Билет 1

1. **Основы законодательства в области здравоохранения. Государственный реестр лекарственных средств. Организация контроля качества лекарственных средств в РФ.**

**Государственный реестр лекарственных средств**является официальным изданием Министерства здравоохранения РФ. Все перечисленные в нем средства зарегистрированы и рекомендованы к использованию Минздравом России. ГРЛС вмещает приказы по медицинскому применению, нормативные документы, разъяснительные письма, регистрационные данные об уникальных номерах, фармакопейные статьи. ГРЛС является базовой основой для систематизации и контроля в сфере продаж и применения лекарственных препаратов.

Также ГРЛС содержит в себе перечень фармацевтических субстанций, входящих в состав лекарственных препаратов.

Контроль качества лекарственных средств осуществляется на нескольких уровнях: федеральном, региональном, территориальном и на уровне аптеки.

На *федеральном уровне* образовано Управление по стандартизации и контролю качества лекарственных средств и медицинской техники в 1992 году.

Во введении Управления находятся:

* Российский государственный центр экспертизы лекарственных средств.
* Всероссийский НИИ медицинской техники.
* Государственный НИИ по стандартизации и контролю качества лекарственных средств (ГНИИСКЛС).
* Бюро по регистрации новых лекарственных средств и изделий медицинской техники.
* Всероссийский научный центр биологически активных веществ (БАВ).

Задачи управления:

* Организация и осуществление контроля качества отечественных и зарубежных лекарственных средств и изделий медицинской техники.
* Организация научно-исследовательских работ по контролю качества лекарственных средств, стандартизации и сертификации.
* Экспертиза проектов нормативных документов (НД).
* Организация издания ГФ.

*На региональном уровне* проблемы создания эффективных, безопасных и качественных лекарственных средств решают региональные центры экспертизы (например, в Нижнем Новгороде).

*На территориальном уровне* контроль качества осуществляется центрами контроля качества (ЦКК) ПО «Фармация», которые должны иметь аккредитацию на этот вид деятельности. Их деятельность координируется Управлением по фармации при МЗ.

ЦКК выполняют следующие виды деятельности:

* Производственную (контроль качества лекарственных средств, изготовленных в аптеках и поступивших на аптечный склад).
* Организационнометодическую (руководство контрольно-аналитической службой аптек).
* Контрольно-консультативную (проведение консультаций работников аптек по вопросам приготовления, хранения и отпуска аптечной продукции).
* Научно-исследовательскую (изучение часто встречающейся рецептуры, разработка новых методик анализа и т.п.).

Завершающим звеном государственной системы контроля качества лекарственных средств является внутриаптечный контроль, выполняемый *на уровне аптеки*.

Кроме того, в соответствии с федеральным законом «О сертификации продукции и услуг» лекарственные средства подлежат обязательной сертификации. Всероссийский сертификат соответствия выдается Инспекцией государственного контроля качества лекарственных средств на основе заключения ГНИИСКЛС (см. выше).

*На промышленных предприятиях*, выпускающих фармацевтическую продукцию, надзор за ее качеством возложен на отдел технологического контроля (ОТК) – это самостоятельное структурное подразделение предприятия.

Начальник ОТК подчиняется директору и наравне с ним несет ответственность за качество продукции. Работники ОТК подчиняются начальнику ОТК и независимы от цехов и других отделов.

Функции ОТК:

* Контроль сырья и полуфабрикатов.
* Первичный контроль (постадийный контроль, приёмка готовой продукции).
* Выборочный контроль (последующие серии выборочно).
* Контроль за состоянием средств измерения.
* Контроль за соблюдением технологии производства.
* Оформление документации на продукцию и претензионных документов на сырье и полуфабрикаты.
1. **Физико-химические методы анализа ЛС: спектрофотометрия, ИК-спектроскопия. Сущность. Применение в фармацевтическом анализе.**

Уменьшение интенсивности монохроматического излучения, проходящего через гомогенную поглощающую среду, количественно описывается законом Бугера-Ламберта-Бера:

log10(1/Т) = А = ε ∙ c ∙ b ,(1)

где:

* Т – пропускание, отношение интенсивности светового потока, прошедшего через вещество, к интенсивности падающего на вещество светового потока; Т = I/I0;
* I – интенсивность прошедшего монохроматического излучения;
* I0 – интенсивность падающего монохроматического излучения;
* ε – молярный показатель поглощения;
* с – молярная концентрация вещества в растворе;
* b – длина оптического пути или толщина слоя, в сантиметрах.

Величина log10(1/Т) носит название оптической плотности, обозначается буквой А и является измеряемой величиной. В отсутствии других физико-химических факторов измеренная оптическая плотность (А) пропорциональна концентрации вещества в растворе (с) и толщине слоя (b).

Величина  ** представляет собой удельный показатель поглощения, т.е. оптическую плотность раствора вещества с концентрацией 10 г/л (1 г/100 мл) в кювете с толщиной слоя 1 см. Величины  и ε связаны соотношением:



где:

М.м. – молекулярная масса исследуемого вещества.

## **Измерение оптической плотности**

Если нет других указаний в фармакопейной статье, измерение оптической плотности проводят при указанной длине волны с использованием кювет с толщиной слоя 1 см и при температуре (20 ± 1) °С по сравнению с тем же растворителем или той же смесью растворителей, в которой растворено вещество. При измерении оптической плотности раствора при данной длине волны оптическая плотность кюветы с растворителем, измеренная против воздуха при той же длине волны, не должна превышать 0,9 и, желательно, чтобы она была не менее 0,2.

Спектр поглощения представляют таким образом, чтобы оптическая плотность или ее некоторая функция были приведены по оси ординат, а длина волны или некоторая функция длины волны – по оси абсцисс.

Если в фармакопейной статье для максимума поглощения указывается только одна длина волны, то это означает, что полученное значение максимума не должно отличаться от указанного более чем на ± 2 нм.

## **Приборы**

Спектрофотометры, предназначенные для измерений в ультрафиолетовой и видимой областях спектра, состоят из оптической системы, выделяющей монохроматическое излучение в области от 190 до 800 нм и обеспечивающей его прохождение через образец, и устройства для измерения оптической плотности.

Основными частями этих приборов являются: источник излучения, диспергирующий прибор (призма или решетка), щель для выделения полосы длин волн, кюветы для образцов, детектор излучаемой энергии, встроенные усилители и измерительные приборы.

## **Идентификация**

Абсорбционную спектрофотометрию в ультрафиолетовой и видимой областях спектра применяют для определения подлинности лекарственных средств путем:

— сравнения спектров поглощения испытуемого раствора и раствора стандартного образца; в указанной области спектра должно наблюдаться совпадение положений максимумов, минимумов, плеч и точек перегиба;

— указания положений максимумов, минимумов, плеч и точек перегиба спектра поглощения испытуемого раствора; расхождение между наблюдаемыми и указанными длинами волн в максимумах и минимумах поглощения не должно обычно превышать ± 2 нм.

Возможны и другие варианты применения, оговоренные в фармакопейных статьях.

## **Количественное определение**

Определение концентрации веществ спектрофотометрическим методом основано на использовании закона Бугера-Ламберта-Бера:



где:

С – концентрация вещества в г/100 мл;

А – оптическая плотность испытуемого раствора;

 – удельный показатель поглощения вещества;

b – длина оптического пути или толщина слоя, в сантиметрах.

В ряде случаев, даже при использовании монохроматического излучения могут наблюдаться отклонения от закона Бугера-Ламберта-Бера, обусловленные процессами диссоциации, ассоциации и комплексообразования. Поэтому предварительно следует проверить линейность зависимости оптической плотности раствора от концентрации в аналитической области. При наличии отклонений от линейной зависимости следует пользоваться не формулой (3), а экспериментально найденной зависимостью.

Обычно определение концентрации спектрофотометрическим методом проводят с использованием стандартного образца. Расчет концентрации основан на использовании уравнения:



где:

С и С0 – концентрации испытуемого раствора и раствора стандартного образца, соответственно;

А и А0 – оптические плотности испытуемого раствора и раствора стандартного образца, соответственно.

Концентрации испытуемого и стандартного раствора должны быть близки.

Вначале измеряют оптическую плотность раствора стандартного образца, приготовленного, как указано в фармакопейной статье, затем проводят измерение оптической плотности испытуемого раствора. Второе измерение проводят сразу после первого, с использованием той же кюветы, в тех же экспериментальных условиях.

Метод с использованием стандартного образца является более точным и надежным. Возможность применения значения удельного показателя поглощения в каждом конкретном случае следует обосновывать. Обычно метод с использованием значения удельного показателя поглощения применим при допусках содержания анализируемого вещества не менее ±10 % от номинального содержания.

**Инфракрасные спектры** (колебательные спектры) (ИК-спектры) возникают вследствие поглощения энергии электромагнитного излучения при колебаниях ядер атомов в молекулах или ионах, которые сопровождаются изменением дипольных моментов, и представляют собой зависимость пропускания или поглощения от длины волны (λ) или частоты колебаний (ν).

