

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования "Красноярский государственный медицинский
университет имени профессора В.Ф. Войно-Ясенецкого"
Министерства здравоохранения Российской Федерации

Кафедра биологической химии с курсами медицинской, фармацевтической и токсикологической химии

Физико-химические и естественно-научные методы исследований в медицине

**Сборник методических рекомендаций для преподавателя к практическим занятиям по
направлению подготовки 34.03.01 Сестринское дело (очная форма обучения)**

Красноярск

2022

Физико-химические и естественно-научные методы исследований в медицине : сборник методических рекомендаций для преподавателя к практическим занятиям по направлению подготовки 34.03.01 Сестринское дело (очная форма обучения) / сост. Я.В. Горина, О.Л. Лопатина, Н.В. Писарева. - Красноярск : тип. КрасГМУ, 2022.

Составители:

д.б.н., доцент Я.В. Горина

д.б.н., доцент О.Л. Лопатина

к.фарм.н., доцент Н.В. Писарева

Сборник методических рекомендаций к практическим занятиям предназначен для преподавателя с целью организации занятий. Составлен в соответствии с ФГОС ВО 2017 по направлению подготовки 34.03.01 Сестринское дело (очная форма обучения), рабочей программой дисциплины (2022 г.) и СТО СМК 8.3.12-21. Выпуск 5.

Рекомендован к изданию по решению ЦКМС (Протокол № 10 от 26 мая 2022 г.)

© ФГБОУ ВО КрасГМУ
им.проф. В.Ф. Войно-Ясенецкого
Минздрава России, 2022

1. Тема № 1. Оптические методы анализа. Рефрактометрия. Применение рефрактометрии для анализа субстанций и лекарственных форм. (Компетенции: УК-1.1, УК-1.2, ОПК-2.1)

2. Разновидность занятия: комбинированное

3. Методы обучения: объяснительно-иллюстративный

4. Значение темы (актуальность изучаемой проблемы): Фармацевтическая химия занимает центральное место среди других специальных фармацевтических дисциплин – фармакогнозии, фармацевтической технологии, фармакологии, организации и экономики фармации, токсикологической химии и является своеобразным связующим звеном между ними. Задачи, стоящие перед фармацевтической химией, решаются с помощью классических химических, физических и физико-химических методов, которые используются как для синтеза, так и для анализа лекарственных веществ. Разработка нормативно-правовых документов, регламентирующих качество фармацевтической продукции, а также неукоснительное соблюдение и контроль за соответствием качества продукции данным документам является важнейшей задачей фармацевтического анализа и его составной части – фармакопейного анализа. Материал данной темы будет использоваться при изучении других тем фармацевтической химии.

5. Цели обучения

- **обучающийся должен знать** принципы, положенные в основу физико-химических методов анализа лекарственных средств для медицинского применения, биомедицинского клеточного продукта и медицинских изделий, основные нормативные документы, касающиеся контроля качества лекарственных средств, биомедицинских препаратов и изделий медицинского назначения, методы, приемы и способы выполнения химического и физико-химического анализа для установления качественного состава и количественного определения, **уметь** определять рН среды потенциометрически на иономере, приготовить титрованный раствор по навеске и из фиксанала и установление поправочного коэффициента, **владеть** техникой работы на фотоэлектроколориметре: определение концентрации, определение удельного показателя поглощения, техникой экспресс-анализа - выполнение капельных реакций

6. Место проведения и оснащение занятия:

- **место проведения занятия:** учебная комната 6-26

- **оснащение занятия:** весы аналитические, весы электронные, влагоанализатор mettler toledo, иономер, набор химических реактивов, набор химической посуды, спектрофотометр unisco, фотоколориметр leki, шкафы вытяжные, штативы лабораторные, электропечь муфельная

7. Структура содержания темы (хронокарта)

Хронокарта

п/п	Этапы практического занятия	Продолжительность (мин.)	Содержание этапа и оснащенность
1	Организация занятия	5.00	Проверка посещаемости и внешнего вида обучающихся
2	Формулировка темы и целей	5.00	Озвучивание преподавателем темы и ее актуальности, целей занятия
3	Контроль исходного уровня знаний и умений	10.00	Тестирование
4	Раскрытие учебно-целевых вопросов по теме занятия	10.00	Инструктаж обучающихся преподавателем
5	Самостоятельная работа обучающихся: а) приготовление эталонных растворов, б) подготовка к ответам на вопросы занятия.	40.00	1) выполнение практического задания, 2) подготовка к ответам на вопросы занятия по учебнику и учебному пособию.
6	Итоговый контроль знаний (письменно или устно)	15.00	Ситуационные задачи
7	Задание на дом (на следующее занятие)	5.00	Учебно-методические разработки следующего занятия и методические разработки для внеаудиторной работы по теме
	ВСЕГО	90	

