

# **ЛЕКЦИЯ № 10**

*«Особенности использования физико-химических методов для оценки качества лекарственных форм»*

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 рН, потенциометрическое титрование, амперометрическое титрование, вольтамперометрия).

Кроме того, возможно применение методов, альтернативных фармакопейным, которые иногда имеют более совершенные аналитические характеристики (скорость, точность анализа, автоматизация). В некоторых случаях фармацевтическое предприятие приобретает прибор, в основе использования которого лежит метод, еще не включенный в Фармакопею (например, метод рамановской спектроскопии — оптический дихроизм). Иногда целесообразно при определении подлинности или испытании на чистоту заменить хроматографическую методику на спектрофотометрическую. Фармакопейный метод определения примесей тяжелых металлов осаждением их в виде сульфидов или тиоацетамидов обладает рядом недостатков. Для определения примесей тяжелых металлов многие производители внедряют такие физико-химические методы анализа, как атомно-абсорбционная спектрометрия и атомно-эмиссионная спектрометрия с индуктивно связанной плазмой.

Важной физической константой, характеризующей подлинность и степень чистоты ЛС, является температура плавления. Чистое вещество имеет четкую температуру плавления, которая изменяется в присутствии примесей. Для веществ, которые плавятся с разложением, обычно указывается температура, при которой вещество разлагается и происходит резкое изменение его вида.

В некоторых частных статьях ГФ Х рекомендуется определять температуру затвердевания или температуру кипения (по ГФ XI – «температурные пределы перегонки») для ряда жидких ЛС. Температура кипения должна укладываться в интервал, приведенный в частной статье. Более широкий интервал свидетельствует о присутствии примесей.

Во многих частных статьях ГФ Х приведены допустимые значения плотности, реже вязкости, подтверждающие подлинность и доброкачественность ЛС.

Практически все частные статьи ГФ Х нормируют такой показатель качества ЛС, как растворимость в различных растворителях. Присутствие примесей в ЛВ может повлиять на его растворимость, снижая или повышая ее в зависимости от природы примеси.

Критериями чистоты являются также цвет ЛВ и/или прозрачность жидких лекарственных форм.

Определенным критерием чистоты ЛВ могут служить такие физические константы, как показатель преломления луча света в растворе испытуемого вещества (рефрактометрия) и удельное вращение, обусловленное способностью ряда веществ или их растворов вращать плоскость поляризации при прохождении через них плоскополяризованного света (поляриметрия). Методы определения этих констант относятся к оптическим методам анализа и применяются также для установления подлинности и количественного анализа ЛС и их лекарственных форм.

Важным критерием доброкачественности целого ряда ЛС является содержание в них воды. Изменение этого показателя (особенно при хранении) может изменить концентрацию действующего вещества, а, следовательно, и фармакологическую активность и сделать ЛС не пригодным к применению.

Химические методы. К ним относятся: качественные реакции на подлинность, растворимость, определение летучих веществ и воды, определение содержания азота в органических соединениях, титриметрические методы (кислотно-основное титрование, титрование в неводных растворителях, комплексометрия), нитритометрия, кислотное число, число омыления, эфирное число, йодное число и др.

Биологические методы. Биологические методы контроля качества ЛС весьма разнообразны. Среди них испытания на токсичность, стерильность, микробиологическую чистоту.

Для проведения физико-химического анализа полупродуктов, субстанций лекарственных средств и готовых лекарственных форм при проверке их качества на соответствие требованиям ФС контрольно-аналитическая лаборатория должна быть оснащена следующим минимальным набором оборудования и приборов:

- 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 рН, количественное определение);
- атомно-абсорбционный спектрофотометр (элементный анализ тяжелых металлов и неметаллов);
- титратор К. Фишера (определение содержания воды);
- дериватограф (определение потери массы при высушивании).

Каждое новое издание ГФ является своеобразным отражением перспектив использования физико-химических методов в фармацевтическом анализе. Так ГФ XI по сравнению с ГФ X пополнилась общими статьями и разделами по таким методам, как ГЖХ, ВЭЖХ, ЯМР-спектроскопия, электрофорез, эмиссионная и атомно-абсорбционная пламенная спектрометрия. Остальные статьи, содержащие описание физико-химических методов, существенно переработаны и дополнены с учетом современных достижений в области теории и практики фармацевтического анализа.