Под инфракрасной областью (ИК-область) подразумевают электромагнитное излучение в области длин волн от 0,78 до 400 мкм. Область от 780 до 2500 нм (от 0,78 до 2,5 мкм) рассматривается как ближняя ИК-область, область от 2,5 до 25 мкм (от 4000 до 400 см-1) относится к средней ИК-области спектра и область от 25 до 400 мкм относится к дальней ИК-области. Наиболее часто используется средняя ИК-область.

Длину волны (λ) в ИК-спектрах обычно измеряют в микрометрах (микронах), мкм.

Поскольку частота колебаний в ИК-спектрах имеет большие числовые значения, обычно используют не частоты (ν), а волновые числа (), которые измеряются в см-1 и связаны с частотой (ν) уравнением:

** = ν /с ,

где

ν  – частота, Гц (с-1);

с – скорость света в вакууме, см∙с-1.

Волновое число () связано с длиной волны (λ, мкм) соотношением:

** = 104/λ.

## **Приборы**

Могут быть использованы инфракрасные спектрофотометры, снабженные оптической системой (призмы или дифракционные решетки), выделяющей монохроматическое излучение в измеряемой области, или спектрофотометры с Фурье-преобразованием. В последних используется полихроматическое излучение и рассчитывается спектр в заданной области частот путем Фурье-преобразования исходных данных. В таких приборах вместо диспергирующего прибора используется интерферометр, а обработка спектральных данных производится с помощью компьютера.

## **Подготовка образца**

Для записи спектра пропускания или поглощения готовят образец субстанции по одной из следующих методик.

### Жидкости

Жидкости исследуют в форме пленки между двумя пластинками, прозрачными для инфракрасного излучения, или в кювете с малой (обычно 0,01 – 0,05 мм) толщиной слоя, также прозрачной для инфракрасного излучения.

#### Жидкости или твердые вещества в растворе

Готовят раствор испытуемой субстанции в подходящем растворителе. Выбирают концентрацию вещества и толщину слоя кюветы, позволяющие получить удовлетворительный спектр.

Обычно хорошие результаты получают при концентрациях от 10 до 100 г/л при толщине слоя от 0,5 до 0,1 мм.

Поглощение растворителя компенсируют путем помещения в канал сравнения аналогичной кюветы, содержащей выбранный растворитель.

#### Кюветы

Если кюветы, заполненные растворителем, обладают разным поглощением при выбранной длине волны, то вносят поправку на измеренное поглощение испытуемого раствора. При использовании спектрофотометров с Фурье-преобразованием коррекция кювет не требуется, поскольку одна и та же кювета может быть использована и для растворителя и для испытуемого раствора. Кюветы для спектрометрии в инфракрасной области изготавливают из солевых материалов (NaCl, KBr, CaF2, LiF и др.). Область прозрачности кюветы в ИК-области зависит от использованного материала.

#### Растворители

Не существует растворителей, которые при значительной толщине слоя были бы полностью прозрачными для ИК-спектров. Четыреххлористый углерод (при толщине слоя до 5 мм) практически прозрачен до 6 мкм (1666 см-1). Углерода дисульфид (толщиной 1 мм) подходит как растворитель до 40 мкм (250 см-1) за исключением областей от 4,2 до 5,0 мкм (от 2381 до 2000 см-1) и от 5,5 до 7,5 мкм (от 1819 до 1333 см-1), где он имеет сильное поглощение. Другие растворители прозрачны в относительно узкой области. Растворители, применяемые в спектрометрии в инфракрасной области, должны быть инертны к материалу, из которого сделана кювета.

### **Твердые вещества**

Твердые вещества исследуют в твердом состоянии (диски из галогенидов щелочных металлов), диспергированными в подходящей жидкости в виде суспензии или формируют пленку из расплавленной массы между двумя пластинами, прозрачными для инфракрасного излучения. Подготовку образца описывают в фармакопейной статье.

#### Диски

1 – 3 мг вещества, предназначенного для испытания, растирают с 150 – 200 мг (если не указано иначе в фармакопейной статье) тщательно измельченного и высушенного калия бромида или калия хлорида (обычно используют калия бромид). Типичные условия высушивания калия бромида: при 105 °С в вакууме, в течение 12 ч. Обычно такого количества достаточно для приготовления диска диаметром 13 мм и получения спектра подходящей интенсивности. Смесь тщательно перетирают, добиваясь необходимой однородности, и прессуют диск при давлении около 800 МПа (8 т/см2) в вакууме (2 – 3 мм рт. ст.) в течение 2 – 5 мин. Причиной образования некачественных дисков могут быть такие факторы, как недостаточное или чрезмерное растирание, влага или иные примеси в дисперсионной среде. Диск не пригоден для испытания, если в области прохождения луча на диске имеются трещины, или при визуальном осмотре он неоднороден по прозрачности, или его пропускание при 2000 см-1 (5 мкм) составляет менее 60 % без компенсации при отсутствии специфической полосы поглощения.

#### Суспензии

Небольшое количество вещества, предназначенного для испытания, растирают с минимальным количеством вазелинового масла или другой подходящей жидкости (смешивают 5 – 20 мг твердого вещества с 1 – 2 каплями иммерсионной жидкости). Полученную суспензию сжимают между двумя пластинками (NaCl или KBr), прозрачными для инфракрасного излучения.

#### **Газы**

Газы исследуют в кювете, прозрачной для инфракрасного излучения, с длиной оптического пути около 100 мм. Откачивают воздух из кюветы и заполняют анализируемым газом через кран или при помощи игольчатого клапана.

Если необходимо, доводят давление в кювете до атмосферного, используя газ, прозрачный для инфракрасного излучения (например, азот или аргон). Для исключения помех, связанных с поглощением воды, углерода диоксида или других атмосферных газов, в канал сравнения помещают идентичную кювету, которая либо вакуумирована, либо заполнена газом, прозрачным для инфракрасного излучения.

Для записи спектра по **методу нарушенного полного внутреннего отражения**подготовку образца проводят одним из способов.

Растворы. Вещество растворяют в соответствующем растворителе, соблюдая условия, приведенные в фармакопейной статье. Раствор испаряют на поверхности внутреннего элемента отражения, который обычно изготавливают из кристалла бромида йодида таллия (KRS-5), германия или другого минерала с большим показателем преломления.

Твердые вещества. Вещество помещают на поверхность внутреннего элемента отражения таким образом, чтобы достичь как можно более плотного и полного контакта со всей поверхностью кристалла (обычно подготовку таких образцов проводят под давлением).

Подготовка образцов для **спектрометрии в инфракрасной области диффузного отражения**: испытуемое вещество растирают с тщательно измельченным и высушенным калия бромидом или калия хлоридом. Если не указано иначе в фармакопейной статье, содержание испытуемого вещества в полученной смеси должно составлять около 5 %. Смесь тщательно перетирают и регистрируют спектр.

## **Идентификация с использованием стандартных образцов**

Образец испытуемого вещества и стандартный образец готовят по одной и той же методике и записывают спектры, если не указано иначе в фармакопейной статье, в области от 4000 до 650 см-1, в некоторых случаях до 200 см-1, в одних и тех же условиях. Полосы поглощения в спектре испытуемого образца должны соответствовать по положению полосам поглощения в спектре стандартного образца. Под полосами поглощения подразумевают минимумы пропускания и максимумы поглощения.

Если спектры, полученные в твердом состоянии, показывают различия в положении полос поглощения, то испытуемую субстанцию и стандартный образец обрабатывают одним и тем же способом так, чтобы они кристаллизовались или получались в одной и той же форме, или обрабатывают способом, указанным в фармакопейной статье, а затем снимают спектры.

## **Идентификация с использованием эталонных спектров**

Контроль разрешающей способности. Записывают спектр пленки полистирола толщиной 0,04 мм. Разность х (рисунок) между процентом пропускания при максимуме пропускания А при 2870 см-1 (3,48 мкм) и минимуме пропускания В при 2849,5 см-1 (3,51 мкм) должна быть больше 18. Разность y между процентом пропускания при максимуме пропускания С при 1589 см-1 (6,29 мкм) и минимуме пропускания D при 1583 см-1(6,32 мкм) должна быть больше 10.

Контроль разрешающей способности ИК-спектрометров с Фурье-преобразованием проводят в соответствии с рекомендациями производителя прибора.

Проверка шкалы волновых чисел. Шкала волновых чисел может быть проверена с помощью пленки полистирола, которая имеет минимум пропускания (максимум поглощения) при волновых числах (в см-1), приведенных в таблице.

Методика. Субстанцию готовят к испытанию в соответствии с инструкцией, прилагаемой к эталонному спектру. Используя условия, при которых проводилась проверка разрешающей способности, записывают спектр испытуемого образца и на него накладывают полосы полистирола при 2849,5 см-1 (3,51 мкм), 1601,2 см-1 (6,25 мкм) и 1028,3 см-1 (9,72 мкм). Сравнивают два спектра (эталонный и спектр испытуемой субстанции) и полосы полистирола, указанные выше. При использовании положения полос полистирола в качестве стандартных величин, положения значимых полос в спектре испытуемой субстанции и в эталонном спектре должны соответствовать друг другу в пределах 0,5 % от шкалы волновых чисел. Относительная величина полос обоих спектров должна согласовываться между собой.

