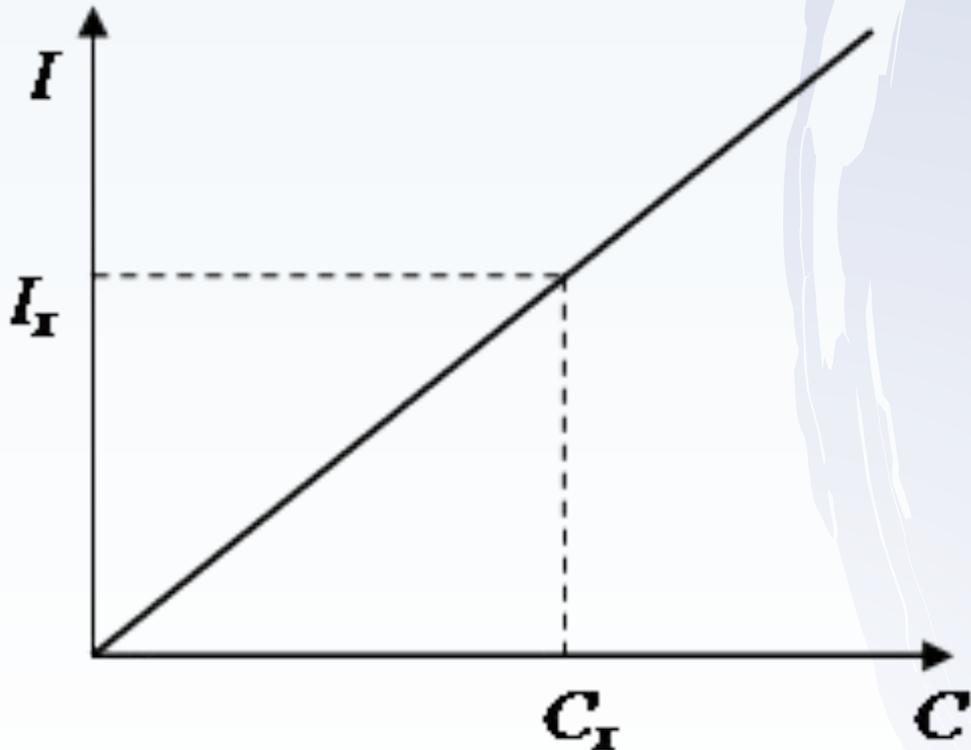
- электрохимические (*Electrochemical methods*)
- спектральные (*Spectral methods*)
- хроматографические (*Chromatography*)
- термические (*Thermal*)
- биохимические (*Biochemical*)