Физико-химические методы анализа имеют ряд преимуществ перед классическими химическими методами. Они основаны на использовании как физических, так и химических свойств веществ и в большинстве случаев отличаются экспрессностью, избирательностью, высокой чувствительностью, возможностью унификации и автоматизации.

# **Особенности экспресс-анализа лекарственных форм**

Необходимость внутриаптечного контроля обусловлена высокими требованиями к качеству лекарственных форм, изготавливаемых в аптеках. Поскольку изготовление лекарств в аптеках ограничивается сжатыми сроками, оценку их качества осуществляют экспресс-методами. Основные требования, предъявляемые к экспресс-анализу: расход минимальных количеств лекарственных форм, простота и быстрота выполнения, достаточная точность и возможность проведения анализа без изъятия приготовленного лекарства.

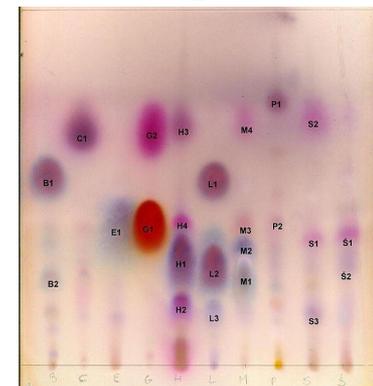
В настоящее время в аптеках широко используют различные методы как качественного, так и количественного экспресс-анализа. Для этого применяют различные химические и физико-химические методики.

# ***Качественный экспресс-анализ***

Качественный экспресс-анализ лекарственных форм отличается от макроанализа только тем, что на его выполнение расходуется меньшее количество вещества и реактива. Анализ растворов и порошков осуществляют без предварительного выделения лекарственных веществ, когда наполнители не мешают выполнению качественных реакций. Для выделения лекарственного вещества из таблеток, драже, мазей, суппозиторий достаточно перемешивания или растирания с растворителем.

Для выполнения качественного экспресс-анализа используют *цветные или осадочные химические реакции* на соответствующие катионы, анионы неорганических или функциональные группы органических веществ. Анализ осуществляют капельным методом, при котором расходуется от 0,001 до 0,01 г порошка или 1-5 капель жидкости.

Цветные реакции выполняют на фильтровальной бумаге или в фарфоровых чашках, а осадочные - на часовых стеклах. Чувствительность реакций на фильтровальной бумаге можно повысить, используя такие физические явления, как поверхностное натяжение, капиллярность, адсорбция, диффузия. Так, за счет различия в скорости диффузии растворенных компонентов лекарственной смеси можно одновременно идентифицировать без разделения два и даже три лекарственных вещества. Они образуют с реактивом окрашенные кольца, отличающиеся по цвету и расположенные на различном расстоянии от центра. Избирательность цветных реакций можно также повысить обработкой полосок фильтровальной бумаги парами летучих веществ.



Для экспресс-анализа *многокомпонентных жидких и твердых лекарственных форм* представляют интерес и другие методы, позволяющие идентифицировать компоненты смеси без их разделения. Иногда можно одним реактивом обнаружить два ингредиента. Например, действуя окислителями, можно последовательно открывать бромиды и йодиды, раствором хлорида железа (III) - бензоаты и салицилаты и т.д. Можно подобрать реактив, который с одним лекарственным веществом, содержащимся в смеси, образует окрашенное соединение (растворимое или нерастворимое в воде), а с другим выделяет газообразный продукт. Такого результата достигают, действуя концентрированной кислотой на смесь, содержащую гидрокарбонаты и алкалоиды.

Если не удастся выполнить анализ без разделения компонентов, используют те же принципы разделения, что и при макроанализе. Они основаны на различии в растворимости лекарственных веществ. С помощью воды, этилового спирта, ацетона, хлороформа можно разделять смесь, состоящую из веществ, растворимых и не растворимых в указанных растворителях. Растворы кислот, щелочей, буферные растворы позволяют последовательно извлекать из смеси вещества, различающиеся по кислотно-основным свойствам. Идентификацию выделенных индивидуальных лекарственных веществ осуществляют теми же реакциями, которыми испытывают субстанции на подлинность.