8. Аннотация (краткое содержание темы)

Спектрофотометрия используется для идентификации соединений, исследования состава, строения и количественного анализа индивидуальных веществ и многокомпонентных систем. Кривая зависимости поглощения (функция поглощения) от длины волны или волнового числа называется спектром поглощения вещества и является специфической характеристикой данного вещества анализа лекарственных форм методом УФ-спектрофотометрии. Для идентификации используют аналоги спектров лекарственных веществ, в которых помимо спектральных кривых приведены значения удельных показателей поглощения. При испытаниях на подлинность идентифицируют лекарственные вещества по положению механизма светопоглощения и соответствующего ему значению оптической плотности или удельного показателя поглощения. Часто используют метод, основанный на вычислении отношения

оптических плотностей при двух длинах волн, что снижает ошибку определения. Количественный спектрофотометрический анализ чаще всего комбинируют с установлением подлинности по УФ-спектру. Определение содержания компонентов в лекарственной форме проводят сравнением оптических плотностей испытуемого и стандартного растворов.

В спектрофотометрических методах применяют спектрофотометры - приборы, позволяющие проводить анализ как окрашенных, так и бесцветных соединений по избирательному поглощению монохроматического излучения в видимой, ультрафиолетовой и инфракрасной областях спектра. Природа полос поглощения в ультрафиолетовой и видимой областях спектра связана с различными электронными переходами в поглощающих молекулах и ионах (электронные спектры); в инфракрасной области она связана с колебательными переходами и изменением колебательных состояний ядер, входящих в молекулу поглощающего вещества (колебательные спектры).

Распространенная в настоящее время аппаратура позволяет получить ультрафиолетовые спектры в области от 190 до 380 нм, видимые — от 380 до 780 нм, инфракрасные спектры — от 780 до 40 000 нм (40 мкм).

Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях

Спектрофотометрические измерения в ультрафиолетовой и видимой областях чаще всего проводят для растворов, хотя такие измерения могут быть проведены и для веществ, находящихся в парообразном, жидком и твердом состояниях.

Образец анализируемого вещества при спектрофотометрических определениях обычно растворяют в соответствующем растворителе. Для этих областей пригодны многие растворители, в том числе вода, спирты, хлороформ, низшие углеводороды, эфиры, разведенные растворы аммиака, едкого натра, хлористоводородной или серной кислоты. Следует использовать растворители, не содержащие примесей, поглощающих в данной спектральной области; для спектрофотометрии выпускаются специальные растворители, гарантирующие отсутствие примесей.

Спектрофотометрический анализ по непосредственному измерению оптической плотности может быть проведен для веществ, обладающих лишь определенными особенностями строения (ароматическое соединения, соединения с сопряженными кратными связями, соединения ряда металлов и др.).

Некоторые анализируемые вещества необходимо предварительно перевести в соединение, поглощающее излучение. Для определения концентрации растворов спектрофотометрическим путем используется закон Бугера-Ламберта-Бера.

В ряде случаев даже при использовании монохроматического излучения могут наблюдаться отклонения от закона Бугера-Ламберта-Бера, обусловленные процессами диссоциации, ассоциаций и комплексообразования. Измерения оптической плотности в ультрафиолетовой и видимой областях проводятся на фотоэлектрических спектрофотометрах. Основными частями этих приборов являются: источник излучения (лампа накаливания для видимой области, газоразрядная водородная или дейтериевая лампа в ультрафиолетовой области), монохроматор, диспергирующая система которого основана на использовании кварцевой призмы или дифракционной решетки, кюветное отделение, в котором располагаются кюветы с исследуемыми веществами, приемное и фотометрическое устройства для сравнительной оценки интенсивности световых потоков J_0 и J , основанные на использовании фотоэлементов.

Измерительная шкала спектрофотометра проградуирована в процентах пропускания T (т.е. $J_0/J \times 100$) и в величинах оптической плотности A , а шкала длин волн или волновых чисел - в нанометрах (нм) или в см^{-1} , соответственно.

В процессе измерения на пути выходящего из монохроматора пучка излучения определенной длины волны поочередно устанавливается нулевой раствор (растворитель или раствор, содержащий те же вещества, что и исследуемый, за исключением анализируемого компонента), для которого $T=100\%$, $A=0$, и исследуемый раствор.