# Классификация методов анализа



# Способы нахождения концентрации исследуемого вещества

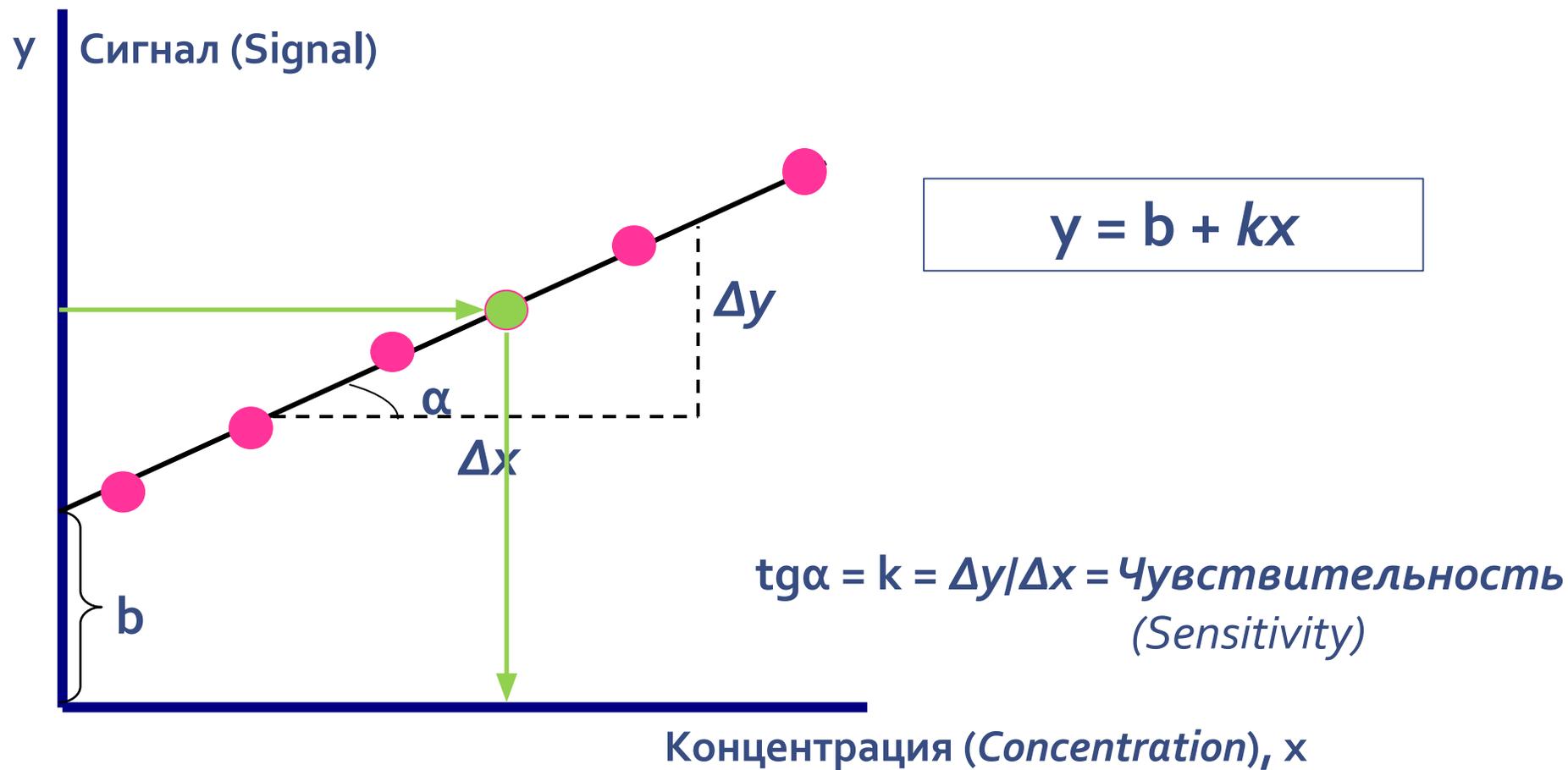
$$I = kc + b$$



0.21

$I$  = Аналитический сигнал

# Метод градуировочного графика *Calibration Curve Method*



Градуировочный график (калибровочная кривая)  
*Calibration curve*

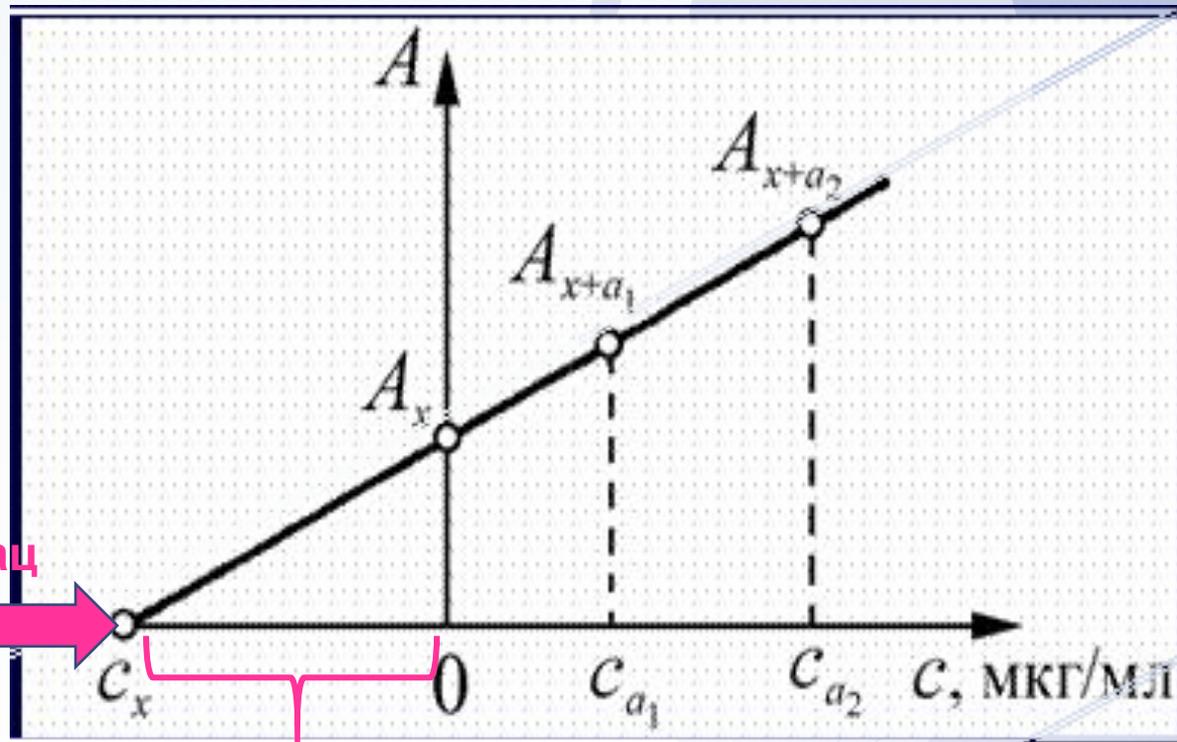
# Метод добавок

## *Standard Addition Method*

*(Spike testing)*

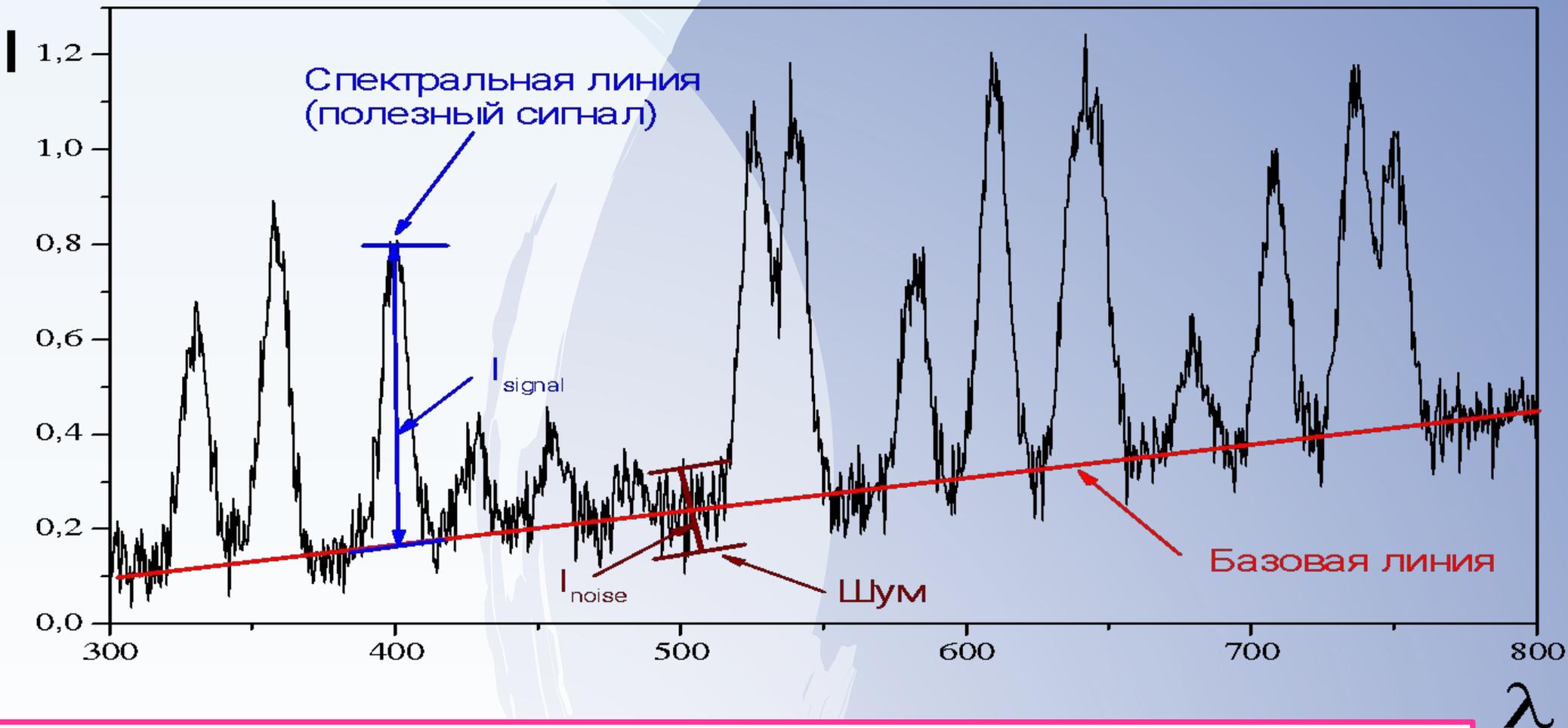
Single standard addition method  
Multiple standard addition method

*Spiked solution - раствор с добавкой*



Метод ограничивающих растворов  
(Метод двух стандартов)  
*Two standard bracket method (Bracketing)*  
Метод одного стандарта  
*Single external standard method*

# Характеристики спектральных линий



Аналитический сигнал = полезный (значимый) + мешающий + фоновый (шум)

Холостой раствор/образец (Blank)  
Соотношение сигнал/шум (Signal/Noise  
Ratio)

Базовая линия  
(Baseline)

# 1. Электрохимические методы анализа

## *Electrochemical methods of analysis*

Методы, основанные на измерении электрических параметров, связанных с составом раствора

### АНАЛИТИЧЕСКИЙ СИГНАЛ

- сила тока  $I$   
*Current intensity*



Амперометрия  
*Amperometry*

- электропроводность  $W$   
*Conductivity*



Кондуктометрия  
*Conductometry*

- электродвижущая сила  $E$   
*Electromotive force*



Потенциометрия  
*Potentiometry*

- электрический заряд  $Q$   
*Electric charge*



Кулонометрия  
*Coulometry*

### СХЕМА ПРИБОРА

Ячейка (гальванический элемент, электрохимическая и т.д.)



Устройство для измерения



Внешние металлические проводники



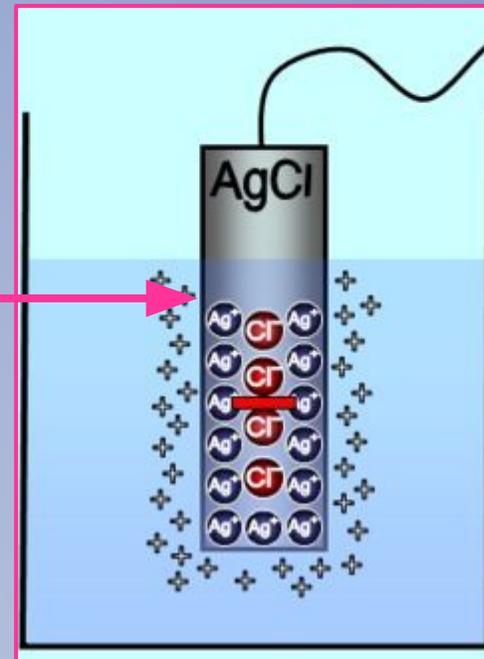
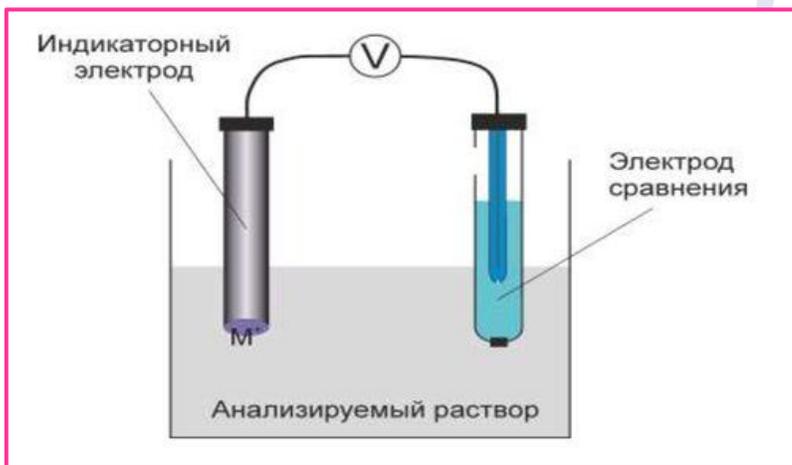
# Потенциометрия

Potentiometry

## АНАЛИТИЧЕСКИЙ СИГНАЛ

Разность потенциалов (ЭДС гальванического элемента)

$$E = E_0 + 2.303 \frac{RT}{z_i F} \log a_i$$



Электродный потенциал

**Индикаторный электрод (Indicator electrode)**  
реагирует на изменение концентрации аналита в растворе

**Электрод сравнения (Reference electrode)**  
потенциал в ходе анализа не меняется

Хлорсеребряный электрод  
(Silver-silver chloride electrode)  
Каломельный электрод  
(Calomel electrode)

# Потенциометрия/Ионометрия

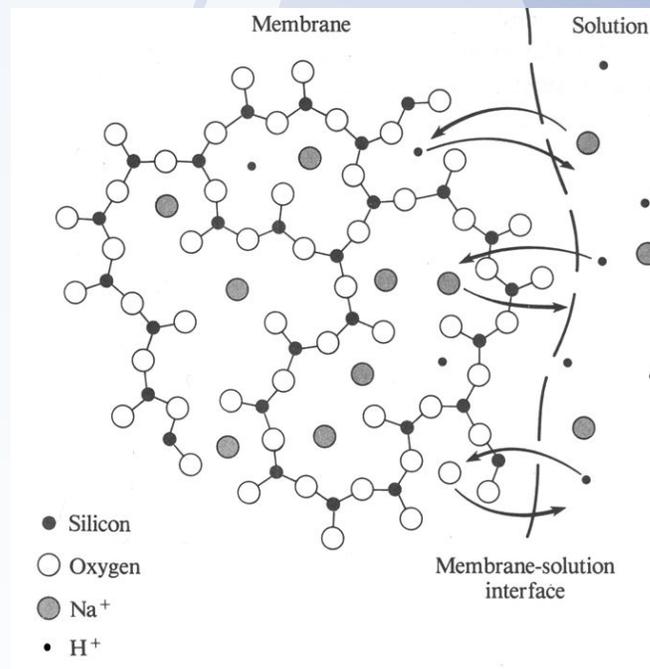
## *Potentiometry/Ionometry*

Ион-селективные электроды (*Ion-selective electrodes*) - датчики, позволяющие избирательно определять концентрацию одних ионов в присутствии других