1. **Соединения s-элементов I, II группы периодической системы: кальция хлорид, кальция сульфат, магния оксид, магния сульфат. Особенности анализа.**

**Соединения магния**

Наиболее широко распространены в природе карбонаты магния. Они содержатся в минералах: доломит (MgCO3 · CaCO3) и магнезит (MgCO3). Mагний также входит в состав силикатов, например талька (3 MgO · 4 SiO2 · H2O).

Ионы магния по физиологическому действию являются антагонистами ионов кальция. Соли Mg вызывают наркоз и паралич, а соли Ca снимают эти явления. И, наоборот, действие оказываемое соединениями Ca, снимается солями Mg.

|  |  |
| --- | --- |
| **MgO** | **Магния оксид**Magnesii oxydum  |

**Описание. Растворимость.** Белый мелкий легкий порошок, без запаха. Практически нерастворим в воде и в этаноле, растворим в разведенных кислотах. При настаивании с водой образует водные растворы слабощелочной реакции: MgO + H2O → Mg(OH)2

|  |  |
| --- | --- |
| **MgSO4 ∙ 7 H2O**  |  **Магния сульфат**Magnesii sulfas  |

**Описание. Растворимость.** Бесцветные призматические кристаллы или белый кристаллический порошок, выветривается на воздухе, горько-соленого вкуса. Легко растворим в воде, очень легко – в кипящей воде, практически нерастворим в спирте.

**Получение**

**MgO:** 1) Получают обработкой природных рассолов известковым молоком - Ca(OH)2:

MgCl2 + Ca(OH)2 → Mg(OH)2↓ + CaCl2

При прокаливании при 500о С магния гидроксид образует оксид:

 Mg(OH)2→ MgO + H2O

2) Другим способом можно получить препарат прокаливанием основного карбоната магния: 3 MgCO3 ∙ Mg(OH)2 ∙ 3 H2O → 4 MgO + 3 CO2 ↑ + 4 H2O

**MgSO4:** получают из магнезита: MgCO3 + H2SO4 → MgSO4 + CO2 ↑ + H2O

**Подлинность**

Для проведения реакций подлинности магния оксид растворяют в разведенных кислотах:

MgO + 2 HCl → MgCl2 + H2O

Качественный анализ соединений магний заключается в подтверждении магний-иона и соответствующего аниона соли.

**Mg2+**: 1) MgCl2 + Na2HPO4 + NH4OH + NH4Cl → MgNH4PO4 ↓ + 2 NaCl + H2O

 белый

NH4Cl добавляют чтобы не образовывался аморфный осадок Mg(OH)2, однако избыток NH4Cl препятствует образованию осадка фосфата магния аммония.

2) Препарат с 8-оксихинолином в присутствии аммиачного буфера образует желто-зеленый осадок.

**SO42-:** MgSO4 + BaCl2 → BaSO4 ↓ + MgCl2

 белый

**Доброкачественность**

В природных минералах магний сопровождается другими элементами: Ca2+, Ba2+, а также Fe.

**MgO**: допустимы: Cl-, SO42-, Ca2+, т.м., Fe, As;

* карбонаты щелочных металлов определяют после нагревания раствора препарата. Затем фильтрат титруют 0,05 н раствором HCl по фенолфталеину; должно уйти не более 1,3 мл титранта.
* растворимые соли определяют выпариванием фильтрата. Остаток д.б. не более 1,25 %.

**MgSO4**: допустимы: Cl-, т.м., Fe, As;

* Mn2+: к препарату + H2SO4 к. + 0,1 н AgNO3 (катализатор) и кипятят. Далее добавляют персульфат аммония и продолжают кипятить. Параллельно ставят контрольный опыт с 0,01 н KMnO4 и H2SO4 к. Сравнивают окраску на белом фоне по оси пробирок.

В испытуемом растворе: Mn2+ + (NH4)2S2O8 + H2SO4 к. → HMnO4 + (NH4)2SO4

В контрольном опыте: H2O + 2 KMnO4 + H2SO4 к. → 2 HMnO4 + K2SO4

В препарате допускается примеси марганца не более 0,0004 %. В инъекционных растворах примесь марганца не допускается.

**Количественное определение**

1. *Комплексонометрия*. Метод основан на образовании прочных, растворимых в воде комплексов ионов магния с титрованным раствором трилона Б – динатриевой солью этилендиаминтетрауксусной кислоты.

 CH2COONa CH2COONa

‘CH2− N CH2− N

 CH2COOH CH2COO

CH2COOH + MgSO4 → CH2COO Mg +H2SO4

 CH2− N CH2− N

CH2COONa CH2COONa

Э = М/2.

Индикатор КХТС или КХЧС. Из этих индикаторов КХЧС более чувствительный, но он неустойчив в растворах, поэтому его чаще применяют в виде кристаллов в смеси с NaCl 1:100. КХТС более устойчив в растворах, а по чувствительности не уступает КХЧС. Индикаторы взаимодействуют с Mg2+ при pH 9-10. Так как при титровании выделяется H2SO4, то pH раствора может сдвинуться, поэтому и необходимо добавлять аммиачный буфер до pH 7-11.

Титрование прямое. После прибавления индикатора КХЧС, сначала образуется менее прочное соединение Mg ∙ Ind красно-фиолетового цвета окрашивание, затем при титровании образуется более прочный комплекс Mg · Тр.Б, а в точке эквивалентности свободный индикатор окрасит раствор в синий цвет. Mg2+ + HInd → Mg · Ind + H+

 Mg2+ + Тр.Б → Тр.Б **.** Mg + 2 H+

В точке эквивалентности: Mg · Ind + Тр.Б → Тр.Б **.** Mg + HInd

**КХЧС:** 1-[(1′гидроксил-2′-нафтил)-азо]-6-нитро-2-нафтол-4-сульфокислоты натриевая соль

2) *Гравиметрия*. Препарат осаждают Na2HPO4 или 8-оксихинолином, осадок сушат, прокаливают и взвешивают.

**Применение, хранение**

Хранят магния оксид в хорошо укупоренной таре, так как: MgO + CO2 → MgCO3

 MgO + H2O → Mg(OH)2

А сульфат магния теряет кристаллизационную воду. Магния оксид применяют в малых дозах как антацидное средство, а в больших – как слабительное. Магния сульфат проявляет слабительный эффект в дозах 10-30 г. При парентеральном введении 20-25 % растворов MgSO4 оказывает успокаивающее действие на ЦНС, противосудорожное, спазмолитическое, гипотензивное действие. Может применяться внутрь как желчегонное средство в виде 20-25 %-ных растворов. Большие дозы MgSO4 при парентеральном введении вызывают снотворный эффект, наркотическое состояние и даже может вызвать угнетение дыхания. В этих случаях применяют внутривенно 10% раствор CaCl2.

 Препарат MgSO4 высушеный (MgSO4 · H2O) Magnesii sulfas exsiccatus применяют, если соль прописана для порошков.

**Cоединения кальция**

 Кальций встречается в природе лишь в связанном состоянии. Например: CaCO3 – это мел, известняк, мрамор, CaSO4· 2 H2O - гипс, Ca5F(PO4)3 - апатит. Все эти соединения, особенно карбонаты, являются источником получения медицинских препаратов.

Для этой цели чаще используют мрамор, как более чистый материал, свободный от примесей.

|  |  |
| --- | --- |
| **CaCl2 · 6 H2O**  | **Кальция хлорид**Calcii chloridum  |

**Описание. Растворимость.** Бесцветные призматические кристаллы без запаха, горько-соленого вкуса, очень гигроскопичные, расплавляются на воздухе, переходя при 340 С в дигидрат. Очень легко растворим в воде, легко растворим в спирте. Растворы нейтральной реакции. При растворении сильно охлаждают растворы.

|  |  |
| --- | --- |
|  **CaSO4 · ½ H2O** **2 CaSO4 · H2O**  | **Кальция сульфат жженый,** гипс жженыйCalcii sulfas ustus  |

**Описание. Растворимость.** Сухой мелкий аморфный порошок белого или слегка сероватого цвета, растворим в воде в соотношении 1:600. Водные растворы нейтральной реакции. При смачивании водой вновь образуют дигидрат, затвердевший в твердую массу.

**Получение**

**CaCl2**: получают действием на мрамор раствора HCl, затем очищают препарат от примесей – солей магния и железа: CaCO3 + 2 HCl → CaCl2 + CO2↑ + H2O

Примеси солей Mg2+ и Fe3+ осаждают Ca(OH)2, отфильтровывают, аизбыток Ca(OH)2 нейтрализуют HCl. Раствор CaCl2 упаривают и выкристаллизовывается CaCl2 · 6H2O.