Для снижения величины ошибки при определении A концентрация раствора и толщина слоя его подбираются таким образом, чтобы A в исследуемой спектральной области находилось в пределах 0,2—0,7. В зависимости от способности вещества к поглощению это обычно достигается при использовании концентраций от 0,01 до 0,00001 % (кюветы с толщиной слоя 10 мм).

$$\chi = 1/(c \cdot l) \cdot A$$

Показатель поглощения χ вычисляют на основании измеренной оптической плотности. Концентрация c может быть выражена в молях на 1 л или в граммах на 100 мл раствора.

Молярный показатель поглощения ϵ представляет собой оптическую плотность одномолярного раствора вещества

при толщине слоя 10 мм; удельный показатель поглощения ($E_{1\text{см}}^{1\%}$) - оптическую плотность раствора, содержащего 1 г вещества в 100 мл раствора при той же толщине слоя.

Если известно значение χ (в форме ϵ или $E_{1\text{см}}$), определяют концентрацию исследуемых растворов по величине оптической плотности D , пользуясь формулой (1) (при условии подчинения закону Бера).

Для идентификации веществ в ультрафиолетовой области спектра рекомендуется применять регистрирующие спектрофотометры.

При измерениях на различных спектрофотометрах значения характерных волн могут отличаться на ± 2 нм. Если отличие превышает указанный предел, то необходимо провести калибровку шкалы длин волн.

При количественных определениях целесообразно использовать такие полосы поглощения, которые отвечают следующим условиям:

- 1) данная полоса должна быть по возможности свободна от наложения полос поглощения других компонентов анализируемой системы;
- 2) выбранная полоса должна обладать достаточно высоким показателем поглощения (χ) для индивидуального соединения.

Такие полосы называются аналитическими.

При анализе используют максимум или минимум полосы поглощения первого компонента в его максимуме поглощения и не следует производить измерения на участках крутого спада или подъема кривой.

Спектрофотометрический метод очень широко применяется в анализе многокомпонентных систем, так как позволяет провести количественное определение компонентов без их предварительного разделения. Определение основано на аддитивности значений оптической плотности всех компонентов смеси при одной длине волны. Спектрофотометрическое определение двух- (и более) компонентных лекарственных смесей может быть осуществлено различными способами в зависимости от характера светопоглощения каждого компонента.

1. Лекарственная форма содержит два вещества, одно из которых имеет максимум светопоглощения, а другое не поглощает УФ-свет в данной области. Спектрофотометрический анализ выполняют как при анализе однокомпонентной лекарственной формы.
2. Каждый из двух компонентов смеси имеет свой максимум светопоглощения, в котором второй компонент оптически прозрачен. Это наиболее оптимальный вариант, позволяющий без разделения определить концентрацию обоих компонентов, содержащихся в лекарственной форме. Каждый из компонентов анализируют в соответствующем максимуме светопоглощения.
3. Лекарственная форма включает два вещества, причем в максимуме поглощения одного из них имеет некоторое светопоглощение и второе вещество, а в максимуме поглощения второго вещества первое оптически прозрачно. Такие смеси анализируют методом изолированной абсорбции. Лекарственное вещество, в максимуме светопоглощения которого другой компонент не поглощает, определяют как в однокомпонентной лекарственной форме.

Расчет содержания (γ) второго компонента (X_2), в максимуме светопоглощения которого поглощает и первое вещество, выполняют по формуле

$$X_2 = [(A_2 - A_1 E_3 / E_1) W b] / E_2 a \cdot 100,$$

где A_1 - оптическая плотность раствора в максимуме поглощения первого компонента; A_2 - оптическая плотность раствора в максимуме поглощения второго компонента (сумма светопоглощения растворов обоих компонентов); E_1 - удельный показатель поглощения первого компонента в его максимуме поглощения; E_2 - удельный показатель поглощения второго компонента в его максимуме поглощения; E_3 - удельный показатель поглощения первого компонента в максимуме поглощения второго компонента; a - навеска или объем лекарственной формы, взятой для анализа; W - разведение; b - общая масса или объем прописанной лекарственной формы.

Метод изолированной абсорбции используют для анализа папаверина и рибофлавина в смеси с другими препаратами, а также ацетилсалициловой кислоты в присутствии салициловой.

4. Если двухкомпонентная лекарственная смесь содержит лекарственные вещества, полосы поглощения которых налагаются друг на друга, то для количественного определения может быть использован расчетный метод Фирордта. Метод приемлем, если при двух длинах волн наблюдается значительное различие в интенсивности поглощения обоих компонентов при каждой выбранной для анализа длине волны. Затем для

определения каждого компонента устанавливают оптическую плотность анализируемого раствора смеси при обеих длинах волн. Точность зависит от того, насколько велико различие между светопоглощением компонентов смеси. Она будет наибольшей, когда одна длина волны является максимумом для второго компонента, а при второй длине волны будет наблюдаться обратное явление.