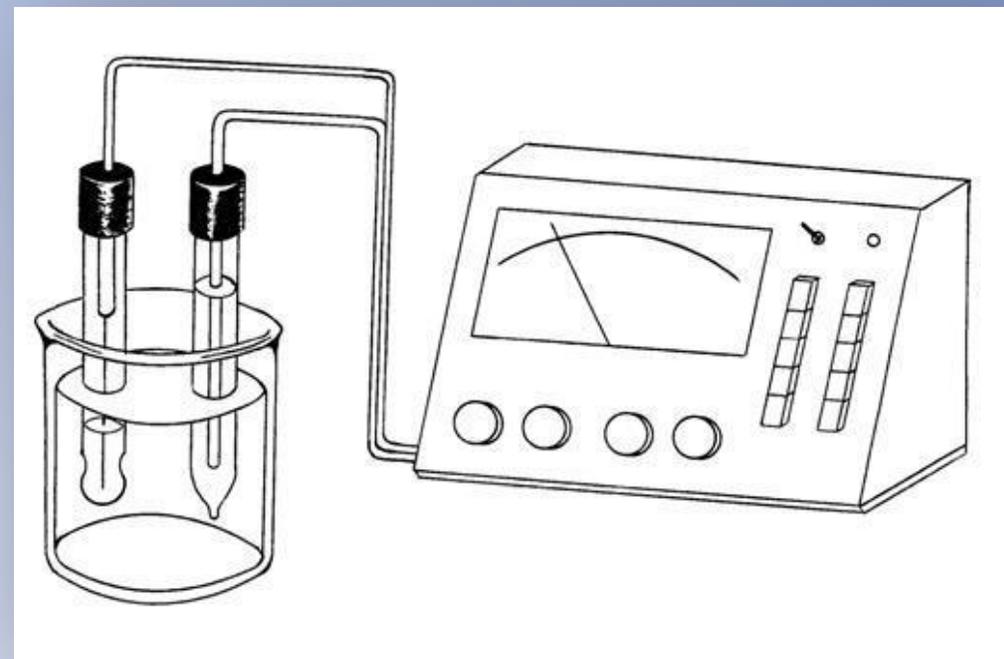
**ПРИМЕР:** стеклянный электрод для определения pH



Стеклянный электрод  
*Glass Electrode*



Мембрана стеклянного  
электрода  
*Glass Electrode Membrane*

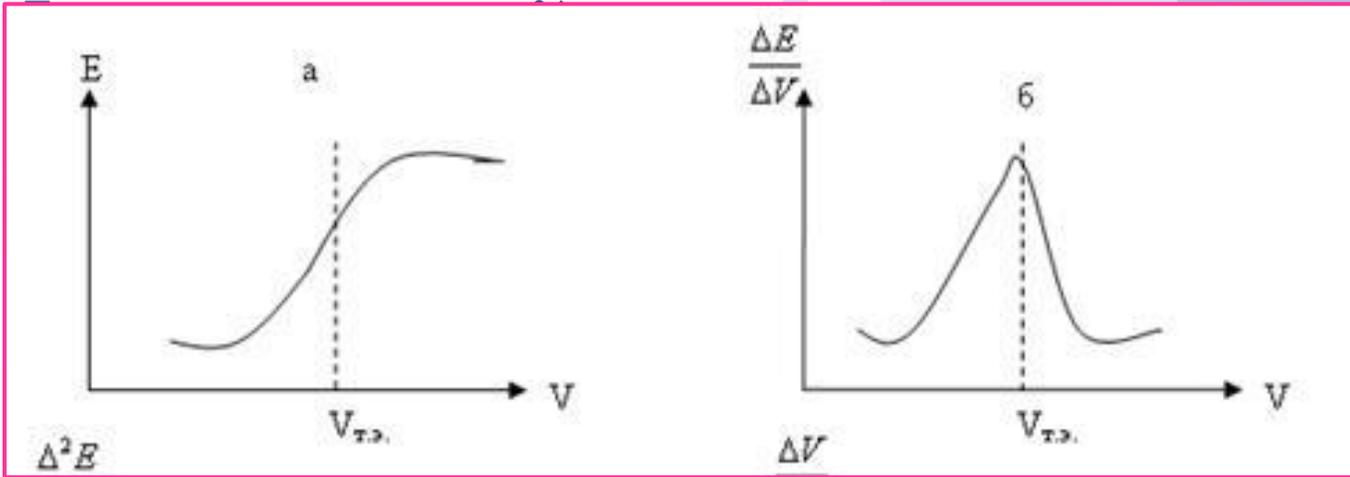


Потенциометр  
*Potentiometer*

# Потенциометрическое титрование

## *Potentiometric Titration*

Измеряют ЭДС в процессе титрования, затем строят кривую титрования. По ней определяют объём титранта в точке эквивалентности (т. э.) и рассчитывают результат



Кривые титрования (*Titration Curves*)





# Кондуктометрия

## Conductometry

Метод анализа, основанный на измерении электропроводности растворов

## ЭЛЕКТРОПРОВОДНОСТЬ

Мера способности среды проводить электрический ток

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

## АНАЛИТИЧЕСКИЕ СИГНАЛЫ

**W** – электропроводность раствора (*Conductivity*)

Единица измерения

(удельная электропроводность):

**См/м**, на практике: **мкСм/см**

**R** – сопротивление раствора (*Resistance*)

Единица измерения (удельное сопротивление) :

**Ом · см (Ом · м)**

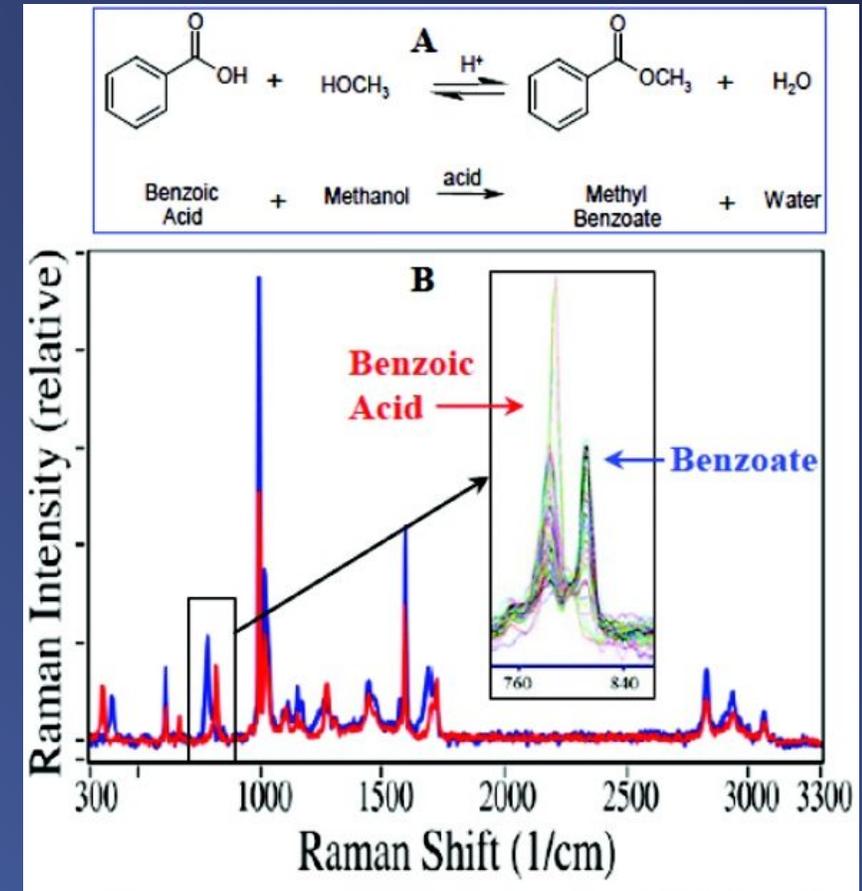
### Использование в фармацевтическом анализе

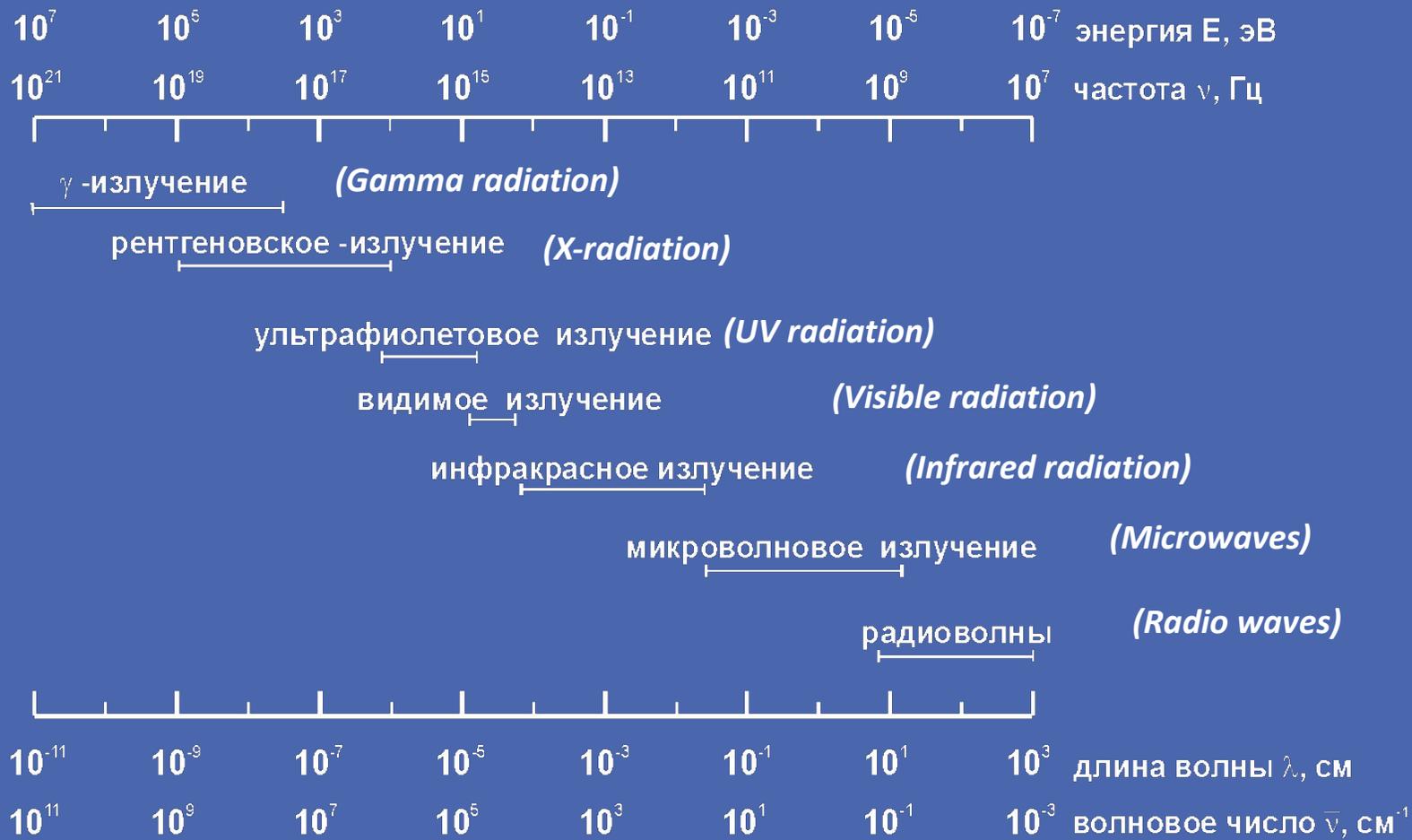
- Качество воды для фармацевтических целей
- Детектирование в хроматографии



