2 занятие. Физические методы анализа.

Сравнительно большое количество лекарственных форм применяемых в современной фармации, говорит о необходимости предварительной их систематизации и создании рациональной классификации лекарственных форм.

Существуют разные ***системы классификаций лекарственных форм***, основанные на разных принципах:

1. Классификация ***по агрегатному состоянию***. Все лекарственные формы делят на 4 группы: твердые, жидкие, мягкие, газообразные.

Твердые ЛФ: сборы, порошки, таблетки, горчичники, капсулы и др.

Жидкие ЛФ: растворы, суспензии, эмульсии, капли, настои, отвары, микстуры, примочки и др.

Мягкие ЛФ: мази, пластыри, суппозитории, капсулы желатиновые, пасты.

Газообразные ЛФ: газы, пары, аэрозоли.

Классификация по агрегатному состоянию наиболее старая, она удобна для первичного разделения ЛФ. Агрегатное состояние частично определяет скорость действия лекарственного препарата и, в известной мере, сопряжено с определенными технологическими процессами.

Как известно, проведение фармакопейного анализа ставит своей целью установление подлинности, определение чистоты и количественную оценку действующего вещества или ингредиентов сложной ЛФ. Определение некоторых констант – температуры плавления, плотности, удельного показателя поглощения, позволяет одновременно сделать вывод и о подлинности и о чистоте данного вещества. Так как методики определения тех или иных констант для различных препаратов идентичны, мы изучаем их в общих методах анализа. Знание теоретических основ и умение провести определение потребуется вам в последующем анализе различных групп препаратов.

Фармакопейный анализ является составной частью фармацевтического анализа и представляет собой совокупность способов исследования лекарственных средств и лекарственных форм, изложенных в Государственной фармакопее и другой НД (ФС, ФСП, ГОСТ) и используемых для определения подлинности, чистоты и количественного анализа.

В контроле качества лекарственных средств используют физические, физико-химические, химические и биологические методы анализа.

К физическим методам анализа относят.

* описание;
* растворимость;
* физические константы (температура плавления, кипения или перегонки, показатель преломления, удельное вращение, плотность, спектральные характеристики);
* прозрачность и цветность растворов;
* кислотность или щёлочность, рН раствора;
* потеря в массе при высушивании;
* сульфатная зола;

Частная фармакопейная статья на любой препарат начинается разделом **«Описание»,** в котором в основном приводится характеристика физических свойств вещества:

* ***агрегатного состояния*** (твердое вещество, жидкость, газ), если твердое вещество, то определяется степень его дисперсности (мелкокристаллический, крупнокристаллический), форма кристаллов (игольчатые, цилиндрические)
* ***цвет вещества*** – важный показатель подлинности и чистоты. Большинство ЛС не имеют окраски, то есть являются белыми. Окраску визуально при определении агрегатного состояния. Небольшое количество вещества помещают тонким слоем на чашку Петри или часовое стекло и рассматривают на белом фоне. В ГФ Х1 имеется статья «Определение степени белизны порошкообразных ЛС». Определение проводится инструментальным методом на специальных фотометрах «Specol-10». Оно основано на спектральной характеристике света, отраженного от образца ЛВ. Измеряют так называемый коэффициент отражения – отношение величины отраженного светового потока к величине падающего. Измеренные коэффициенты отражения позволяют определить наличие или отсутствие у веществ цветового или сероватого оттенка путем расчета степени белизны (α) и степени яркости (β). Так как появление оттенков или изменение цвета является, как правило, следствием химических процессов – окисления, восстановления, то уже этот начальный этап исследования веществ позволяет сделать выводы.

***Запах*** определяют редко *сразу после вскрытия упаковки* на расстоянии 4-6 см. *Отсутствие запаха* после вскрытия упаковки сразу по методике: 1-2 г вещества равномерно распределяют на часовом стекле диаметром 6-8 см и через 2 мин определяют запах на расстоянии 4-6 см.