При выполнении анализа методом Фирордта концентрацию (c_1 и c_2) в двухкомпонентной смеси рассчитывают по формуле

$$c_1 = \alpha_1 \cdot A_1 - \beta_1 \cdot A_2 \text{ и } c_2 = \alpha_2 \cdot A_2 - \beta_2 \cdot A_1$$

Предварительно вычисляют значения коэффициентов $\alpha_1, \alpha_2, \beta_1, \beta_2$:

$$\alpha_1 = E''_2 / (E'_1 \cdot E''_2 - E'_2 \cdot E''_1)$$

$$\beta_1 = E''_2 / (E'_1 \cdot E''_2 - E'_2 \cdot E''_1)$$

$$\alpha_2 = E'_1 / (E'_1 \cdot E''_2 - E'_2 \cdot E''_1)$$

$$\beta_2 = E'_1 / (E'_1 \cdot E''_2 - E'_2 \cdot E''_1)$$

где E'_1 и E'_2 - удельные показатели поглощения одного и второго компонентов при длине волны λ_1 ; E''_1 и E''_2 — удельные показатели одного и второго компонентов при длине волны λ_2 ; A_1 и A_2 — оптимальные плотности смесей соответственно при длинах волн λ_1 и λ_2 .

На основе использования метода Фирордта разработаны способы анализа лекарственных форм, содержащих резорцин и кислоту салициловую; резорцин и новокаин; кислоты салициловую и бензойную; салициламид и кислоту п-аминобензойную; салициламид и кофеин; амидопиридин, натрия бензоат и натрия салицилат; амидопирин, кофеин и натрия салицилат; папаверин и теобромин; смесь папаверина с анестезином и новокаином; смеси сульфаниламидов; анестезина и кислоты п-аминобензойной; амидопирина и бутадиена и т.д.

Недостаток метода Фирордта заключается в том, что при анализе трех- и более компонентных смесей даже небольшие ошибки в измерениях удельных показателей поглощения и оптических плотностей приводят к значительному снижению точности анализа.

Существуют и другие способы определения, подробно описанные в специальной литературе.

Относительная ошибка спектрофотометрических методов анализа 2%.

9. Вопросы по теме занятия

1. Устройство рефрактометра и поляриметра, правила работы на нём.

Компетенции: УК-1.2, ОПК-2.1

2. Устройство рефрактометра и поляриметра, правила работы на нём

Компетенции: УК-1.2, ОПК-2.1

3. Особенности анализа лекарственных средств оптическими методами.

Компетенции: УК-1.1, ОПК-2.1

4. Применение рефрактометрии для количественного определения спирта в настойках, спирто-водных растворах.

Компетенции: УК-1.2

5. Применение рефрактометрии для количественного определения спирта в настойках, спирто-водных растворах.

Компетенции: ОПК-2.1

10. Тестовые задания по теме с эталонами ответов

1. ФОТОЭЛЕКТРОКОЛОРИМЕТРИЯ ОСНОВАНА НА:

- 1) поглощение монохроматического света окрашенными растворами;
- 2) поглощение световой энергии взвешенными частицами;
- 3) поглощение полихроматического света окрашенными растворами;
- 4) поглощение инфракрасного излучения определенной частоты;
- 5) поглощение монохроматического света бесцветными растворами;

Правильный ответ: 4

Компетенции: УК-1.2

2. ОПТИМАЛЬНЫМ ИНТЕРВАЛОМ ЗНАЧЕНИЯ ОПТИЧЕСКОЙ ПЛОТНОСТИ РАСТВОРА ЯВЛЯЕТСЯ:

- 1) 1 - 10;
- 2) 1 - 5;

- 3) 0,1 – 1;
- 4) 0,2 – 0,4;
- 5) 0,2 – 0,8;

Правильный ответ: 5

Компетенции: ОПК-2.1

3. МЕТОД, КОТОРЫЙ БОЛЕЕ ИНФОРМАТИВЕН ДЛЯ ЦЕЛЕЙ ИДЕНТИФИКАЦИИ:

- 1) УФ-спектрофотометрия;
- 2) ИК-спектроскопия;
- 3) Спектрофотометрия в видимой области;