# Спектральные методы анализа

- Основаны на избирательном взаимодействии электромагнитного излучения с анализируемым веществом
- Служат для исследования строения, идентификации и количественного определения



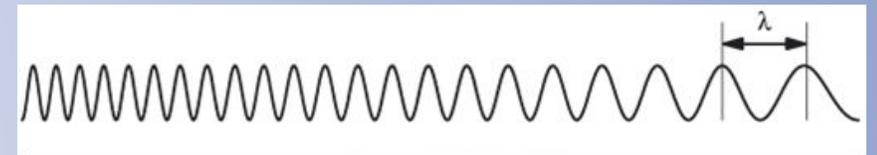


**Классификация:**

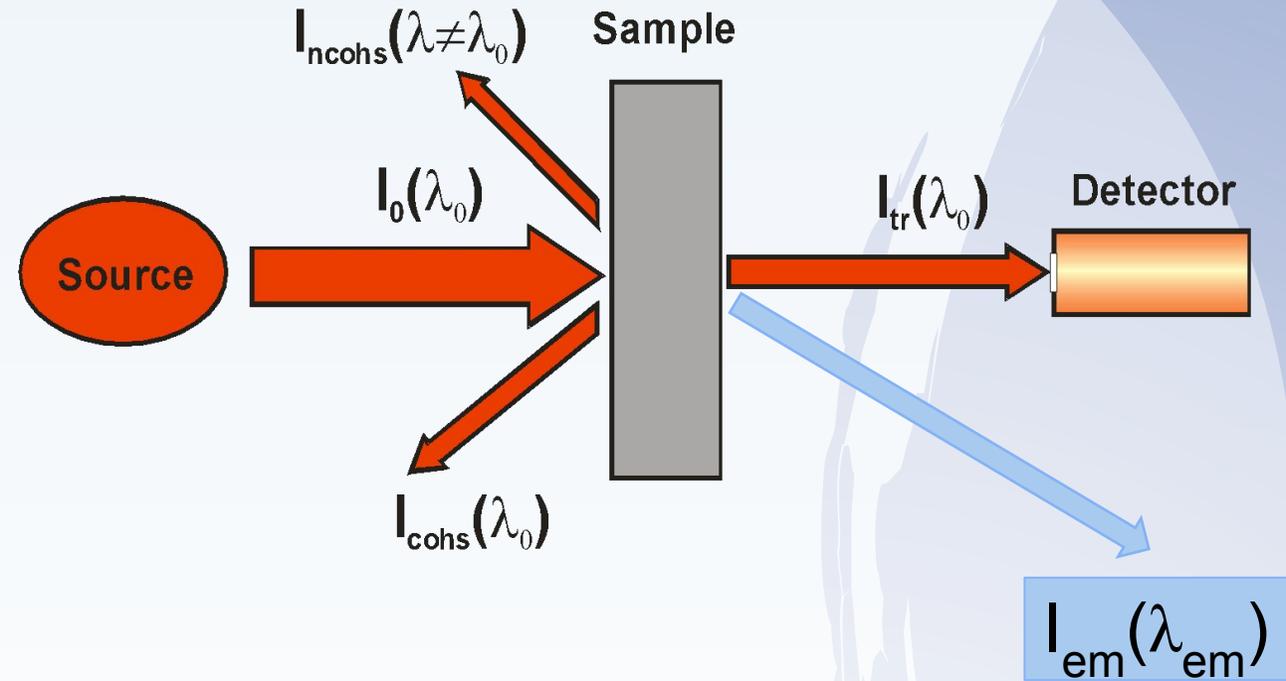
- по диапазону
- по типу взаимодействия
- типу частиц

- Рентгеновская спектрометрия
- Вакуумная УФ-спектрометрия
- УФ-спектрометрия
- Спектрометрия в видимой области
- Ближняя ИК-спектрометрия
- ИК-спектрометрия
- Микроволновая спектрометрия

**Области электромагнитного излучения, используемого в спектральных методах анализа**



# Взаимодействие электромагнитного излучения с веществом



## Важные термины

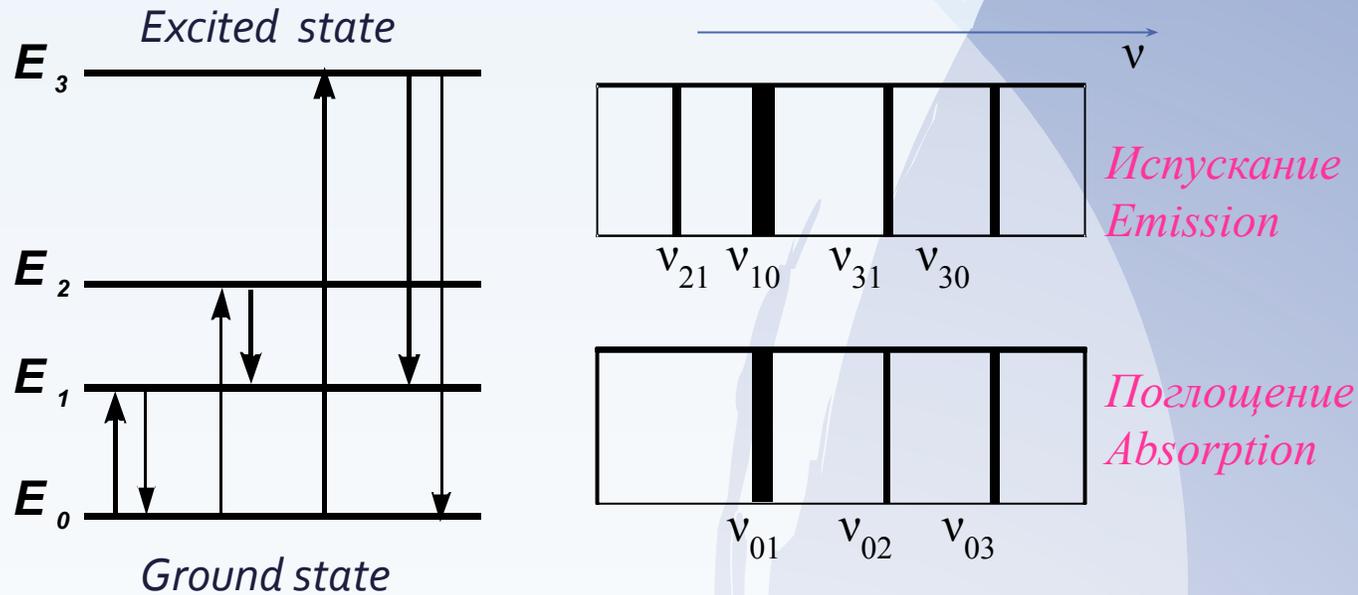
- Incident (radiation)* – падающее (излучение)
- Transmitted (radiation)* – прошедшее (излучение)
- Coherent (radiation)* – когерентное (излучение)
- Irradiate* – подвергать воздействию излучения

- $I_0$  – интенсивность падающего на образец излучения
- $I_{\text{tr}}$  – интенсивность прошедшего через образец излучения
- $I_{\text{cohs}}$  – интенсивность упругоотраженного (когерентного) излучения
- $I_{\text{ncohs}}$  – интенсивность неупругоотраженного (некогерентного) излучения
- $I_{\text{em}}$  – интенсивность испущенного образцом излучения

# Классификация по типу взаимодействия

Тип взаимодействия	Название метода	
Поглощение ( <i>Absorption</i> )	Абсорбционная спектрометрия, спектрофотометрия	<i>Absorption spectrometry, Spectrophotometry</i>
Испускание ( <i>Emission</i> )	Эмиссионная спектроскопия / флуориметрия	<i>Emission Spectroscopy, Fluorimetry</i>
Рассеяние света ( <i>Light scattering</i> )	Турбидиметрия, нефелометрия	<i>Turbidimetry, nephelometry</i>
Преломление света на границе раздела двух прозрачных однородных сред ( <i>Light refraction</i> )	Рефрактометрия	<i>Refractometry</i>
Отражение от поверхности твёрдого образца ( <i>Light reflection</i> )	Спектроскопия диффузного отражения	<i>Diffuse reflectance spectroscopy</i>
Дифракция ( <i>Diffraction</i> )	Дифракционные методы	<i>Diffraction methods</i>
Интерференция ( <i>Interference</i> )	Интерферометрия	<i>Interferometry</i>
Поляризация ( <i>Polarization</i> )	Поляриметрия	<i>Polarimetry</i>

# Энергетические уровни и спектральные линии

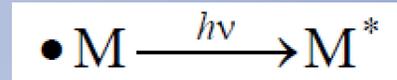
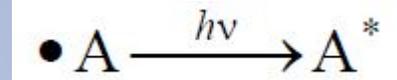


$\Delta E =$  энергия перехода (Transition energy)