**CаSO4**: получают из природного гипса CaSO4 · 2 H2O обжигом в специальных печах при 130-1500 С до потери полутора молекул кристаллизационной воды, т.е. до CaSO4 · ½ H2O.

 **Подлинность**

При температуре до 2000 С CaCl2 · 6H2O теряет часть своей кристаллизационной воды и превращается в CaCl2 · 2 H2O, который на воздухе еще больше поглощает воду и расплавляется. По внешнему виду CaCl2 · 2 H2O представляет собой пористые очень легкие куски. При нагревании до 8000 С вещество полностью теряет кристаллическую воду.

Подлинность препаратов подтверждают по иону Ca2+, Cl- -иону, SO42- -иону.

**Ca2+:** 1) Кристаллы вещества внесенные в бесцветное пламя горелки, окрашивают его в кирпично-красный цвет.

2) Проводят реакцию с оксалатом аммония в нейтральной или уксуснокислой среде:

CaCl2 + (NH4)2C2O4 + CH3COOH → CaC2O4↓ + 2 NH4Cl

 белый

1. С натрия сульфатом соли кальция образуют белый осадок кальция сульфата:

 CaCl2 + 2 Na2SO4 → CaSO4↓ + 2 NaCl

 белый

**Cl-:** CaCl2 + 2 AgNO3 + HNO3 разв.→ 2 AgCl↓ + Сa(NO3)2

 белый

**SO42-:** CaSO4 + BaCl2 + HClр. → BaSO4↓ + CaCl2

 белый

**Доброкачественность**

**CaCl2:** 1) допускаются: SO42-, т.м., Fe, As.

* Соли Mg и щелочных металлов определяют после осаждения препарата (NH4)2C2O4 в присутствии аммиачного буфера, затем осадок отфильтровывают. К фильтрату прибавляют H2SO4 к., выпаривают до удаления NH4+, прокаливают до постоянного веса, остаток не должен превышать 0,5 %.

 2) недопускаются: Zn2+.

* вещества не растворимые в 95 % спирте (раствор должен быть бесцветным и прозрачным).
* Ba2+ : к препарату прибавляют CaSO4; в течение 1 часа не должно быть мути;
* Fe, Al, фосфаты: открывают добавлением NH4OH, раствора фенолфталеина до розового окрашивания и NH4Cl; не должно быть белой мути.

**CaSO4**: 1) Смешивают 5 ч H2O + 10 ч препарата; не должно быть запаха H2S↑;

2) Гипс должен затвердевать не ранее 4 минут и не позднее 10 минут после смешивания с водой в соотношении 10 : 5.

3) При просеивании через сито со стороной отверстия 0,75 мм остатка не должно быть, а через сито с отверстиями 0,20 мм допускается остаток не более 8 %.

**Количественное определение**

**Ca2+:** 1)*Гравиметрия* – метод основан на осаждении ионов кальция (NH4)2C2O4.

 2) *Комплексонометрия,* прямое титрование трилоном Б в среде аммиачного буфера. Метод основан на способности ионов кальция образовывать комплексы с трилоном Б. **КХТС:** 2-(2’-гидрокси-5’-хлорфенилазо)-1,8-дигидроксинафталин-3,6-дисульфокислоты динатриевая соль; среда аммиачный буфер.

**Кальконкарбоновая кислота:** 3-гидрокси-4-(2’-гидрокси-4’-сульфо-1’-нафтилазо)-2-нафтойная кислота; среда сильнощелочная – NaOH (рН 12-14). Индикатор добавляют только в конце титрования, так как он устойчив только в щелочной среде.

* **Ксиленоловый оранжевый:** 3,3’-бис- [N,N- ди(карбоксиметил) аминометил] -о- крезол- сульфофталеина тетранатриевая соль; среда кислая ацетатный буфер (рН 2-6).
* **Пирокатехиновый фиолетовый:** среда кислая ацетатный буфер.

3)*ФЭК* – метод основан на цветных реакциях комплексообразования ионов Ca2+ с органическими веществами.

**Cl- :** 1) *Аргентометрия*, метод основан на осаждении хлорид-ионов нитратом серебра.

CaCl2 + 2 AgNO3 → 2 AgCl↓ + Ca(NO3)2 Э = М/2

2) *Меркуриметрия,* метод основан на осаждении хлорид-ионов нитратом ртути, индикатор – дифенилкарбазон: CaCl2 + Hg(NO3)2 → HgCl2 + Ca(NO3)2 Э=М

**Применение, хранение**

 Ввиду крайней гигроскопичности CaCl2 · 6H2O и способности его расплываться под влиянием влаги в аптеках готовят его 50 % раствор, а из него готовят необходимые лекарства. Хлорид кальция хранят в хорошо укупоренной таре, небольшого размера, с пробками залитыми парафином, в сухом месте. Гипс хранят также в хорошо укупоренной таре из стекла или в жестяных банках. Хлорид кальция применяют как кровоостанавливающее средство, для повышения свертываемости крови в хирургической практике, при аллергических заболеваниях для снятия зуда, в качестве противоядия при отравлении солями магния. Принимают внутрь в виде 5-10 % растворов и в/в – 10 % растворы. Гипс жженный применяют в хирургической практике для наложения фиксирующих повязок при переломах костей и в стоматологической практике.

Билет 2

**1.Фармацевтический анализ как составная часть фармацевтической химии. Особенности фармацевтического анализа. Виды фармацевтического анализа.**

Фармацевтический анализ – это один из основных разделов фармацевтической химии о химической характеристи­ке БАВ на всех этапах произ­водства: начиная с контроля сырья, оценки качества полученного лекарст­венного вещества, изучения его стабильности, установления сроков годности и до стандартизации готовой лекарственной формы.

Фармацев­тический анализ имеет свои специфические особенности:

* Анализу подвергают вещества различной химической природы: неорга­нические, элементорганические, радиоактивные, органические соедине­ния (от простых алифатических до сложных природных БАВ).
* Чрезвычайно широк диапазон концентраций анали­зируемых веществ.
* Объектами фармацевтического анализа являются не только индивидуальные лекарственные вещества, но и смеси, содер­жащие различное число компонентов.
* 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 чувствительных физико-химических методов для оценки качества лекарств.

Фармацевтический анализ в зависимости от поставленных задач включает различные формы контроля качества лекарств:

1. Фармакопейный анализ.
2. Постадийный контроль производства лекарственных средств.
3. Анализ лекарственных форм индивидуального изготовления.
4. Анализ в условиях аптеки.
5. Биофармацевтический анализ.

Составной частью фармацевтического анализа является *фармакопейный анализ* – это совокупность способов исследования лекарственных препаратов и лекарственных форм, изложенных в НД. На основании результатов фармакопейного анализа, делается заключение о соответствии лекарственного средства требованиям НД. При отклонении от этих требований лекарство к применению не допускается.

Выполнение фармакопейного анализа позволяет установить подлинность лекарственного средства, его чистоту, определить количественное содержание фармакологически активного вещества.

2. **Газовая хроматография, высокоэффективная жидкостная хроматография. Сущность. Применение в фармацевтическом анализе.**

Газовая хроматография – это метод разделения летучих соединений, основанный на различии в распределении компонентов анализируемой смеси в системе несмешивающихся и движущихся относительно друг друга фаз, где в качестве подвижной фазы выступает газ (газ-носитель), а в качестве неподвижной фазы — твердый сорбент или жидкость, нанесенная на твердый носитель или внутренние стенки колонки.

## **Область применения**

В фармацевтическом анализе газовая хроматография используется для оценки чистоты, установления подлинности и количественного определения лекарственных средств в тестах «Посторонние примеси», «Однородность дозирования», «Растворение», «Количественное определение», «Остаточные органические растворители» и др.

## **Оборудование**

Газовый хроматограф состоит из устройства ввода пробы (инжектора), термостата с хроматографической колонкой, детектора и системы сбора и обработки данных. Газ-носитель из баллона под давлением проходит через устройство ввода пробы, колонку, а затем через детектор.

Хроматографирование проводится при постоянной температуре или в соответствии с заданной температурной программой.

### Устройство ввода пробы

Ввод жидкой пробы осуществляется с помощью шприца, как непосредственно в колонку, так и в испарительную камеру, которая может быть оснащена делителем потока.

Ввод газовой фазы осуществляется с помощью оборудования для статического или динамического парофазного анализа. Парофазный анализ (head-space) позволяет повысить чувствительность определения летучих соединений.

В  статическом парофазном  анализе  в термостатируемую камеру помещается  герметично закрытый сосуд, содержащий твердый или жидкий образец пробы, и нагревается в течение определенного периода времени для достижения равновесия между двумя  фазами.  После  достижения  равновесия  из  сосуда  отбирается определенный  объем  газовой  фазы  и  вводится  в  испаритель хроматографа.

В динамическом парофазном анализе (стриппинг) через образец пробы в течение определенного времени пропускается  инертный  газ. Летучие  компоненты  выдуваются  из  образца  пробы и концентрируются на сорбенте, находящемся в ловушке. После этого ловушка быстро нагревается, и  летучие  компоненты  переносятся  потоком  инертного  газа  в  хроматографическую колонку.