Правильный ответ: 2

Компетенции: УК-1.2

4. МОНОХРОМИЗАТОРОМ В УЛЬТРАФИОЛЕТОВОЙ ОБЛАСТИ ЧАСТО ИСПОЛЬЗУЕТСЯ:

- 1) призма из кварцевого стекла;
- 2) призма из соли (калия бромид, натрия хлорида, лития фторида);
- 3) дифракционная решетка;
- 4) лазер;

Правильный ответ: 1

Компетенции: ОПК-2.1

5. В ИК-СПЕКТРОФОТОМЕТРАХ В КАЧЕСТВЕ МОНОХРОМИЗАТОРА ИСПОЛЬЗУЕТСЯ ЧАЩЕ ВСЕГО:

- 1) призма из кварцевого стекла;
- 2) призма из соли (калия бромид, натрия хлорида, лития фторида);
- 3) дифракционная решетка;
- 4) лазер;

Правильный ответ: 3

Компетенции: УК-1.1

11. Ситуационные задачи по теме с эталонами ответов

1. Практикант в аптеке, определяя присутствие галогенидов в лекарственной форме с раствором серебра нитрата, наблюдал, что образовавшийся желтый осадок быстро изменял окраску от бурой до черной. Объясните, какие процессы происходили в реакционной смеси.

Вопрос 1: Предложите методики определения подлинности и количественного определения ингредиентов лекарственной смеси.;

Вопрос 2: Определить концентрацию 40% этанола.;

- 1) Т.к. в структуре указанных препаратов присутствуют неподеленные пары электронов и кратные связи, лекарственное средство поглощает электромагнитное излучение в УФ-области и дает характерные спектры. С помощью сравнения спектров препарата и стандартного образца, можно подтвердить его подлинность, а определив оптическую плотность при тах, рассчитать содержание. Хроматография – это метод разделения веществ, позволяющий определить как состав, так и подлинности и количественное содержание вещества.;
- 2) Например, определение показателя преломления проводится при 23 0С. Показатель преломления – 1,3541. Согласно таблице № 1, поправка на 1 0С для показателя преломления, близкого по величине к полученному (1,35500), равна $2,4 \cdot 10^{-4}$ (т.е. 0,00024). Температура выше 20 0С на 3 0С, следовательно, поправка равна: $0,00024 \cdot 3 = 0,00072$. Поскольку определение проводилось при температуре выше 20 0С, поправку следует прибавлять к полученной величине показателя преломления, т.е. истинный показатель преломления при 20 0С равен: $1,3541 + 0,00072 = 1,35482$.;

Компетенции: УК-1.1, УК-1.2, ОПК-2.1

2. Практиканту дали на анализ лекарственную форму состава: Кислоты аскорбиновой 0,2 Пиридоксина гидрохлорида 0,05 Кислоты никотиновой 0,02

Вопрос 1: Рассчитайте фактора эквивалентности (f) и молярную массу эквивалента вещества (Mf), для вещества вступающего в реакцию окисления-восстановления и приведите пример.;

Вопрос 2: Будут ли расходоваться одинаковые объемы титрованных растворов (одной концентрации) натрия гидроксида и натрия нитрита при титровании одной и той же аликвоты лекарственной формы состава?;

- 1) Производные бензодиазепина содержат в своей структуре гетероциклическую серу, что может сопровождаться появлением желтоватого или кремового оттенка у соединений. Т.к. в структуре указанных препаратов присутствуют неподеленные пары электронов и кратные связи, лекарственное средство поглощает электромагнитное излучение в УФ-области и дает характерные спектры. С помощью сравнения спектров препарата и стандартного образца, можно подтвердить его подлинность, а определив оптическую плотность при тах, рассчитать содержание.;
- 2) n показатель преломления анализируемого раствора при 200С; n0 показатель преломления воды при 200С; 0,00215 фактор прироста показателя преломления раствора димедрола; С1 концентрация димедрола в растворе, найденная титриметрическим методом, в %; 0,00134 фактор прироста показателя преломления раствора натрия бромида; С2 концентрация натрия бромида в растворе, найденная аргентометрическим методом, в %; 0,00142.

фактор прироста показателя преломления раствора безводной глюкозы.;
Компетенции: УК-1.1, УК-1.2, ОПК-2.1

12. Примерная тематика НИРС по теме

1. Оптические методы анализа: рефрактометрия. Закон преломления. Применение в фарманализе.
2. Предложить студентам, подготовить обучающие программы по изучаемой теме.
3. Сущность тонкослойной хроматографии (ТСХ). Проведение качественного и количественного анализа методом ТСХ.
4. Практическое значение газовой хроматографии

13. Рекомендованная литература по теме занятия

- **дополнительная:**

[Фармацевтическая химия](#) : учебник / ред. Г. В. Раменская. - 3-е изд., (электрон.). - Москва : Лаборатория знаний, 2019. - 470 с. - Текст : электронный.