В разделе «Описание» могут быть указания *на возможность изменения веществ в процессе хранения*. Например, в препарате кальция хлорид указано, что он очень гигроскопичен и расплывается на воздухе, а натрия йодид – на воздухе сыреет и разлагается с выделением йода, кристаллогидраты, в случае выветривания или несоблюдения условий кристаллизации в производстве, уже не будут иметь нужный внешний вид ни по форме кристаллов, ни по цвету.

Таким образом исследование внешнего вида вещества является первым, но очень важным этапом в анализе веществ и необходимо уметь связать изменения внешнего вида с возможными химическими изменениями и сделать правильный вывод.

**Растворимость**.

Растворимость является важным показателем качества лекарственного вещества. Как правило, в НД приводится некоторый перечень растворителей, наиболее полно характеризующий это физическое свойство с тем, чтобы в дальнейшем оно могло быть использовано для оценки качества на том или ином этапе исследования этого лекарственного вещества. Так, растворимость в кислотах и щелочах характерна для амфотерных соединений (цинка оксид, сульфаниламиды), для органических кислот и оснований (кислоты глютаминовая, ацетилсалициловая, кодеин). Изменение растворимости указывает на присутствие или появление при хранении менее растворимых примесей, что характеризует изменение его качества.

Под растворимостью подразумевают не физическую константу, а свойство, выраженное приблизительными данными и служащее для ориентировочной характеристики препаратов.

Наряду с температурой плавления растворимость вещества при постоянной температуре и давлении является одним из параметров, по которому устанавливают подлинность и чистоту (доброкачественность) практически всех лекарственных средств.

Рекомендуется использовать растворители разной полярности (обычно три); не рекомендуется использование легкокипящих и легковоспламеняющихся (диэтиловый эфир) или очень токсичных (бензол, метиленхлорид) растворителей.

Приняты ***два способа выражения растворимости***:

1. *В частях (соотношение вещества и растворителя)*. Например, для натрия хлорида по ФС растворимость в воде выражена в соотношении 1:3, это означает, что для растворения 1 г лекарственного вещества необходимо не более 3 мл воды.
2. *В условных терминах*. Например, для натрия салицилата в ФС дана растворимость в условных терминах – «очень легко растворим в воде». Это означает, что для растворения 1 г вещества необходимо до 1 мл воды.

Таблица1

Условные термины растворимости

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Условные термины | Сокращения | Количество растворителя (мл),  необходимое для растворения 1г  вещества |
| Очень легко растворим | оч. л. р. | до1 |
| Легко растворим | л. р. | Более 1 до 10 |
| Растворим | р. | » 10 до 30 |
| Умеренно растворим | ум. р. | » 30 до 100 |
| Мало растворим | м. р. | » 100 до 1000 |
| Очень мало растворим | оч. м. р. | » 1000 до 10000 |
| Практически не растворим | пр. н. р. | » 10000 |

*Условный термин соответствует определённому интервалу объёмов растворителя (мл), в пределах которого должно происходить полное растворение одного грамма лекарственного вещества.*

Процесс растворения осуществляют в растворителях при температуре 20°С. С целью экономии лекарственного вещества и растворителя массу препарата отвешивают с таким расчётом (с точностью до 0,01 г), чтобы на установление растворимости воды расходовалось не более 100 мл, а органических растворителей - не более 10-20 мл.

Лекарственное вещество (субстанцию) *считают растворимым*, если в растворе при наблюдении в проходящем свете не обнаруживаются частицы вещества.

**Методика. (1 способ).** Отвешенную массу лекарственного средства, предварительно растёртого в тонкий порошок, вносят в отмеренный объём растворителя, соответствующий минимальному его объёму, встряхивают. Затем в соответствии с табл. 1 добавляют постепенно растворитель до максимального его объёма и непрерывно встряхивают в течение 10 мин. По истечений этого времени в растворе невооружённым глазом не должны обнаруживаться частицы вещества. Например, отвешивают 1 г натрия бензоата, помещают в пробирку с 1 мл воды, взбалтывают и постепенно приливают 9 мл воды, т.к. натрия бензоат легко растворим в воде (от 1 до 10 мл).