### Колонки

Используются несколько типов аналитических колонок: насадочные (набивные), микронасадочные, капиллярные, поликапиллярные.

Насадочные колонки изготавливаются из металла (нержавеющая сталь), стекла, фторопласта, которым придается спиральная форма. Внутренний диаметр насадочных колонок составляет от 2 до 4 мм, а длина – от 0,5 до 4-5 м.

Скорость газа-носителя может устанавливаться в пределах от 10 до 60 мл/мин.

Микронасадочные колонки отличаются от насадочных колонок только диаметром трубок, равным 0,5-1,0 мм. Длина таких колонок обычно от 0,5 до 2 м.

Капиллярные колонки изготавливаются из плавленого кварца или металла. Внутренний диаметр составляет от 0,10 мм до 0,53 мм, длина от 5 м до 200 м, толщина неподвижной жидкой фазы от 0,1 мкм до 5,0 мкм

Скорость газа-носителя  может устанавливаться в пределах от 1 до 5 мл/мин.

Поликапиллярные колонки представляют собой пакеты параллельно работающих капилляров,  внутренний диаметр которых составляет около 40 мкм, длина до 1м, общим числом до 1000 и более.

### Неподвижные фазы

Газовую хроматографию можно подразделить на два вида: газоадсорбционную и газожидкостную хроматографии. В фармацевтическом анализе наибольшее распространение находит газожидкостная хроматография.

В газоадсорбционной хроматографии в качестве сорбентов (адсорбентов) используются неорганические (силикагель – Сферосил, Порасил, Силихром и др.; графитированная термическая сажа – Карбопак С и В, Карбосив, Карбосфер; молекулярные сита – алюмосиликаты натрия и кальция) и полимерные пористые сорбенты.

В газожидкостной хроматографии неподвижная фаза (абсорбент) представляет собой жидкость, нанесенную на твердый носитель. Носитель – относительно инертный адсорбент с низкой удельной поверхностью, на которой должна удерживаться неподвижная фаза в виде пленки равномерной толщины. Применяют минеральные и полимерные носители. Большинство минеральных носителей представляют собой переработанные диатомиты. Обычно используются носители с размерами частиц в интервалах от 125 до 150 мкм или от 150 до 180 мкм.

В капиллярных колонках слой сорбента наносится на внутреннюю поверхность капилляра в виде слоя жидкой неподвижной фазы или в виде слоя адсорбента, роль которого чаще всего выполняет полимерная пленка.

### Подвижная фаза

В качестве подвижной фазы используются азот, гелий, аргон или водород. Эти газы-носители могут подаваться в систему либо из баллонов, либо из газогенераторов, позволяющих получать газ высокой чистоты.

### Детекторы

Для газовой хроматографии предложено большое количество детекторов: пламенно-ионизационный детектор (ПИД), детектор по теплопроводности (катарометр), термоионный (ТИД), электронно-захватный (ЭЗД), масс-спектрометрический и др.

Выбор детектора определяется основными характеристиками (чувствительность, предел детектирования, линейность, быстродействие и селективность), которые в наибольшей степени соответствуют цели анализа и условиям его проведения.

В силу универсальности, превосходных характеристик и высоких эксплуатационных качеств, наибольшее распространение в анализе лекарственных средств получили пламенно-ионизационный детектор и детектор по теплопроводности.

## **Метод**

Анализ в газовой хроматографии проводится в соответствии с установленными параметрами хроматографической системы. Совокупность этих параметров называется методом.

В описании метода должны быть указаны: тип детектора, тип колонки (насадочная или капиллярная), материал и геометрические параметры колонки, сорбент (тип твердого носителя и его характеристики, неподвижная жидкая фаза и ее количество), метод введения пробы и его параметры, температура испарителя, колонки и детектора, газ-носитель и его расход.

Оценка хроматографического разделения проводится на основании теста пригодности хроматографической системы приведенного в фармакопейной статье.

Для достижения соответствия требованиям пригодности хроматографической системы возможно изменение некоторых параметров в установленных пределах, указанных в [ОФС «Хроматография»](http://pharmacopoeia.ru/ofs-1-2-1-2-0001-15-hromatografiya/).

Высокоэффективная жидкостная хроматография (жидкостная хроматография высокого давления) – это метод колоночной хроматографии, в котором подвижной фазой служит жидкость, движущаяся через хроматографическую колонку, заполненную неподвижной фазой (сорбентом). Колонки для высокоэффективной жидкостной хроматографии характеризуются высоким гидравлическим сопротивлением на входе.

В зависимости от механизма разделения веществ различают следующие варианты высокоэффективной жидкостной хроматографии: адсорбционную, распределительную, ионообменную, эксклюзионную, хиральную и др. в соответствии с характером основных проявляющихся межмолекулярных взаимодействий. В адсорбционной хроматографии разделение веществ происходит за счет их различной способности адсорбироваться и десорбироваться с поверхности сорбента с развитой поверхностью, например, силикагеля. В распределительной высокоэффективной жидкостной хроматографии разделение происходит за счет различия коэффициентов распределения разделяемых веществ между неподвижной (как правило, химически привитой к поверхности неподвижного носителя) и подвижной фазами.

В зависимости от типа подвижной и неподвижной фазы различают нормально-фазовую и обращенно-фазовую хроматографию. В нормально-фазовой высокоэффективной жидкостной хроматографии неподвижная фаза – полярная (чаще всего силикагель или силикагель с привитыми NH2— или CN-группами и др.), а подвижная фаза – неполярная (гексан, либо смеси гексана с более полярными органическими растворителями – хлороформом, спиртами и т.д.). Удерживание веществ растет с увеличением их полярности. В нормально-фазовой хроматографии элюирующая способность подвижной фазы увеличивается с ростом ее полярности.

В обращенно-фазовой хроматографии неподвижная фаза – неполярная (гидрофобные силикагели с привитыми группами С4, С8, С18 и др.); подвижная фаза – полярная (смеси воды и полярных растворителей: ацетонитрила, метанола, тетрагидрофурана и др.). Удерживание веществ растет с увеличением их гидрофобности (неполярности). Чем больше содержание органического растворителя, тем выше элюирующая способность подвижной фазы.

В ионообменной хроматографии молекулы веществ смеси, диссоциированные в растворе на катионы и анионы, разделяются при движении через сорбент (катионит или анионит) за счет  различной силы взаимодействия определяемых ионов с ионными группами сорбента.

В эксклюзионной (ситовой, гель-проникающей, гель-фильтрационной) хроматографии молекулы веществ разделяются по размеру за счет их разной способности проникать в поры неподвижной фазы. При этом первыми из колонки выходят наиболее крупные молекулы, способные проникать в минимальное число пор неподвижной фазы, а последними выходят вещества с малыми размерами молекул.

В хиральной хроматографии происходит разделение  оптически активных соединений на отдельные энантиомеры. Разделение может осуществляется на хиральных неподвижных фазах или на ахиральных неподвижных фазах с использованием хиральных подвижных фаз.

Существуют и другие варианты высокоэффективной жидкостной хроматографии.

часто разделение протекает не по одному, а по нескольким механизмам одновременно, в зависимости от типа подвижной и неподвижной фаз, а также природы определяемого соединения.

## **Область применения**

Высокоэффективная жидкостная хроматография успешно применяется как для качественного, так и для количественного анализа лекарственных средств в испытаниях «Подлинность», «Посторонние примеси», «Растворение», «Однородность дозирования», «Количественное определение». Следует отметить, что хроматография позволяет совмещать в одной пробе несколько испытаний, в том числе «Подлинность» и «Количественное определение».

## **Оборудование**

Для проведения анализа используют соответствующие приборы – жидкостные хроматографы.

В состав жидкостного хроматографа обычно входят следующие основные узлы:

—        узел подготовки подвижной фазы, включая емкость с подвижной фазой (или емкости с отдельными растворителями, входящими в состав подвижной фазы) и систему дегазации подвижной фазы;

—        насосная система;

—        смеситель подвижной фазы (при необходимости);

—        система ввода пробы (инжектор), может быть ручным или автоматическим (автосамплер);

—        хроматографическая колонка (может быть установлена в термостате);

—        детектор (один или несколько с разными способами детектирования);

—        система управления хроматографом, сбора и обработки данных.

Помимо этого в состав хроматографа могут входить: система пробоподготовки и предколоночный реактор, система переключения колонок,  постколоночный реактор и другое оборудование.

### Насосная система

Насосы обеспечивают подачу подвижной фазы в колонку с заданной скоростью. Состав подвижной фазы и скорость потока могут быть постоянными или меняющимся во время анализа. В случае постоянного состава подвижной фазы процесс называют изократическим, а во втором – градиентным. Современная насосная система жидкостного хроматографа состоит из одного или нескольких насосов, управляемых компьютером. Это позволяет менять состав подвижной фазы по определенной программе при градиентном элюировании. Насосы для аналитической высокоэффективной жидкостной хроматографии позволяют поддерживать скорость подачи подвижной фазы в колонку в интервале от 0,1 до 10 мл/мин при давлении на входе в колонку до 40 МПа. Пульсации давления минимизируются специальными демпферными системами, входящими в конструкцию насосов. Рабочие детали насосов изготавливаются из коррозионностойких материалов, что позволяет использовать в составе подвижной фазы агрессивные компоненты.