- **электронные ресурсы:**

Анализ лекарственных препаратов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (<https://docs.google.com/file/d/0ByYcXpTXVG2vWU5XWm4tbVBxVVU/edit>)

Качественный анализ методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (<https://docs.google.com/file/d/0ByYcXpTXVG2vampYR2VnTkQteWs/edit>)

Анализ лекарственных препаратов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии в сочетании с хромато-масс спектрометрией (<https://docs.google.com/file/d/0ByYcXpTXVG2vZjRrQUhfbzFoOFU/edit>)

1. Тема № 2. Оптические методы анализа. Поляриметрия. Применение поляриметрии для анализа субстанций и лекарственных форм. (Компетенции: УК-1.3, УК-1.4, ОПК-2.1)

2. Разновидность занятия: комбинированное

3. Методы обучения: объяснительно-иллюстративный

4. Значение темы (актуальность изучаемой проблемы): Фармацевтическая химия занимает центральное место среди других специальных фармацевтических дисциплин - фармакогнозии, фармацевтической технологии, фармакологии, организации и экономики фармации, токсикологической химии и является своеобразным связующим звеном между ними. Задачи, стоящие перед фармацевтической химией, решаются с помощью классических химических, физических и физико-химических методов, которые используются как для синтеза, так и для анализа лекарственных веществ. Разработка нормативно-правовых документов, регламентирующих качество фармацевтической продукции, а также неукоснительное соблюдение и контроль за соответствием качества продукции данным документам является важнейшей задачей фармацевтического анализа и его составной части - фармакопейного анализа. Материал данной темы будет использоваться при изучении других тем фармацевтической химии.

5. Цели обучения

- **обучающийся должен знать** основные нормативные документы, касающиеся контроля качества лекарственных средств, биомедицинских препаратов и изделий медицинского назначения, методы, приемы и способы выполнения химического и физико-химического анализа для установления качественного состава и количественного определения, оборудование и реактивы для проведения физико-химического анализа лекарственных веществ для медицинского применения, биомедицинского клеточного продукта и медицинских изделий, **уметь** определять удельное вращение оптически активных препаратов, определять показатель преломления на рефрактометре, расчет концентрации с использованием метода интерполяции, **владеть** техникой экспресс-анализа - выполнение капельных реакций, техникой микрокристаллоскопического анализа

6. Место проведения и оснащение занятия:

- **место проведения занятия:** учебная комната 6-26

- **оснащение занятия:** весы аналитические, весы электронные, влагоанализатор mettler toledo, иономер, набор химических реактивов, набор химической посуды, спектрофотометр uniso, фотоколориметр leki, шкафы вытяжные, штативы лабораторные, электропечь муфельная

7. Структура содержания темы (хронокарта)

Хронокарта

п/п	Этапы практического занятия	Продолжительность (мин.)	Содержание этапа и оснащенность
1	Организация занятия	5.00	Проверка посещаемости и внешнего вида обучающихся
2	Формулировка темы и целей	5.00	Озвучивание преподавателем темы и ее актуальности, целей занятия
3	Контроль исходного уровня знаний и умений	10.00	Тестирование
4	Раскрытие учебно-целевых вопросов по теме занятия	10.00	Инструктаж обучающихся преподавателем
5	Самостоятельная работа обучающихся: а) приготовление эталонных растворов, б) подготовка к ответам на вопросы занятия.	40.00	1) выполнение практического задания, 2) подготовка к ответам на вопросы занятия по учебнику и учебному пособию.
6	Итоговый контроль знаний (письменно или устно)	15.00	Ситуационные задачи
7	Задание на дом (на следующее занятие)	5.00	Учебно-методические разработки следующего занятия и методические разработки для внеаудиторной работы по теме
	ВСЕГО	90	

8. Аннотация (краткое содержание темы)

Спектрофотометрия используется для идентификации соединений, исследования состава, строения и количественного анализа индивидуальных веществ и многокомпонентных систем. Кривая зависимости поглощения (функция поглощения) от длины волны или волнового числа называется спектром поглощения вещества и является специфической характеристикой данного вещества анализа лекарственных форм методом УФ-спектрофотометрии. Для идентификации используют аналоги спектров лекарственных веществ, в которых помимо спектральных кривых приведены значения удельных показателей поглощения. При испытаниях на подлинность идентифицируют лекарственные вещества по положению механизма светопоглощения и соответствующего ему значению оптической плотности или удельного показателя поглощения. Часто используют метод, основанный на вычислении отношения оптических плотностей при двух длинах волн, что снижает ошибку определения. Количественный

спектрофотометрический анализ чаще всего комбинируют с установлением подлинности по УФ-спектру. Определение содержания компонентов в лекарственной форме проводят сравнением оптических плотностей испытуемого и стандартного растворов.