Качественный экспресс-анализ в условиях аптеки осуществляют не только химическими, но и физическими или физико-химическими методами.

*Поляриметрия* позволяет сделать заключение о подлинности лекарственного вещества в растворе по значению удельного вращения, *рефрактометрия* - по показателю преломления раствора определенной концентрации.

Доступным для использования во внутриаптечном контроле является *метод флуориметрии*. По характеру флуоресценции кристаллов или растворов можно, например, осуществить идентификацию препаратов некоторых алкалоидов, витаминов и др. Для возбуждения флуоресценции на растворы испытуемых веществ воздействуют ультрафиолетовым излучением с длиной волны 365-366 нм. Некоторые лекарственные вещества сами не флуоресцируют, но при взаимодействии с рядом реактивов образуют флуоресцирующие продукты.

Для выделения анализируемого лекарственного вещества из многокомпонентной лекарственной формы используют *хроматографию*. Особенно перспективно применение для экспресс-анализа распределительной хроматографии на бумаге и тонкослойной хроматографии. После выделения лекарственного вещества из лекарственной формы выполняют химические реакции на ионы или функциональные группы, причем эти реакции могут быть выполнены прямо на хроматограмме.

Для качественного экспресс-анализа настоек, экстрактов, настоев и отваров может быть применено сочетание *адсорбционной хроматографии* и *люминесцентного анализа*. Вначале используют различие в адсорбционной способности, компоненты лекарственных форм разделяют на отдельные зоны в колонках из оксида алюминия. Полученные хроматограммы идентифицируют в ультрафиолетовом излучении или с помощью групповых реакций на алкалоиды, гликозиды, сапонины, дубильные и другие вещества

# ***Количественный экспресс-анализ***

Количественный экспресс-анализ может быть выполнен титриметрическими или физико-химическими методами.

*Титриметрический экспресс-анализ* отличается от макрометодов расходом меньших количеств анализируемых лекарственных форм (0,05-0,1 г порошка или 1-3 мл раствора). Это позволяет анализировать лекарственную форму без изъятия, т.е. контролировать качество того лекарства, которое отпускается больному. На выполнение количественного экспресс-анализа затрачивается минимальное время, так как используются методики, как правило, не требующие процессов извлечения, выпаривания, фильтрования. Навеску порошка или объем жидкой лекарственной формы (растворы, глазные капли и др.) берут с таким расчетом, чтобы на определение расходовалось не более 2 мл титрованного раствора концентрацией 0,1 моль/л. Из твердых лекарственных форм вначале получают раствор. При необходимости жидкие лекарственные формы предварительно разбавляют.

Расчеты в количественном экспресс-анализе можно упростить, пользуясь факторами титрования ( $\Phi$ ), значения которых вычисляются:

□ в процентах:

$$\Phi = \frac{T_{B/A} \cdot 100}{a};$$

□ в граммах:

$$\Phi = \frac{T_{B/A} \cdot b}{a}.$$

Из *физико-химических методов* для количественного экспресс-анализа лекарственных форм применяют *рефрактометрию*. Этот метод пригоден для определения лекарственных веществ в концентратах, жидких и растворимых в воде сухих лекарственных формах, содержащих один или два ингредиента, а также для определения концентрации этилового спирта в водно-спиртовых растворах. Обязательным условием выполнения рефрактометрических определений является соблюдение температурного режима. Обычно определения выполняют при 20 °С. При небольших отклонениях температуры (на 5-7 °С) можно вводить поправку с помощью несложных расчетов.

Рефрактометрию применяют для количественного экспресс-анализа глюкозы, кислот (борной, аскорбиновой, никотиновой); солей неорганических и органических кислот (калия и натрия бромиды, хлориды, йодиды; кальция хлорид и глюконат, калия ацетат, натрия тетраборат, тиосульфат, гидрокарбонат, цитрат, бензоат, салицилат); водорастворимых натриевых солей сульфаниламидов (стрептоцида, норсульфазола, этазола, сульфацила). Более точные результаты достигаются, если концентрация лекарственного вещества выше 5 %. Иногда при анализе многокомпонентных смесей рефрактометрию сочетают с титриметрическими методами.