### Смесители

В смесителе происходит образование единой подвижной фазы из отдельных растворителей, подаваемых насосами, если необходимая смесь не была приготовлена заранее. Смешение компонентов подвижной фазы в смесителе может происходить как при низком давлении (до насосов), так и при высоком давлении (после насосов). Смеситель можно использовать для подготовки подвижной фазы и при изократическом элюировании.

Объем смесителя может влиять на время удерживания компонентов при градиентном элюировании.

### Инжекторы

Инжекторы могут быть универсальными, с возможностью изменения объема вводимой пробы, или дискретными для ввода пробы только определенного объема. Оба типа инжекторов могут быть автоматическими («автоинжекторы» или «автосэмплеры»). Инжектор для ввода пробы (раствора) расположен непосредственно перед хроматографической колонкой. Конструкция инжектора позволяет изменять направление потока подвижной фазы и осуществлять предварительное введение пробы в петлю-дозатор определенного объема (обычно от 10 до 100 мкл) или в специальное дозирующее устройство переменного объема. Объем петли указан на ее маркировке. Конструкция дискретного инжектора, как правило, позволяет осуществлять замену петли. Современные автоматические инжекторы могут обладать рядом дополнительных функций, например, выполнять функцию станции пробоподготовки: осуществлять смешение и разбавление образцов, проводить реакцию предколоночной дериватизации.

### Хроматографическая колонка

Хроматографические колонки обычно представляют собой трубки из нержавеющей стали, стекла или пластика, заполненные сорбентом и закрытые с обеих сторон фильтрами с диаметром пор 2–5 мкм. Длина аналитической колонки может находиться в диапазоне от 5 до 60 см и более, внутренний диаметр – от 2 до 10 мм. Колонки с внутренним диаметром менее 2 мм используются в микроколоночной хроматографии. Существуют также капиллярные колонки с внутренним диаметром около 0,3–0,7 мм. Колонки для препаративной хроматографии могут иметь внутренний диаметр 50 мм и более.

Перед аналитической колонкой могут устанавливаться короткие колонки (предколонки), выполняющие различные вспомогательные функции, основная из которых — защита аналитической колонки. Обычно анализ проводят при комнатной температуре, однако для увеличения эффективности разделения и сокращения продолжительности анализа может быть использовано термостатирование колонок при температурах до 80 — 100 °С. Возможность использования повышенной температуры при разделении ограничивается стабильностью неподвижной фазы, поскольку при повышенных температурах возможна ее деструкция.

### Неподвижная фаза (сорбент)

В качестве сорбентов обычно применяются:

* силикагель, оксид алюминия, используются в нормально-фазовой хроматографии. Механизм удерживания в данном случае – обычно адсорбция;
* силикагель, смолы или полимеры с привитыми кислотными или основными группами. Область применения – ионообменная и ионная хроматография;
* силикагель или полимеры с заданным распределением размеров пор (эксклюзионная хроматография);
* химически модифицированные сорбенты (сорбенты с привитыми фазами), приготовленные чаще всего на основе силикагеля. Механизм удерживания ‑ адсорбция или распределение между подвижной и неподвижной фазами. Область применения зависит от типа привитых функциональных групп. Некоторые типы сорбентов могут использоваться как в обращенной, так и в нормально фазовой хроматографии;
* химически модифицированные хиральные сорбенты, например, производные целлюлозы и амилозы, протеины и пептиды, циклодекстрины, хитозаны, используемые для разделения энантиомеров (хиральная хроматография).

Сорбенты с привитыми фазами могут иметь различную степень химической модификации. В качестве привитых фаз наиболее часто применяются:

–       октадецильные группы [Si-(CH2)17-CH3] (сорбент октадецилсилан (ODS) или С18);

–       октильные группы [Si-(CH2)7-CH3] (сорбент октилсилан или С8);

–       фенильные группы [Si-(CH2)n-(C6H5)] (сорбент фенилсилан);

–       цианопропильные группы [Si-(CH2)3-CN] (сорбент CN);

–       аминопропильные группы [Si-(CH2)3-NH2] (сорбент NH2);

–       диольные группы [Si-(CH2)3-OCH(OH)-CH2-OH] (сорбент диол).

Наиболее часто анализ выполняют на неполярных привитых фазах в обращенно-фазовом режиме с применением сорбента С18.

Сорбенты с привитыми фазами, полученные на основе силикагеля, химически устойчивы при значениях pH от 2,0 до 7,0, если другое специально не оговаривается производителем. Частицы сорбента могут иметь сферическую или неправильную форму и разнообразную пористость. Размер частиц сорбента в аналитической высокоэффективной жидкостной хроматографии обычно составляет 3–10 мкм, в препаративной высокоэффективной жидкостной хроматографии –  50 мкм и более. Существуют также монолитные колонки, в которых сорбент представляет собой монолит со сквозными порами, заполняющий весь объем колонки.

Высокая эффективность разделения обеспечивается высокой площадью поверхности частиц сорбента (которая является следствием их микроскопических размеров и наличия пор), а также равномерностью состава сорбента и плотной и равномерной его упаковкой.

### Детекторы

В высокоэффективной жидкостной хроматографии используются различные способы детектирования. В общем случае подвижная фаза с растворенными в ней компонентами после хроматографической колонки попадает в ячейку детектора, где непрерывно измеряется то или иное ее свойство (поглощение в ультрафиолетовой или видимой области спектра, флуоресценция, показатель преломления, электропроводность и др.). Полученная при этом хроматограмма представляет собой график зависимости некоторого физического или физико-химического параметра подвижной фазы от времени.

Наиболее распространенными детекторами в высокоэффективной жидкостной хроматографии являются спектрофотометрические. В процессе элюирования веществ в специально сконструированной микрокювете измеряется оптическая плотность элюата при заранее выбранной длине волны. Широкая область линейности детектора позволяет анализировать как примеси, так и основные компоненты смеси на одной хроматограмме. Спектрофотометрический детектор позволяет проводить детектирование при любой длине волны в его рабочем диапазоне (как правило, 190-600 нм). Применяются также мультиволновые детекторы, позволяющие проводить детектирование при нескольких длинах волн одновременно и детекторы на диодной матрице, позволяющие регистрировать оптическую плотность одновременно во всем рабочем диапазоне длин волн (как правило, 190-950 нм). Это позволяет регистрировать спектры поглощения  проходящих через ячейку детектора компонентов.

Флуориметрический детектор применяется для определения флуоресцирующих соединений или не флуоресцирующих соединений в виде их флуоресцирующих производных. Принцип действия флуориметрического детектора основан на измерении флуоресцентного излучения поглощенного света. Поглощение обычно проводят в ультрафиолетовой области спектра, длины волн флуоресцентного излучения превышают длины волн поглощенного света. Флуориметрические детекторы обладают очень высокой чувствительностью и селективностью. Чувствительность флуоресцентных детекторов примерно в 1000 раз выше чувствительности спектрофотометрических. Современные флуоресцентные детекторы позволяют не только получать хроматограммы, но и регистрировать спектры возбуждения и флуоресценции анализируемых соединений.

Для определения соединений, слабо поглощающих в ультрафиолетовой и видимой областях спектра (например углеводов), используют **рефрактометрические** детекторы (рефрактометры). Недостатки этих детекторов – их низкая (по сравнению со спектрофотометрическими детекторами) чувствительность и значительная температурная зависимость интенсивности сигнала (детектор необходимо термостатировать), а также невозможность их использование в режиме градиентного элюирования.

Принцип работы **испарительных детекторов лазерного светового рассеяния**основан на различии давлений паров хроматографических растворителей, входящих в состав подвижной фазы, и анализируемых веществ. Подвижная фаза на выходе из колонки вводится в распылитель, смешивается с азотом или СО2и в виде мелкодисперсного аэрозоля попадает в обогреваемую испарительную трубку с температурой 30 – 160 °С, в которой подвижная фаза испаряется. Аэрозоль из нелетучих частиц анализируемых веществ рассеивает световой поток в камере рассеивания. По степени рассеивания светового потока можно судить о количестве определяемого соединения. Детектор более чувствителен, чем рефрактометрический, его сигнал не зависит от оптических свойств пробы, от типа функциональных групп в определяемых веществах, от состава подвижной фазы и может быть использован в режиме градиентного элюирования.

Электрохимические детекторы (кондуктометрические, амперометрические, кулонометрические и др.). Амперометрический детектор применяют для определения электроактивных соединений, которые могут быть окислены или восстановлены на поверхности твердого электрода. Аналитическим сигналом является величина тока окисления или восстановления. В ячейке детектора имеется по крайне мере два электрода – рабочий и электрод сравнения (хлоридсеребрянный или стальной). К электродам прикладывается рабочий потенциал, величина которого зависит от природы определяемых соединений. Измерения могут проводиться как при постоянном потенциале, так и в импульсном режиме, когда задается профиль изменения потенциала рабочего электрода в течении одного цикла регистрации сигнала. В амперометрическом детекторе используют рабочие электроды из углеродных материалов (наиболее часто стеклоуглеродный или графитовый), и металлические: платиновый, золотой, медный, никелевый.