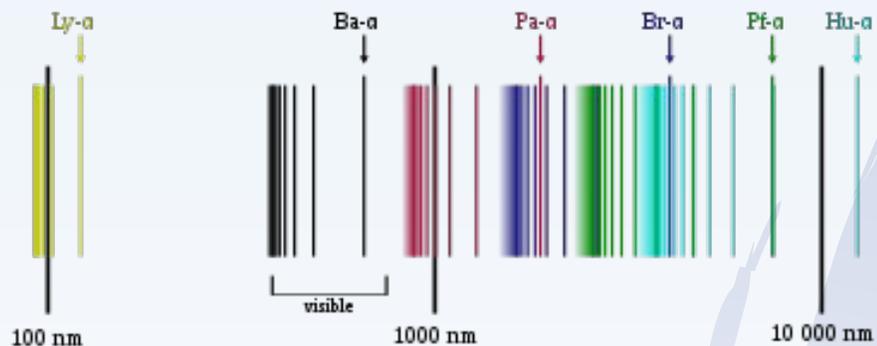
При прохождении света через слой вещества часть его поглощается, атомы или молекулы переходят в возбуждённое состояние (*Excited state*)

атомная абсорбция  
*Atomic absorption*

молекулярная абсорбция  
*Molecular absorption*

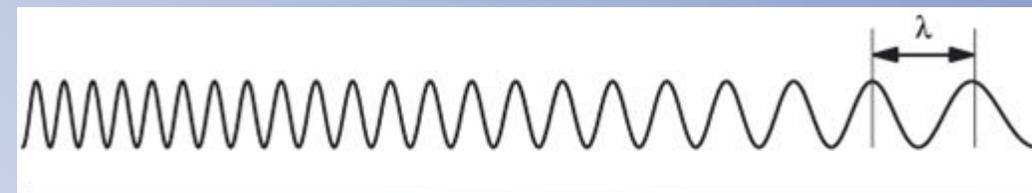
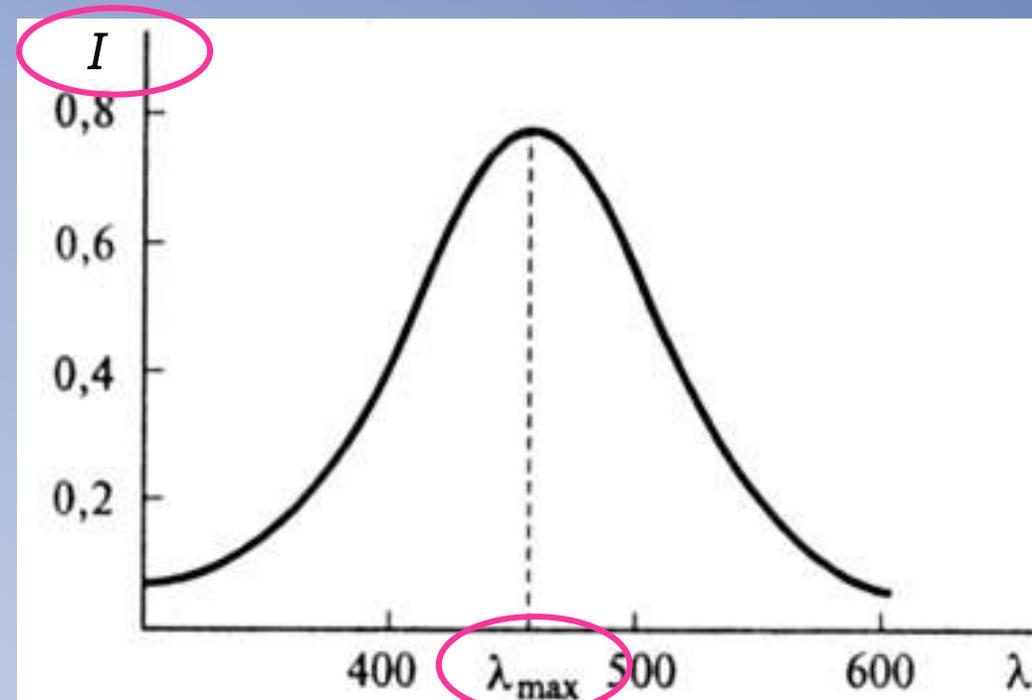


# Характеристики спектральных линий



Совокупность всех фотонов – спектральная линия  
*Spectral line*

Совокупность спектральных – спектр  
*Spectrum*



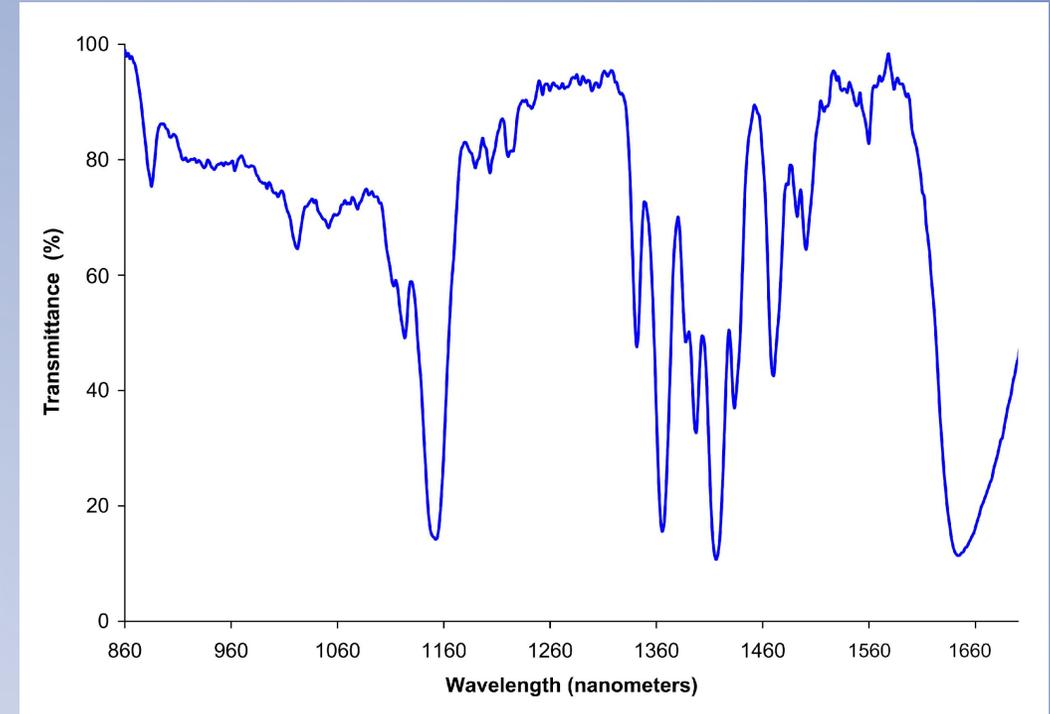
$\lambda$	Длина волны	Wavelength
$\nu$	Частота	Frequency
$\tilde{\nu}$	Волновое число	Wavenumber
$I$	Интенсивность линии	Line intensity

← Качественный анализ

← Количественный анализ

# Виды спектров

Принцип классификации	Виды спектров
1. Взаимодействие с веществом	1.1 Спектры испускания: - эмиссионные <i>Emission spectra</i> - спектры люминесценции <i>Luminescence spectra</i>  1.2 Спектры поглощения <i>Absorption spectra</i>
2. Природа частиц	2.1 Атомные <i>Atomic spectra</i>  2.2 Молекулярные <i>Molecular spectra</i>



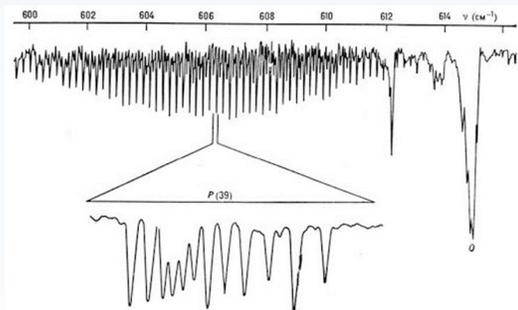
- ← вращение молекулы как целого
- ← колебания атомов в молекуле
- ← электронные переходы

В фармацевтическом анализе чаще всего используют **молекулярные абсорбционные** спектры

# Молекулярные спектры

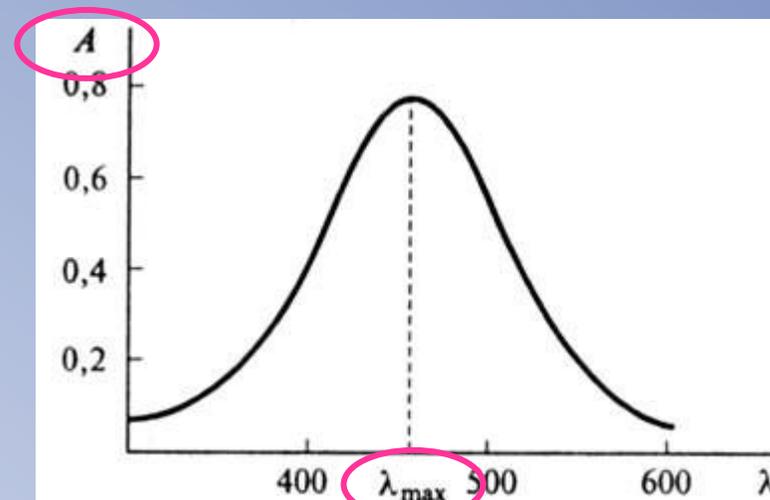
- Вращательные → - дальняя ИК-область  
- микроволны

- Колебательные → - дальняя и средняя ИК  
(качественный анализ)