*Для медленно растворимых* лекарственных средств, требующих для полного растворения более 10 мин., *допускается нагревание на водяной бане до 30°С.* Наблюдение проводят после охлаждения раствора до 20°С и энергичного встряхивания в течение 1-2 мин. Например, кофеин медленно растворим в воде (1:60), кодеин медленно и мало растворим в воде (100-1000), кальция глюконат медленно растворим в 50 ч. воды, кальция лактат медленно растворим в воде, кислота борная медленно растворима в 7 ч. глицерина.

2 способ. Растворимость, выраженная в частях, показывает объём растворителя в мл, необходимого для растворения 1 г вещества.

Методика. (2 способ) Взвешенную на ручных весах массу лекарственного средства растворяют в указанном НД объёме растворителя. В растворе не должны обнаруживаться частицы не растворившегося вещества.

**Температура плавления (Т**°**пл)**

Температура плавления является константой, характеризующей *чистоту* вещества *и одновременно его подлинность*. Из физики известно, что температура плавления – это температура, при которой твердая фаза вещества находится в равновесии с расплавом. Чистое вещество имеет четкую температуру плавления. Поскольку ЛВ могут иметь незначительное количество примесей, такой четкой картины мы уже не увидим. В этом случае определяется интервал, при котором плавится вещество. Обычно этот интервал лежит в пределах 2◦С. Более растянутый интервал свидетельствует о наличии примесей в недопустимых пределах.

Согласно формулировке ГФ Х1 под **температурой плавления** вещества понимают *интервал температуры между началом плавления (появлением первой капли жидкости) и концом плавления (полным переходом вещества в жидкое состояние).*

*Если вещество имеет нечеткое начало или конец плавления*, определяют **температуру только начала или конца плавления**. Иногда вещество плавится с разложением, в этом случае определяют **температуру разложения**, то есть температуру, при которой происходит *резкое изменение вещества* (например, вспенивание).

***Методы*** определения температуры плавления

Выбор метода диктуется двумя моментами:

* устойчивостью вещества при нагревании и
* способностью растираться в порошок.

***Методы предполагают использование 2х приборов:***

* ПТП (*прибор для определения Тпл*): знаком Вам с курса органической химии, позволяет определить Тпл веществ в пределах *от 20◦С до 360◦С*
* *Прибор, состоящий из круглодонной колбы с впаянной в нее пробиркой, в которую вставляется термометр с прикрепленным к нему капилляром, содержащим исходное вещество*. Во внешнюю колбу залита на ¾ объема жидкость-теплоноситель:
* вода (позволяет определить Тпл до 80◦С),
* вазелиновое масло или жидкие силиконы, концентрированная серная кислота (позволяет определить Тпл до 260◦С),
* смесь серной кислоты и сульфата калия в соотношении 7:3 (позволяет определить Тпл выше 260◦С)

*Методика общая независимо от прибора.*

Тонко измельченное сухое вещество помещают в капилляр средних размеров (6-8 см) и вносят в прибор при температуре на 10 градусов ниже ожидаемой. Отрегулировав скорость подъема температуры, фиксируют температурный интервал изменений вещества в капилляре При этом проводят не менее 2х определений и берут среднее арифметическое.

*Тпл определяют не только у чистых веществ, но и у их производных* – оксимов, гидразонов, оснований и кислот, выделенных из их солей.

**Температурные пределы перегонки (Т**° **кип.)**

ГФ величина определяется как ***интервал*** ***между начальной и конечной температурой кипения при нормальном давлении.***(101,3 кПа – 760 мм рт.ст.). Интервал обычно составляет 2°.

*Под начальной* Т°кип. понимают температуру, при которой в приемник перегнались первые пять капель жидкости.

*Под конечной* – температуру, при которой в приемник перешло 95% жидкости.

Более растянутый интервал, чем указано в соответствующей ФС, свидетельствует о наличие примесей.

***Прибор для определения ТПП состоит из***

* термостойкой колбы с термометром, в которую помещают жидкость,
* холодильника и
* приемной колбы (градуированного цилиндра).