Кондуктометрический детектор используют для детектирования анионов и катионов в ионной хроматографии. Принцип его работы основан на измерении электропроводности подвижной фазы в процессе элюирования вещества.

Исключительно информативным является масс-спектрометрический детектор, который обладает высокой чувствительностью и селективностью. Последние модели масс-спектрометров для жидкостной хроматографии работают в диапазоне масс m/z от 20 до 4000 а.е.м.

В высокоэффективной жидкостной хроматографии используются также, Фурье-ИК-детекторы, радиоактивности и некоторые другие.

### Система сбора и обработки данных

Современная система обработки данных представляет собой сопряженный с хроматографом персональный компьютер с установленным программным обеспечением, позволяющим регистрировать и обрабатывать хроматограмму, а также управлять работой хроматографа и следить за основными параметрами хроматографической системы.

### Подвижная фаза

Подвижная фаза в высокоэффективной жидкостной хроматографии выполняет двоякую функцию: обеспечивает перенос десорбированных молекул по колонке и регулирует константы равновесия, а, следовательно, и удерживание в результате взаимодействия с неподвижной фазой (сорбируясь на поверхности) и с молекулами разделяемых веществ. Таким образом, изменяя состав подвижной фазы в высокоэффективной жидкостной хроматографии можно влиять на времена удерживания соединений, селективность и эффективность их разделения.

Подвижная фаза может состоять из одного растворителя, часто из двух, при необходимости – из трех и более. Состав подвижной фазы указывают как объемное соотношение входящих в нее растворителей. В отдельных случаях может указываться массовое соотношение, что должно быть специально оговорено. В качестве компонентов подвижной фазы могут быть использованы буферные растворы с определенным значением рН, различные соли, кислоты и основания и другие модификаторы.

В нормально-фазовой хроматографии обычно применяются жидкие углеводороды (гексан, циклогексан, гептан) и другие относительно неполярные растворители с небольшими добавками полярных органических соединений, которые регулируют элюирующую силу подвижной фазы.

В обращено-фазовой хроматографии в качестве подвижной фазы используется вода или водно-органические смеси. Органическими добавками обычно служат полярные органические растворители (ацетонитрил и метанол). Для оптимизации разделения могут использоваться водные растворы с определенным значением рН, в частности буферные раствор, а также различные добавки в подвижную фазу: фосфорная и уксусная кислоты при разделении соединений кислотного характера; аммиак и алифатические амины при разделении соединений основного характера, и другие модификаторы.

На хроматографический анализ большое влияние оказывает степень чистоты подвижной фазы, поэтому предпочтительно применять растворители, выпущенные специально для жидкостной хроматографии (включая воду).

При использовании УФ-спектрофотометрического детектора подвижная фаза не должна иметь выраженного поглощения при выбранной для детектирования длине волны. Предел прозрачности или оптическая плотность при определенной длине волны растворителя конкретного изготовителя часто указывается на упаковке.

Подвижная фаза и анализируемые растворы не должны содержать нерастворившиеся частиц и пузырьки газа. Воду, полученную в лабораторных условиях, водные растворы, предварительно смешанные с водой органические растворители, а также анализируемые растворы необходимо подвергать тонкой фильтрации и дегазации. Для этих целей обычно применяют фильтрование под вакуумом через инертный по отношению к данному растворителю или раствору мембранный фильтр с размером пор 0,45 мкм

### Перечень условий хроматографирования, подлежащих указанию

В фармакопейной статье должны быть приведены: полное коммерческое наименование колонки с указанием производителя и каталожного номера, размеры колонки (длина и внутренний диаметр), типа сорбента с указанием размера частиц, размера  пор, температура колонки (если необходимо термостатирование), объем вводимой пробы (объем петли), состав подвижной фазы и способ ее приготовления, скорость подачи подвижной фазы, тип детектора и условия детектирования (при необходимости параметры используемой ячейки детектора), описание градиентного режима (если используется), включающее в себя стадию переуравновешивания к исходным условиям, время хроматографирования, подробное описание методики и формулы расчета, описания приготовления стандартных и испытуемых растворов.

В случае использования предколоночной дериватизации в автосамплере приводится информацию о программе работы автосамплера. В случае использования постколоночной дериватизации указывается скорость подачи дериватизирующего реагента, объем петли смешения и ее температура.

**Ионная хроматография** – вариант ионообменной хроматографии, в котором для детектирования определяемых соединений (ионов) используется кондуктометрический детектор. Для высокочувствительного определения изменений электропроводности проходящей через детектор подвижной фазы фоновая электропроводность подвижной фазы должна быть низкой.

Существуют два основных варианта ионной хроматографии.

Первый из них — двухколоночная ионная хроматография, основан на подавлении электропроводности электролита подвижной фазы с помощью второй ионообменной колонки или специальной мембранной системы подавления, находящейся между аналитической колонкой и детектором. При прохождении через систему электропроводность подвижной фазы снижается.

Второй вариант ионной хроматографии – одноколоночная ионная хроматография. В этом варианте используется подвижная фаза с очень низкой электропроводностью. В качестве электролитов широко применяют слабые органические кислоты: бензойную, салициловую или изофталевую.

### Эксклюзионная высокоэффективная жидкостная хроматография

Эксклюзионная хроматография (гель-хроматография) – особый вариант высокоэффективной жидкостной хроматографии, основанный на разделении молекул по их размерам. Распределение молекул между неподвижной и подвижной фазами основано на размерах молекул и частично на их форме и полярности.

Возможны два предельных типа взаимодействия молекул с пористой неподвижной фазой. Молекулы с размерами, превышающими максимальный диаметр пор, вообще не удерживаются и элюируются первыми, перемещаясь одновременно с подвижной фазой. Молекулы с размерами, меньшими чем минимальный диаметр пор сорбента, свободно проникают в поры и элюируются из колонки последними. Остальные молекулы, имеющие промежуточные размеры, удерживаются в порах частично и в ходе элюирования разделяются на фракции в соответствии со своими размерами и, частично, формой проникают в поры сорбента в зависимости от размера и частично в зависимости от своей формы. В результате вещества элюируются с различными временами удерживания.

### Ионоэксклюзионная хроматография

В основе механима ионоэксклюзионной хроматографии лежит эффект, в результате которого соединения в ионизированной форме не удерживаются на сорбенте-ионообменнике, тогда как соединения в молекулярной форме распределяются между неподвижной и водной фазами внутри пор ионообменного сорбента и подвижной фазой мигрирующее в пространстве между частицами сорбента. Разделение основано на электростатическом отталкивании, полярных и гидрофобных взаимодействиях между растворенными соединениями и сорбентом.

Анионогенные группы на поверхности сорбента действуют как полупроницаемая «мембрана» между стационарной и подвижной фазами. Отрицательно заряженные компоненты не достигают стационарной подвижной фазы, так как отталкиваются одноименно заряженными функциональными группами и элюируются в «мертвом» (свободном) объеме колонки. Компоненты в молекулярном виде не «отторгаются» катионообменным сорбентом и распределяются между стационарной и подвижной фазами. Различие в степени удерживания неионных компонентов смеси продиктовано совокупностью полярных взаимодействий неионных компонентов с функциональными группами катионообменного сорбента и гидрофобных взаимодействий неионных компонентов с неполярной матрицей сорбента.

### Хиральная хроматография

Целью хиральной хроматографии является разделение оптических изомеров. Разделение осуществляется на хиральных неподвижных фазах или на обычных ахиральных неподвижных фазах с использованием хиральных подвижных фаз. В качестве хиральных неподвижных фаз используются сорбенты с поверхностью модифицированной, группами или веществами, имеющими хиральные центры (хитозаны, циклодекстрины, полисахариды, белки и др. (хиральные селекторы). В качестве подвижных фаз в этом случае могут использоваться те же фазы, что и в нормально-фазовой или обращенно-фазовой хроматографии. При использовании ахиральных неподвижных фаз для обеспечения разделения энантиомеров в подвижные фазы добавлятся хиральные модификаторы: хиральные комплексы металлов, нейтральные хиральные лиганды, хиральные ион-парные реагенты и др.

### Ультраэффективная жидкостная хроматография

Ультраэффективная жидкостная хроматография представляет собой вариант жидкостной хроматографии, отличающийся большей эффективностью по сравнению с классической высокоэффективной жидкостной хроматографией.