- Электронные → - УФ  
- видимая  
- ближняя ИК  
(количественный анализ)

$$E_{эл} \gg E_{кол} \gg E_{вр}$$

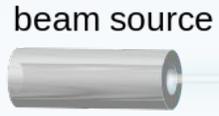
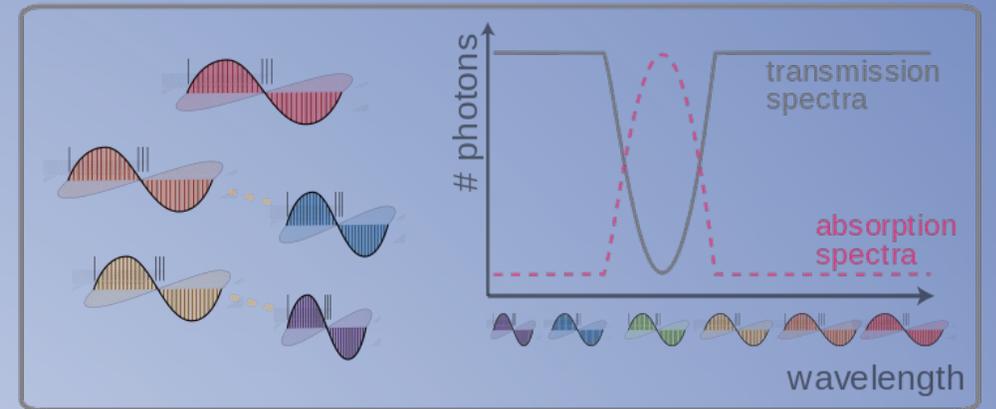
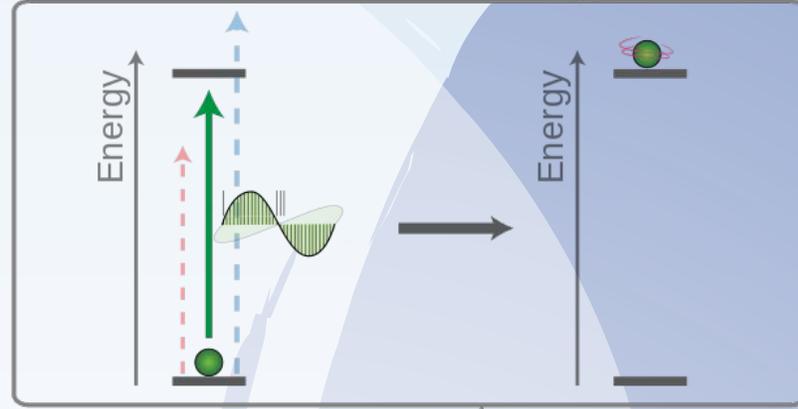
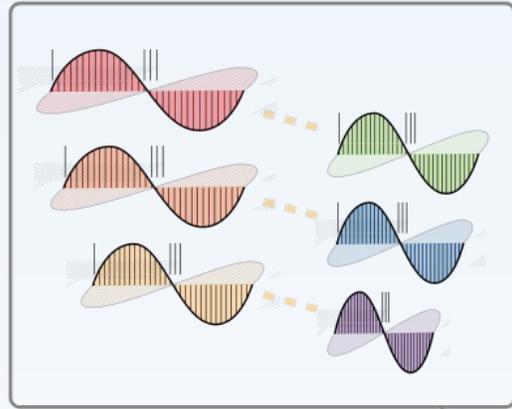


Мера интенсивности поглощения

- Оптическая плотность (A)  
Absorbance

# Спектры поглощения

## Absorption spectra

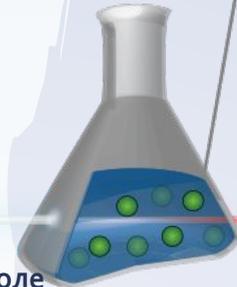


Источник излучения

e

Падающее излучение  
incident radiation

Вещество в поле  
электромагнитного излучения



sample/analyte

**Absorption**  
Поглощени

e

Если  
 $E_i > \Delta E$

Прошедшее (через образец) излучение  
transmitted radiation

**Transmission**  
Пропускани

e



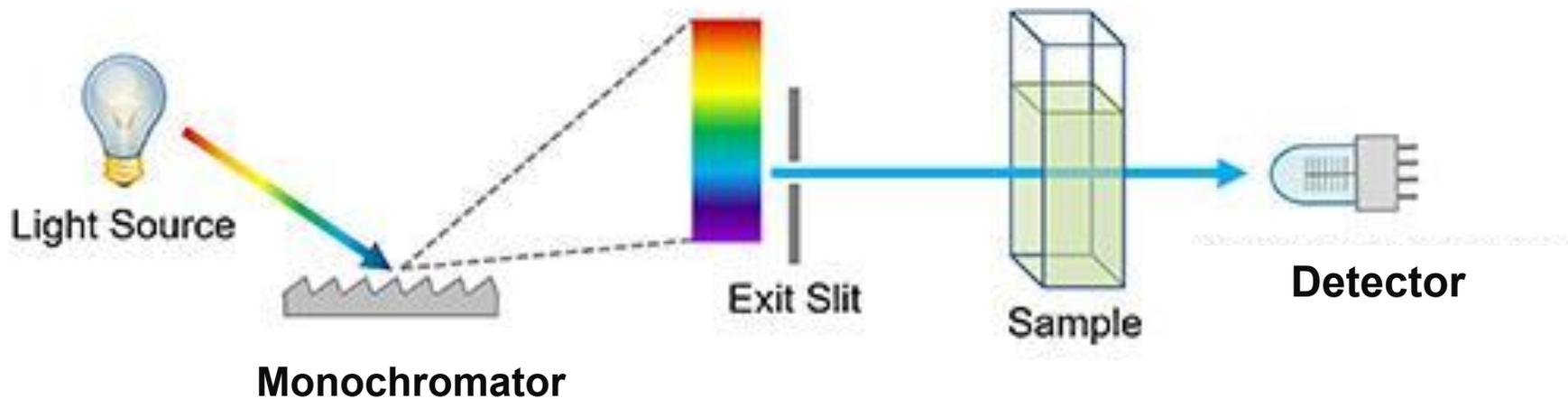
**Detection**  
Детектированы

e

**Спектр поглощения вещества** – графическое изображение распределения поглощаемой им энергии по длинам волн

# ОБЩАЯ СХЕМА ПРИБОРОВ В АБСОРБЦИОННОЙ СПЕКТРОМЕТРИИ

- Light source* - источник излучения  
*Monochromator* - монохроматор (призмы, дифракционные решетки, светофильтры)  
*Exit slit* - выходная щель  
*Sample introduction device/Cuvette* - устройство ввода пробы/кювета  
*Detector* - детектор (регистрирующее устройство)



# Молекулярная абсорбционная спектрометрия (УФ- и видимая области)

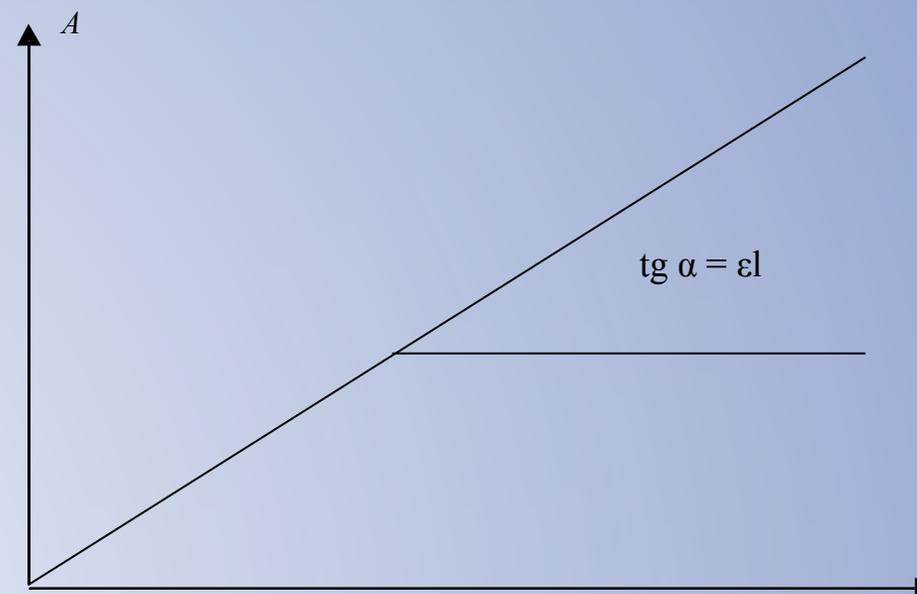
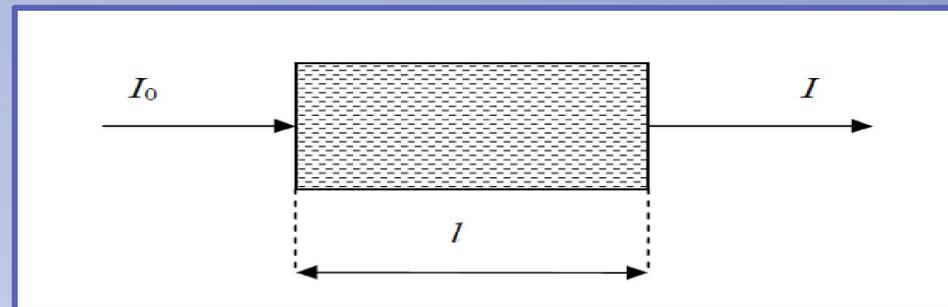
## *Molecular Absorption Spectrometry (UV, vis)*

Закон Бугера-Ламберта-Бера  
*Lambeert-Beer law*

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

$$\log_{10}(1/T) = A$$

$A$  – оптическая плотность (*Absorbance*)  
 $I_0$  – интенсивность падающего светового потока  
 $I$  – интенсивность светового потока, прошедшего через слой раствора  
 $\varepsilon$  – молярный коэффициент экстинкции  
 $l$  – толщина поглощающего слоя, см  
 $C$  – концентрация вещества в растворе, моль/л



# Спектрометрия в инфракрасной области

Наиболее распространенный метод идентификации веществ в фармацевтическом анализе

*Диапазоны:*

Обозначение	Аббревиатура	Длина волны
Ближний инфракрасный диапазон	Near-infrared (NIR)	0,78—2,5 мкм
Средний инфракрасный диапазон	Mid-infrared (MIR)	2,5—25 мкм
Дальний инфракрасный диапазон	Far-infrared (FIR)	25—400 мкм