ТПП, наблюдаемые в опыте, приводят к нормальному давлению по формуле:

Тиспр = Тнабл + К· (р – р1)

Где: р – нормальное барометрическое давление (760 мм рт ст)

р1 – барометрическое давление во время опыта

К – прирост Ткип на 1мм давления

Таким образом определяя температурные пределы перегонки определяют ***подлинность и чистоту*** эфира, этанола, хлорэтила, фторотана.

**Плотность**

***Плотность*** – это масса единицы объема вещества. Выражается в г/см3.

**ρ = m/V**

Если массу измерить в гр, а объем в см3, то плотность – это масса 1 см3 вещества.

Определение плотности проводят с помощью пикнометра (до 0,001). или ареометра (точность измерения до 0,01)

Устройство приборов смотрите в ГФ Х1 издании.

**Определение плотности с помощью пикнометра**

***Пикнометры - это колбочки с длинным узким горлышком, на котором наносится кольцевая метка. На колбе указывается её объём, как правило это 5, 10 мл.*** Они изготавливаются из тонкого стекла и предназначены для определения плотности растворов.

Метод 1. Определение проводят с помощью пикнометра с точностью до 0,001. *Чистый сухой* пикнометр взвешивают с точностью до 0,0002 г, заполняют с помощью маленькой воронки *водой очищенной* немного выше метки, закрывают пробкой и выдерживают в течение 20 мин. в термостате, в котором поддерживают постоянную температуру воды 20°С с точностью до 0,1°С. При этой температуре уровень воды в пикнометре доводят до метки, быстро отбирая излишек воды при помощи пипетки или свёрнутой в трубку полоски фильтровальной бумаги. Пикнометр снова закрывают пробкой и выдерживают в термостате ещё 10 мин., проверяя положение мениска по отношению к метке. Затем пикнометр вынимают из термостата, фильтровальной бумагой вытирают внутреннюю поверхность горлышка пикнометра, а так же весь пикнометр снаружи. Оставляют под стеклом аналитических весов в течение 10 мин. и взвешивают с той же точностью.

*Пикнометр освобождают от воды, высушивают*, споласкивая последовательно спиртом и эфиром. (Сушить пикнометр путём нагревания не допускается). Удаляют остатки эфира продуванием воздуха, *заполняют пикнометр испытуемым раствором* и затем производят те же операции, что и с водой очищенной. Плотность – ρ20 (г/см3)

Плотность при определении пикнометром вычисляется по формуле:

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| ρ20 = | (m2 – m)\*0.99703 | + 0.0012 |
| m1 - m |

m – масса пустого пикнометра в граммах

m1 – масса его с очищенной водой в граммах

m2 - масса его с исследуемой жидкостью в граммах

0,99703 – плотность воды при 20◦С

0,0012 – плотность воздуха при 20◦С

**Определение плотности с помощью ареометра**

***Ареометр представляет собой стеклянный тонкостенный, цилиндрический сосуд, расширяющийся внизу и имеющий на конце стеклянный резервуар, заполненный дробью, реже ртутью. В верхней части ареометра имеется шкала с делениями, соответствующими плотности жидкости и указанием температуры, при которой следует производить определение.*** Имеются ареометры для жидкостей легче и тяжелее воды, для серной кислоты, едких щелочей, а также ряд специальных ареометров для измерения плотности спирта (спиртометр), молока (лактомер).

Метод 2. Ареометром определяют плотность с точностью до 0,01. Испытуемую жидкость помещают в цилиндр и *при температуре жидкости 20°С осторожно опускают в нее чистый сухой ареометр, на шкале которого предусмотрена ожидаемая величина плотности.* Ареометр не выпускают из рук до тех пор, пока не станет очевидным, что он плавает, при этом необходимо следить, чтобы ареометр не касался стенок и дна цилиндра. *Отсчёт производят через 3-4 мин*. после погружения по делению на шкале ареометра, соответствующему нижнему мениску жидкости. Отсчет значений плотности *темноокрашенных жидкостей производят по верхнему мениску* (при отсчёте глаз должен быть на уровне мениска).

Ограничения метода

* нельзя определить плотность сильно летучих веществ;
* невысокая точность;
* необходимость использования относительно большого количества анализируемой жидкости.