В спектрофотометрических методах применяют спектрофотометры - приборы, позволяющие проводить анализ как окрашенных, так и бесцветных соединений по избирательному поглощению монохроматического излучения в видимой, ультрафиолетовой и инфракрасной областях спектра. Природа полос поглощения в ультрафиолетовой и видимой областях спектра связана с различными электронными переходами в поглощающих молекулах и ионах (электронные спектры); в инфракрасной области она связана с колебательными переходами и изменением колебательных состояний ядер, входящих в молекулу поглощающего вещества (колебательные спектры).

Распространенная в настоящее время аппаратура позволяет получить ультрафиолетовые спектры в области от 190 до 380 нм, видимые — от 380 до 780 нм, инфракрасные спектры — от 780 до 40 000 нм (40 мкм).

Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях

Спектрофотометрические измерения в ультрафиолетовой и видимой областях чаще всего проводят для растворов, хотя такие измерения могут быть проведены и для веществ, находящихся в парообразном, жидком и твердом состояниях.

Образец анализируемого вещества при спектрофотометрических определениях обычно растворяют в соответствующем растворителе. Для этих областей пригодны многие растворители, в том числе вода, спирты, хлороформ, низшие углеводороды, эфиры, разведенные растворы аммиака, едкого натра, хлористоводородной или серной кислоты. Следует использовать растворители, не содержащие примесей, поглощающих в данной спектральной области; для спектрофотометрии выпускаются специальные растворители, гарантирующие отсутствие примесей.

Спектрофотометрический анализ по непосредственному измерению оптической плотности может быть проведен для веществ, обладающих лишь определенными особенностями строения (ароматичес соединения, соединения с сопряженными кратными связями, соединения ряда металлов и др.).

Некоторые анализируемые вещества необходимо предварительно перевести в соединение, поглощающее излучение. Для определения концентрации растворов спектрофотометрическим путем используется закон Бугера-Ламберта-Бера.

В ряде случаев даже при использовании монохроматического излучения могут наблюдаться отклонения от закона Бугера-Ламберта-Бера, обусловленные процессами диссоциации, ассоциаций и комплексообразования. Измерения оптической плотности в ультрафиолетовой и видимой областях проводятся на фотоэлектрических спектрофотометрах. Основными частями этих приборов являются: источник излучения (лампа накаливания для видимой области, газоразрядная водородная или дейтериевая лампа в ультрафиолетовой области), монохроматор, диспергирующая система которого основана на использовании кварцевой призмы или дифракционной решетки, кюветное отделение, в котором располагаются кюветы с исследуемыми веществами, приемное и фотометрическое устройства для сравнительной оценки интенсивности световых потоков J_0 и J , основанные на использовании фотоэлементов.

Измерительная шкала спектрофотометра проградуирована в процентах пропускания T (т.е. $J_0/J \times 100$) и в величинах оптической плотности A , а шкала длин волн или волновых чисел - в нанометрах (нм) или в см^{-1} , соответственно.

В процессе измерения на пути выходящего из монохроматора пучка излучения определенной длины волны поочередно устанавливается нулевой раствор (растворитель или раствор, содержащий те же вещества, что и исследуемый, за исключением анализируемого компонента), для которого $T=100\%$, $A=0$, и исследуемый раствор.

Для снижения величины ошибки при определении A концентрация раствора и толщина слоя его подбираются таким образом, чтобы A в исследуемой спектральной области находилось в пределах 0,2—0,7. В зависимости от способности вещества к поглощению это обычно достигается при использовании концентраций от 0,01 до 0,00001 % (кюветы с толщиной слоя 10 мм).

$$\chi = 1/(c \cdot l) \cdot A$$

Показатель поглощения χ вычисляют на основании измеренной оптической плотности. Концентрация c может быть выражена в молях на 1 л или в граммах на 100 мл раствора.

Молярный показатель поглощения ϵ представляет собой оптическую плотность одномолярного раствора вещества при толщине слоя 10 мм; удельный показатель поглощения ($E_{1\text{см}}^{1\%}$) - оптическую плотность раствора, содержащего 1

г вещества в 100 мл раствора при той же толщине слоя.