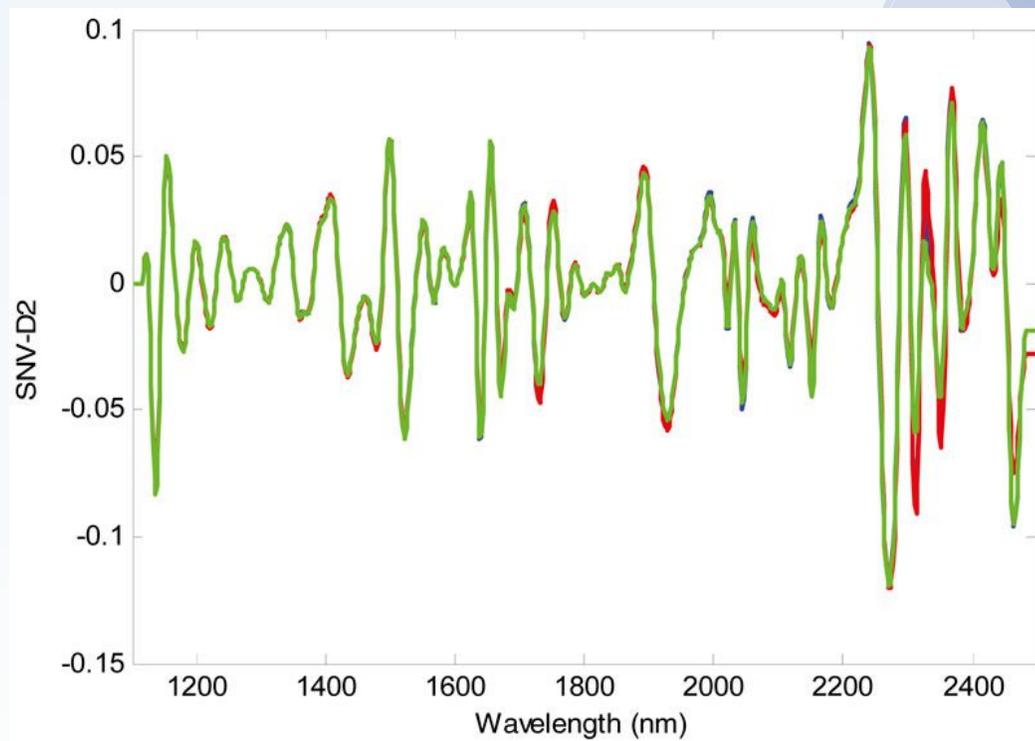


## ПЛЮСЫ

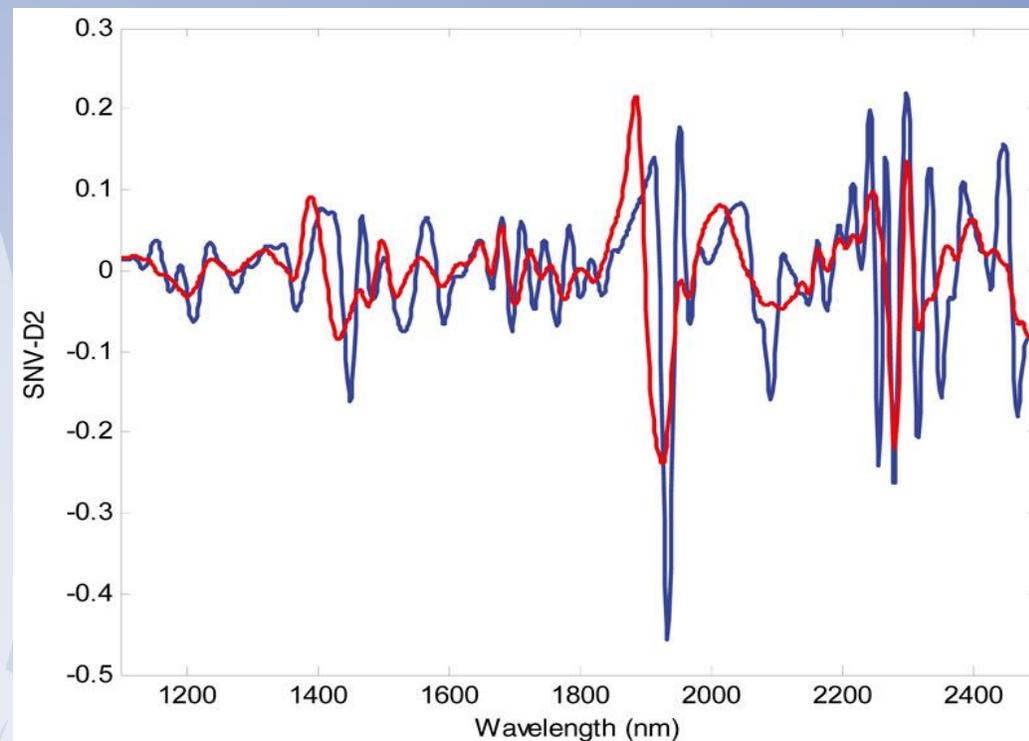
- Неразрушающий метод
- Точный качественный анализ (finger prints)

# Спектрометрия в инфракрасной области

Наиболее распространенный метод идентификации веществ в фармацевтическом анализе



1  
 $r \geq 0,95$



2  
 $r < 0,95$

# Спектрометрия в ближней инфракрасной области (БИК) *Near-Infrared Spectrometry (NIR)*

## ПРИМЕНЕНИЕ

### ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА

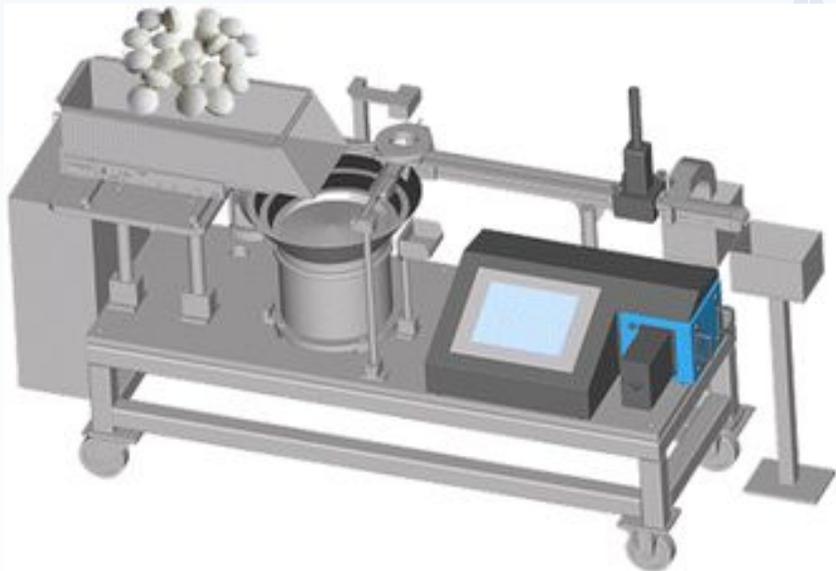
- Подлинность (ФС, вспомогательных веществ, лекарственных форм)
- Содержание органических растворителей (*Residual solvents*)
- Гидроксильное число (*Hydroxyl value*)
- Йодное число (*Iodine value*)

### ФИЗИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА

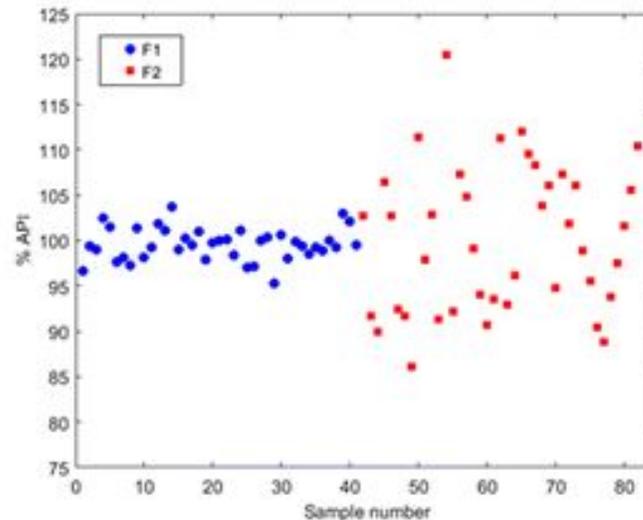
- Полиморфизм (*Polymorphism*)
- Дисперсность (*Particle size*)
- Твердость (*Hardness*)

### ВНУТРИПРОИЗВОДСТВЕННЫЙ КОНТРОЛЬ

- Свойства пленок
- Мониторинг смешивания/грануляции



*In-line analysis*



**0,78-2,5 мкм**

# Рамановская спектрометрия

## *Raman Spectrometry*

### ПРИМЕНЕНИЕ

- Подлинность
- Количественное определение
- Полиморфизм



### ПЛЮСЫ

- Неразрушающий, бесконтактный метод
- Анализ твердых, жидких и газообразных веществ
- Возможность анализа в упаковке (стекло, пластик)

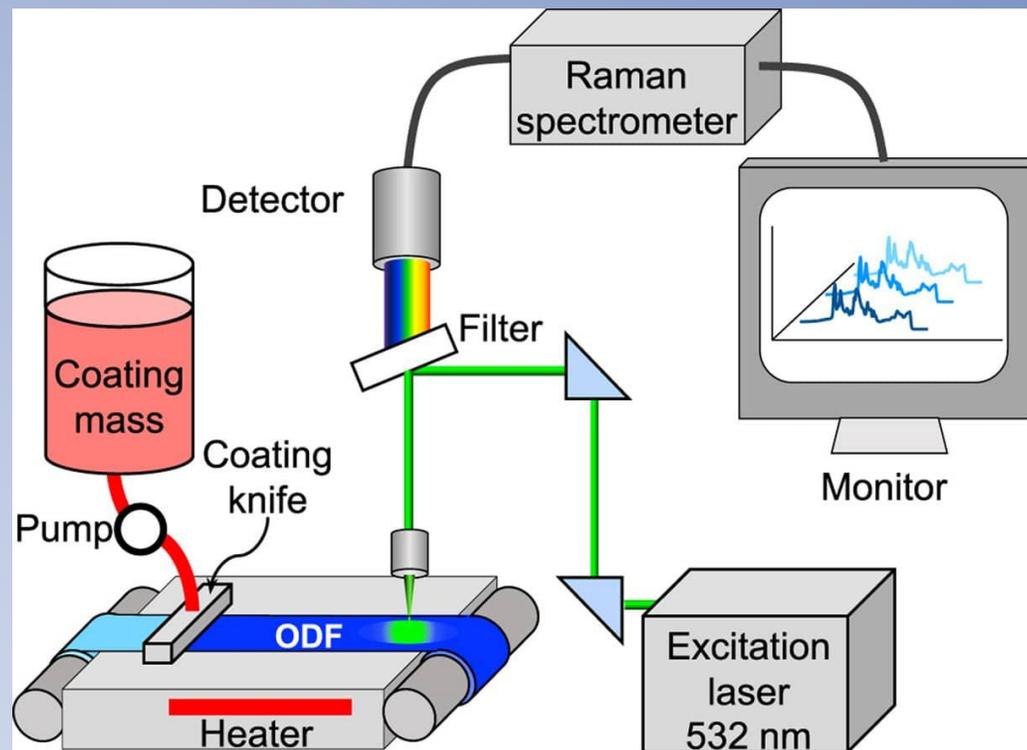
### Важные термины

*Raman spectrum* – спектр комбинационного рассеяния

*Inelastic light scattering* – неупругое рассеяние света

*Dispersing spectrometer* – дисперсионный спектрометр

*Charge-coupled device* – прибор с зарядовой связью (ПЗС)