Определенные интервалы значений плотности служат для подтверждения ***подлинности и чистоты*** *этанола, глицерина, вазелина,* *вазелинового масла, хлорэтила, фторотана* и др.

**Вязкость (внутреннее трение)**

**Вязкость** – *свойство текучих тел оказывать сопротивление перемещению одной их части относительно другой*.

**Виды вязкости**:

* Динамическая
* Кинематическая
* ***Относительная*** – отношение вязкости исследуемой жидкости к вязкости другой жидкости:

ηотн = ηх / ηо = tx ρx/ tо ρо

ηх , ηо – вязкости исследуемой и стандартной жидкости

tx , tо – время истекания исследуемой и стандартной жидкостей

ρx , ρо – плотности соответствующих жидкостей

* Удельная
* Приведенная
* Характеристическая

Определение вязкости проводится на различного типа **вискозиметрах** – капиллярные, ротационные и вискозиметры с падающим шариком. Для оценки качества жидких препаратов, имеющих вязкую консистенцию (*вазелиновое масло, глицерин*), ***обычно определяют относительную вязкость.***

**Кислотность, щёлочность, рН**.

Определённую информацию о степени чистоты лекарственных средств даёт значение рН растворов. По этому показателю можно судить о наличии примесей кислотного или основного характера.

Определение осуществляется несколькими способами:

* ***По изменению окраски кислотно-основных*** индикаторов (приблизительное значение рН).
* ***Тириметрически*** методом кислотно-основного титрования (количественно)

Индикаторы, как известно, являются электролитами, существующими в двух таутомерных формах. В зависимости от концентрации водородных ионов (значении рН среды) преобладает одна из этих форм, обуславливающая определённую окраску раствора. Однако, окраска индикатора указывает только на то, что рН раствора находится в пределах, где доминирует одна из форм индикатора, но не указывает истинного значения.

Например, примесь минеральных кислот в кислоте борной определяют с помощью метилового красного, который не изменяет окраски от действия слабой кислоты борной, но розовеет при наличии в ней примесей минеральных кислот.

В некоторых случаях содержание примесей основного или кислотного характера оценивают количественно.

Например, для установления допустимой примеси муравьиной кислоты, образующейся при хранении раствора формальдегида, проводят её алкалиметрическое определение. Данной примеси должно быть в препарате не более 0,2 %.

***В большинстве случаев*** для характеристи кислотности или основности растворов в НД на лекарственные вещества вводится раздел –

* ***Определение рН.***

Готовят *растворы* определённой концентрации по ФС, в которой указан интервал значений величины рН.

Например, для 5 % раствора сульфацила натрия - рН 8,5-9,5.

**Для определения рН** по ГФ XI, вып. 1, с. 113 **применяются два метода**:

* *потенциометрический* (точность 0,1)
* *колориметрический* (приблизительное значение).

***рН (водородный показатель***)

– *это отрицательный десятичный логарифм активности ионов водорода.*

**рН = - lg aH+**

На практике чаще используют не значения активностей, а значения концентраций ионов водорода и рН находят по формуле

**рН = - lg [H+]**

Например, [Н+] = 10-2, рН = 2.

**Потенциометрический метод** – определение рН *заключается в измерении ЭДС гальванического элемента, состоящего из двух электродов: индикаторного и электрода сравнения.*

Разница ЭДС между этими двумя электродами *(потенциал индикаторного электрода) определяется* активностью ионов водорода в исследуемом растворе, *а потенциал электрода сравнения (или стандартного электрода) известен.*

В качестве индикаторных электродов ГФ XI рекомендует применять *стеклянный* (чаще других) *и хингидронный* электроды, редко допускаются использование *водородного электрода*.

На практике расчёты при определении рН не производятся, т.к. шкала лабораторных рН-метров градуирована в величинах рН.

Для измерения рН применяют потенциометры, рН-метры, иономеры.