Значения показателей преломления и факторов для различных концентраций лекарственных веществ приведены в таблицах, которые имеются в руководствах по внутриаптечному контролю. Использование таблиц значительно упрощает расчеты.

Концентрацию веществ в однокомпонентных растворах ( $C$ ) вычисляют по формуле:

$$C_x = \frac{(n - n_0)}{F}$$

В двух- и трехкомпонентных смесях одно или два лекарственных вещества определяют титриметрическим методом, а содержание третьего компонента ( $C_x$ ) устанавливают измерением  $n$  раствора смеси. Расчет проводят по формуле:

$$C_x = \frac{[(n - n_0) - CF - C_1F_1]}{F_2}$$

Для определения небольших (0,1-2 %) концентраций препаратов в лекарственных формах используют *интерферометрический метод*, отличающийся от титриметрических небольшим расходом испытуемого объекта. Интерферометрия основана на измерении показателей преломления растворов, но, в отличие от рефрактометрии, измеряется разность показателей преломления и испытуемого вещества и эталона с известной величиной  $n_0$ .

Расчет концентраций  $C_x$  в интерферометрическом анализе выполняют по калибровочным графикам по формуле:

$$C_x = \frac{(n - p)}{K}$$

Интерферометрию применяют для количественного экспресс-анализа неорганических веществ (натрия хлорид, цинка сульфат, борная кислота), гидрохлоридов алкалоидов (пилокарпина, эфедрина, папаверина) и органических оснований (новокаина, дикаина, димедрола, дибазола) и др.

Для определения концентрации веществ, обладающих флуоресценцией, используют количественное *флуориметрическое определение*. Оно включает такие операции, как подготовка анализируемой пробы и стандартного раствора; измерение интенсивности флуоресценции стандартного раствора, анализируемого раствора и контрольной пробы (если она имеет флуоресценцию).

Флуориметрию применяют для количественного экспресс-анализа лекарственных форм, включающих витамины, алкалоиды, антибиотики и др. Содержание (концентрацию) лекарственного вещества в одном порошке или таблетке ( $C_x$ ) можно вычислить по формуле:

$$C_x = \frac{[C_0(A - A_1)b]}{[(A_2 - A_1)a \cdot 100]}$$

Для количественного экспресс-анализа могут быть использованы фотометрические методы.

*Фотоколориметрию* или *визуальную колориметрию* применяют для количественного определения аптечных концентрированных растворов (концентратов). Фотоколориметрическое определение 0,02 %-ного раствора фурацилина основано на цветной реакции с раствором гидроксида натрия, а 0,1% -ного раствора этакридина лактата - на образовании окрашенного diazocompound.

Особенно перспективен *дифференциальный фотометрический метод* с использованием заменителей растворов сравнения. При разработке методик дифференциального анализа вместо раствора сравнения, содержащего стандартный образец, можно использовать нейтральные светофильтры, матовые стекла, целлофановые пленки, имеющие стабильную оптическую плотность.

Предварительно по калибровочному графику, построенному с помощью стандартного образца, необходимо установить, какой концентрации анализируемого лекарственного вещества соответствует по своей оптической плотности заменитель раствора сравнения. В последующем, пользуясь этим заменителем как стандартным образцом, можно экспресс-методом на том же приборе определять концентрацию данного лекарственного вещества в различных лекарственных формах.

Исходя из сказанного выше, следует, что при количественном анализе нужно не только выбирать наиболее точный и удобный метод, исходя из индивидуальных свойств анализируемого вещества, но и учитывать вид лекарственной формы, установить, позволят ли сопутствующие ингредиенты обеспечить необходимую точность, учесть реакцию среды, наличие электролитов, веществ, анализируемых аналогично, и т.д. Поэтому знание альтернативных вариантов определения различными титриметрическими и другими методами, особенностей взаимодействия индикаторов, титрованных растворов при анализе смесей приобретает особое значение.

# ***УСПЕХОВ, УВАЖАЕМЫЕ КОЛЛЕГИ!***

***Спасибо за  
внимание и  
терпение!***