Позволяет получать индивидуальный спектр молекул вещества, идентифицируя молекулярные фрагменты

**В основе:** поляризация молекул и рассеяние света под действием излучения

# Атомно-абсорбционная спектрометрия

## *Atomic Absorption Spectrometry*

### Применение

Количественное определение тяжелых металлов



### Принцип

поглощение электромагнитного излучения специфической длины волны атомным паром элемента



Переход атома из основного состояния в возбужденное с поглощением энергии с резонансной частотой



Электромагнитное излучение ослабляется пропорционально количеству атомов



Измерение

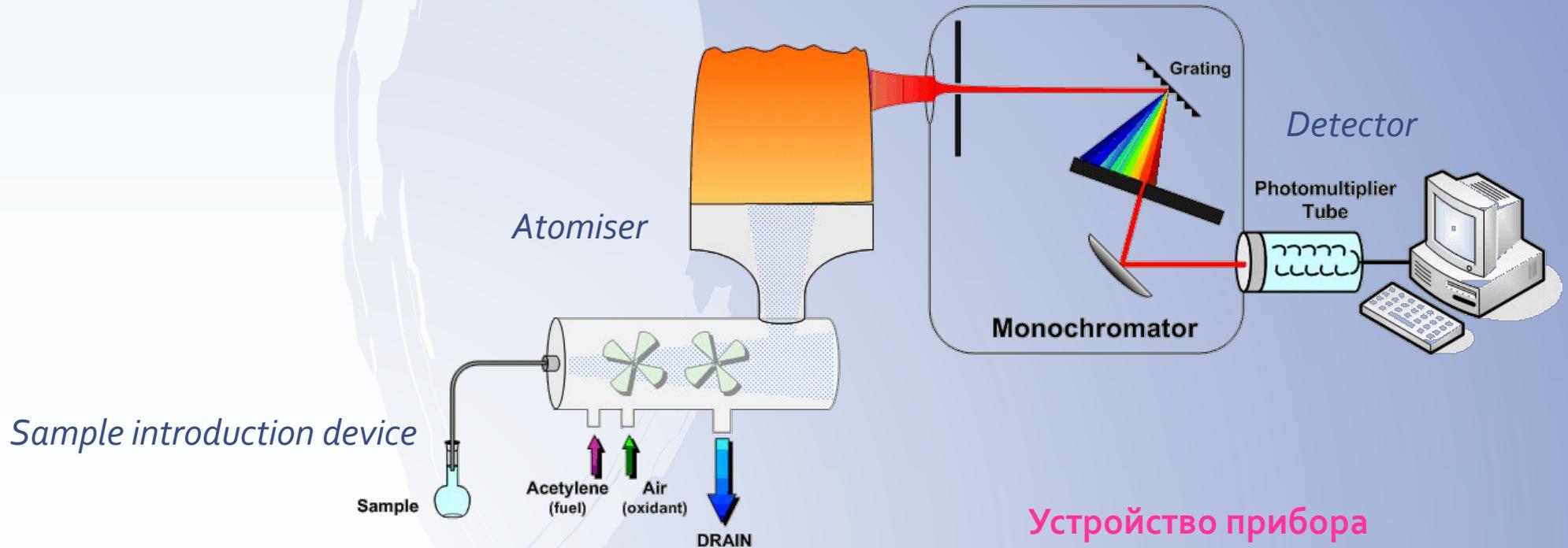
$$I = I_0 \cdot 10^{\varepsilon Cl}$$

# Атомно-абсорбционная спектрометрия

## *Atomic Absorption Spectrometry*

### Важные термины

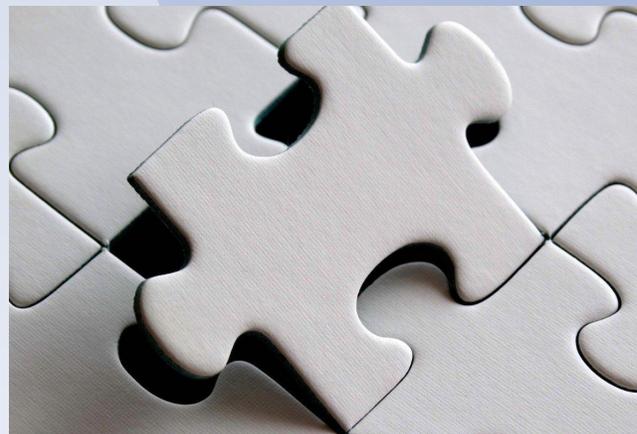
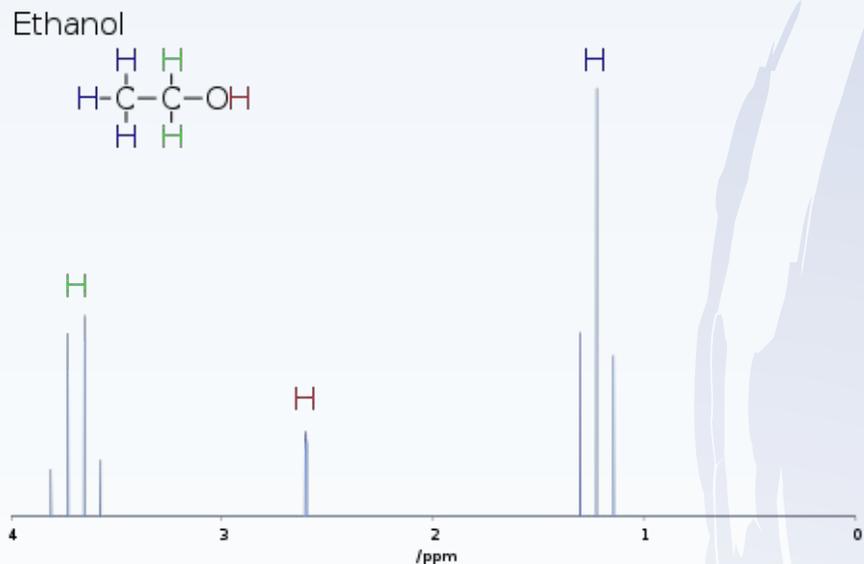
- Hollow cathode lamp* - лампа с полым катодом (полая катодная лампа)  
*Monochromator* - монохроматор  
*Photomultiplier tube* - фотоэлектронный умножитель  
*Grating* - дифракционная решетка  
*Graphite furnace* - графитовая печь  
*Atomiser* - атомизатор



Устройство прибора

# Спектроскопия ядерного магнитного резонанса (ЯМР) *Nuclear Magnetic Resonance Spectrometry*

Спектрометрия ядерного магнитного резонанса (ЯМР) основана на существовании постоянного магнитного момента ядер  $^1\text{H}$ ,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{19}\text{F}$ ,  $^{31}\text{P}$



**Спектр** протонного магнитного резонанса – набор сигналов, отвечающих протонам и характеризующих их ядерное и электронное окружение в молекуле

**Сдвиг частоты** данного сигнала относительно сигнала стандартного вещества - **химический сдвиг ( $\delta$ )**

Он характеризует протон в зависимости от его электронного окружения

# Спектроскопия ядерного магнитного резонанса (ЯМР)

## Важные термины

$^1\text{H}$ -NMR spectrum

$^1\text{H}$  ЯМР-спектр

Chemical shift

Химический сдвиг

Delta ( $\delta$ )

дельта

To be attributed to

Быть обусловленным (о пике или другом сигнале, например, «пик обусловлен наличием определенной функциональной группы» и т.п.)

Methyl

Ethyl

Propyl

название функциональных групп (метильная группа)

Doublet

Triplet

Quartet

Multiplet

дублет

триплет

квартет

мультиплет

группы родственных пиков, на которые расщепляется сигнал ЯМР

# Поиск информации

## Терминология:

- Фармакопеи

## Для самообразования:

Курсы Khan Academy Organic Chemistry

- IR, UV, Vis (плейлист)

[https://www.youtube.com/playlist?list=PLopJUwkloYCbhsS5koE7QR\\_oullkblLh](https://www.youtube.com/playlist?list=PLopJUwkloYCbhsS5koE7QR_oullkblLh)

- Electrochemistry (плейлист)

[https://www.youtube.com/playlist?list=PLopJUwkloYCaDkuO3tuN4\\_NvOZ7ZoP5gl](https://www.youtube.com/playlist?list=PLopJUwkloYCaDkuO3tuN4_NvOZ7ZoP5gl)

Контакты преподавателя:

Анна Трифонова

+ 375 44 729 46 84

[a.trifonova@pharmconsult.org](mailto:a.trifonova@pharmconsult.org)

[www.pharmconsult.org](http://www.pharmconsult.org)



СПАСИБО ЗА  
ВНИМАНИЕ!