**Колориметрический метод** измерения рН *основан на применении индикаторов, которые изменяют свою окраску в зависимости от активности ионов водорода в определенном интервале рН (переходят в таутамерную форму).*

**Для определения** готовят серию (шкалу) стандартных буферных растворов (5-6) с интервалом 0,2 рН или 0,1 рН. К равному объёму исследуемого и всех буферных растворов шкалы, прибавляют одинаковый объём раствора индикатора и сравнивают окраску. Значение рН равного по окраске буферного раствора соответствует рН исследуемого раствора.

Точному определению предшествует приблизительное определение рН с помощью индикаторной бумаги или индикатора, обладающего широкой областью перехода. Подбирается индикатор так, чтобы предполагаемая величина рН попала в центральную часть интервала перехода окраски индикатора и серии стандартных буферных растворов.

***Достоинство метода:***

* дает меньшую точность, но не требует применения прибора.

Недостатки метода:

* определение проводится визуально и может присутствовать ошибка,  
  связанная с субъективным характером выбора;
* невозможно его применение в окрашенных и мутных растворах, в  
  присутствии окислителей или восстановителей, других веществ,  
  способных вступать во взаимодействие с индикатором.

ОФС ГФ XII «***Ионометрия***» описано определение концентрации ионов в растворе *с помощью ионселективных электродов, при этом потенциометрическое определение рН является частным случаем определения концентрации ионов.*

Области применения в фарм анализе:

1. установление подлинности веществ
2. определение чистоты

**Определение летучих веществ и воды**

Летучие вещества могут попасть в ЛП либо вследствие недостаточной очистки от растворителей и промежуточных продуктов в процессе получения, либо в результате накопления продуктов разложения.

Вода в лекарственных веществах может содержаться **в виде капиллярной, абсорбционно-связанной, химически связанной (гидратной и кристаллогидратной) или свободной.**

«Определение воды», описывает три метода определения летучих веществ и воды.

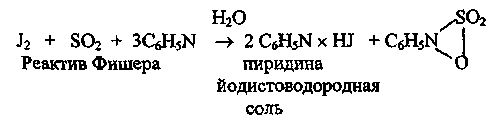
1. **метод высушивания** (применим как для определения воды, так и летучих веществ): по разности в весе вещества до и после высушивания. Первое взвешивание через 2 часа, затем каждый час. Высушивание проводят до постоянного веса в открытом бюксе. Условия указываются в частных ФС.
2. **метод дистилляции (перегонки)** - (применим только для определения воды): вещество помещается в специальный прибор, к нему добавляют толуол или ксилол (жидкости, не смешивающиеся с водой, и, одновременно, легче ее), проводят отгонку. В градуированном приемнике собирается вода, сверху которой находится органический растворитель (это препятствует испарению воды). Когда объем воды перестает увеличиваться, отгонку прекращают и отмечают объем отогнанной воды.
3. **метод титрования реактивом Фишера:** это химический метод акваметрии, дает возможность быстро и точно определить любые количества воды в органических и неорганических веществах (как гигроскопической, так и кристаллизационной), в летучих веществах – достоинства метода. Прибор для определения представляет собой замкнутую систему, изолированную от внешней среды – недостаток метода: бюретка, сосуд для подачи реактива, колба для титрования. Реактив Фишера – это раствор диоксида серы, йода и пиридина в метаноле:

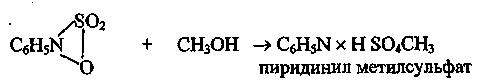
SO2 + I2 + + CH3OH

Метод основан на свойстве йода взаимодействовать с диоксидом серы только в присутствии воды в две стадии. Продукты реакции (H2S04 и HJ) связывается пиридином, что количественно сдвигает равновесие вправо.

H2O + SO2 + I2 + 3C5H5N →2C5H5N · HI + C5H5NSO3

C5H5NSO3 + CH3OH → C5H5N ⋅ HSO4CH3





***Конец титрования определяется***

* либо визуально по переходу окраски раствора *(из желтого в красно-коричневый),*
* либо электрометрически «до полного прекращения тока».

Ограничение: нельзя применять метод для определения воды в веществах, реагирующих с компонентами реактива Фишера (аскорбиновая кислота, альдегиды, кетоны и тд).