Особенностью ультраэффективной жидкостной хроматографии является использование сорбентов с размером частиц от 1,5 до 2 мкм. Размеры хроматографических колонок обычно составляют от 50 до 150 мм в длину и от 1 до 4 мм в диаметре. Объем вводимой пробы может составлять от 1 до 50 мкл. Использование таких хроматографических колонок позволяет значительно уменьшить время анализа и повысить эффективность хроматографического разделения. Однако, при этом давление на колонке может достигать 80 – 120 МПа, требуемая частота сбора данных детектора может возрастать до 40-100 герц, внеколоночный объем хроматографической системы должен быть минимизирован. Хроматографическое оборудование и колонки, используемые в ультраэффективной жидкостной хроматографии специально адаптированы для выполнения требований этого вида хроматографии.

Оборудование, предназначенное для ультраэффективной жидкостной хроматографии, может использоваться и в классическом варианте высокоэффективной жидкостной хроматографии.

**3. Хлориды щелочных металлов как лекарственные средства: натрия хлорид и калия хлорид. Хлороводородная кислота как лекарственное средство. Способы получения, физические и химические свойства, контроль качества, хранение и медицинское применение.**

|  |  |
| --- | --- |
| **HСI** 24,8-25,2 % **HСI** 8,2-8,4 % | **Кислота хлористоводородная** (кислота соляная)Acidum hydrochloricum**Кислота хлористоводородная разведенная**Acidum hydrochloricum dilutum |

**Описание.** Бесцветные прозрачные жидкости со своеобразным запахом, кислой реакции. Кислота хлористоводородная – летучая жидкость.

Свойства препаратов кислоты соляной очень сходны. Они смешиваются с во­дой и спиртом во всех соотношениях. Отличаются препараты только по концент­рации и соответственно по плотности.

**Получение**

Промышленный способ получения хлороводорода – это прямой синтез из водорода и хлора. Их предварительно получают при электролизе раствора хлорида натрия:

2 NaС1 + 2 Н2О → 2 NаОН + Н2 ↑ + С12 ↑

При пропускании электрического тока на катоде и аноде происходят следую­щие процессы: NaCl ↔ Na+ + Cl- Катод Анод

 2 Na+ + 2 ê → 2 Nа 2 С1- - 2 ê → 2 С1

 2 Nа + 2 Н2О → 2 NаОН + Н2 ↑ 2 С1 → С12 ↑

Полученные водород и хлор сжигают в контактных печах, подавая в горелку одновременно оба газа: Н2  + С12  → 2 НС1

Образующийся хлороводород пропускают через поглотительные башни с водой, в которых образуется хлористоводородная кислота. Этот промышленный способ позволяет получить соляную кислоту высокой степени чистоты с концентрацией 35 – 36 % хлороводорода.

**Подлинность**

1) Идентифицируют кислоту хлористоводородную по реакции на хлорид-ион с нитратом серебра, образуется нерастворимый в воде и в растворе азотной кислоты, но растворимый в растворе аммиака осадок хлорида серебра: НС1 + AgNO3 → AgС1 ↓ + НNO3

 белый

 AgС1 + 2 NН4OН → [Ag(NН3)2]С1 + 2 Н2О

2) Кроме того, обнаружение хлорид-иона основано на выделении свободного хлора при на­гревании препаратов с окислителем - диоксидом марганца:

 4 HCl + MnO2 → С12 ↑ + MnС12 + 2 Н2О

Выделившийся хлор можно обнаружить по реакции с калия йодидом и хлороформом:

С12 + 2 KI → I2  + 2 KC1

Таким образом, хлорид-ион проявляет слабые восстановительные свойства и окисляется до молекулярного хлора при действии сильных окислителей.

3) Индикатор метилоранж окрашивается в розовый цвет при прибавлении к соляной кислоте.

**Доброкачественность**

Недопустимы:

* примесь свободного хлора, азотной и азотистой кислот (определяют по реакции с калия йодидом и хлороформом, не должно быть фиолетового окрашивания хлороформного слоя);
* кислота сернистая (определяют по реакции с йодом и крахмалом, не должно быть обесцвечивания): H2SO3 + I2 → H2SO4 + 2 HI
* SO42- , т.м., As.

Допустимо: Fe3+.

**Количественное определение**

1) Определение концентрации хлороводорода в препаратах проводят методом *нейтрализации*, титруя препараты раствором гидроксида натрия в присутствии индикатора метилового оранжевого: HCl + NаОН → NaС1 + Н2О

2) Содержание хлороводорода можно установить *аргентометрическим* методом.

3) А так же по плотности с помощью *таблиц*, при­веденных в ГФ.

**Применение, хранение**

В медицине применяют только кислоту соляную разведенную при недостаточной кислотности желудочного сока. Назначают внутрь 2 - 4 раза в день во время еды по 10 - 15 капель на 1/4 — 1/2 стакана воды. Хранят кислоту хлористоводородную в стеклянных банках с притертыми пробками, так как она летуча.

|  |  |
| --- | --- |
| **NaCl****KCl** | **Натрия хлорид** Natrii chloridum**Калия хлорид** Kalii chloridum |

**Описание. Растворимость.** Белые кристаллы или белые кристаллические порошки без запаха, соленого вкуса. Растворимы в 3 ч воды, мало растворимы в спирте. Реакция раствора нейтральная. Так как это соли сильной кислоты и сильного основания не подвергаются гидролизу.

**Получение**

1) Натрия хлорид получают из воды озер и морей выпариванием. Однако при этом остаются примеси. Очистку от них производят последовательно. Вначале раствором хлорида

бария осаждают сульфаты и фосфаты: Na2SO4 + ВаС12 → BaSO4 ↓+ 2 NаС1

 Na2HPO4 + ВаС12 → BaHPO4 ↓ + 2 NаС1

Раствор натрия хлорида отделяют от осадка, нагревают и обрабатывают избытком карбоната натрия для осаждения примесей солей магния, кальция и бария:

MgС12 + Na2CO3 → MgCO3 ↓ + 2 NaС1

CаС12 + Na2CO3 → CaCO3 ↓ + 2 NaС1

ВаС12 + Na2CO3 → BaCO3 ↓ + 2 NaС1

Раствор вновь отделяют от осадка и нейтрализуют соляной кислотой до удаления карбонатов: Na2CO3 + 2 НС1 → 2 NaС1 + СО2 ↑ + Н2О

Затем раствор упаривают до начала кристаллизации. Кристаллы отфильтровывают и высушивают, нагревая до 200° С.

2) Источники получения калия хлорида - минералы *сильвинит* КС1 **.** NаС1 или *карналлит* КС1 **.** MgCl2 **.** 6 Н2О. Из них выделяют калия хлорид методом флотации, а затем очищают.

**Качественный анализ**

Для испытания на подлинность выполняют качественные реакции на соответствующие катионы и анионы.

1) Катион натрия обнаруживают по окрашиванию бесцветного пламени в желтый цвет и по образованию зеленовато-желтого кристаллического осадка с цинкуранилацетатом в уксуснокислой среде.

2) Соли калия окрашивают бесцветное пламя горелки в фиолетовый цвет (при рассматривании через синее стекло - пурпурно-красный).

* Катион калия можно также обнаружить реакцией с винной кислотой в нейтральной или уксуснокислой среде по образованию белого кристаллического осадка:

 KCl + COOH + CH3COONa → COOK ↓ + HCl

 | |

 CHOH CHOH

 | |

 CHOH CHOH

 | |

 COOH COOH

Осадок гидротартрата калия растворяется в разбавленных минеральных кислотах и в растворах едких щелочей.

* Соли калия в уксуснокислой среде образуют с гексанитрокобальтатом натрия желтый кристаллический осадок: 2 КCl + Na3 [Co(NO2)6] → K2Na [Co(NO2)6] ↓ + 2 NaCl

3) Хлорид-ионы можно обнаружить осадочной реакцией с раствором нитрата серебра в азотнокислой среде.

**Доброкачественность**

1. KCl : допустимы - Ca2+, Fe, т.м., SO42-, As.

 недопустимы - Na+, Mg2+, Ba2+, соли NH4+.

1. NaCl: допустимы - Ca2+, Fe, т.м., SO42-, As, соли NH4+.

 недопустимы - K+, Mg2+, Ba2+.

**Количественное определение**

1) Определяют *аргентометрическим* методом. Препараты хлоридов титруют в нейтральной среде, в качестве индикатора используют хромат калия (метод Мора). Избыток титранта сразу же взаимодействует с индикатором с образованием осадка оранжево-красного цвета, по которому устанавливается конец титрования.

2) Можно определить количественное содержание галогенидов методом *меркуриметрии*.

3) Для количественного определения препаратов галогенидов можно исполь­зовать также *метод ионообменной хроматографии*.

 **Применение, хранение.**

Натрия хлорид – это основная составная часть солевых и коллоидно-солевых растворов, применяемых в качестве плазмозамещающих жидкостей. Применяют наружно и внутривенно гипертонические растворы натрия хлорида 3, 5 и 10 %-ные и изотонический 0,9 %-ный раствор натрия хлорида. Калия хлорид является антиаритмическим средством и источником ионов калия при гипокалиемии. Он также входит в состав плазмозамещающих жидкостей. Препараты хлоридов хранят в сухом месте в плотно укупоренных банках, так как они гигроскопичны.