Если известно значение χ (в форме ϵ или $E_{1\text{см}}$), определяют концентрацию исследуемых растворов по величине оптической плотности D , пользуясь формулой (1) (при условии подчинения закону Бера).

Для идентификации веществ в ультрафиолетовой области спектра рекомендуется применять регистрирующие спектрофотометры.

При измерениях на различных спектрофотометрах значения характерных волн могут отличаться на ± 2 нм. Если отличие превышает указанный предел, то необходимо провести калибровку шкалы длин волн.

При количественных определениях целесообразно использовать такие полосы поглощения, которые отвечают следующим условиям:

- 1) данная полоса должна быть по возможности свободна от наложения полос поглощения других компонентов анализируемой системы;
- 2) выбранная полоса должна обладать достаточно высоким показателем поглощения (χ) для индивидуального соединения.

Такие полосы называются аналитическими.

При анализе используют максимум или минимум полосы поглощения первого компонента в его максимуме поглощения и не следует производить измерения на участках крутого спада или подъема кривой.

Спектрофотометрический метод очень широко применяется в анализе многокомпонентных систем, так как позволяет провести количественное определение компонентов без их предварительного разделения. Определение основано на аддитивности значений оптической плотности всех компонентов смеси при одной длине волны. Спектрофотометрическое определение двух- (и более) компонентных лекарственных смесей может быть осуществлено различными способами в зависимости от характера светопоглощения каждого компонента.

1. Лекарственная форма содержит два вещества, одно из которых имеет максимум светопоглощения, а другое не поглощает УФ-свет в данной области. Спектрофотометрический анализ выполняют как при анализе однокомпонентной лекарственной формы.
2. Каждый из двух компонентов смеси имеет свой максимум светопоглощения, в котором второй компонент оптически прозрачен. Это наиболее оптимальный вариант, позволяющий без разделения определить концентрацию обоих компонентов, содержащихся в лекарственной форме. Каждый из компонентов анализируют в соответствующем максимуме светопоглощения.
3. Лекарственная форма включает два вещества, причем в максимуме поглощения одного из них имеет некоторое светопоглощение и второе вещество, а в максимуме поглощения второго вещества первое оптически прозрачно. Такие смеси анализируют методом изолированной абсорбции. Лекарственное вещество, в максимуме светопоглощения которого другой компонент не поглощает, определяют как в однокомпонентной лекарственной форме.

Расчет содержания (г) второго компонента (X_2), в максимуме светопоглощения которого поглощает и первое вещество, выполняют по формуле

$$X_2 = [(A_2 - A_1 E_3 / E_1) W b] / E_2 a \cdot 100,$$

где A_1 - оптическая плотность раствора в максимуме поглощения первого компонента; A_2 - оптическая плотность раствора в максимуме поглощения второго компонента (сумма светопоглощения растворов обоих компонентов); E_1 - удельный показатель поглощения первого компонента в его максимуме поглощения; E_2 - удельный показатель поглощения второго компонента в его максимуме поглощения; E_3 - удельный показатель поглощения первого компонента в максимуме поглощения второго компонента; a - навеска или объем лекарственной формы, взятой для анализа; W - разведение; b - общая масса или объем прописанной лекарственной формы.

Метод изолированной абсорбции используют для анализа папаверина и рибофлавина в смеси с другими препаратами, а также ацетилсалициловой кислоты в присутствии салициловой.

4. Если двухкомпонентная лекарственная смесь содержит лекарственные вещества, полосы поглощения которых налагаются друг на друга, то для количественного определения может быть использован расчетный метод Фирордта. Метод приемлем, если при двух длинах волн наблюдается значительное различие в интенсивности поглощения обоих компонентов при каждой выбранной для анализа длине волны. Затем для определения каждого компонента устанавливают оптическую плотность анализируемого раствора смеси при

обеих длинах волн. Точность зависит от того, насколько велико различие между светопоглощением компонентов смеси. Она будет наибольшей, когда одна длина волны является максимумом для второго компонента, а при второй длине волны будет наблюдаться обратное явление.

При выполнении анализа методом Фирордта концентрацию (c_1 и c_2) в двухкомпонентной смеси рассчитывают по формуле

$$c_1 = \alpha_1 \cdot A_1 - \beta_1 \cdot A_2 \text{ и } c_2 = \alpha_2 \cdot A_2 - \beta_2 \cdot A_1$$

Предварительно вычисляют значения коэффициентов α_1 , α_2 , β_1 , β_2 :

$$\alpha_1 = E''_2 / (E'_1 \cdot E''_2 - E'_2 \cdot E''_1)$$

$$\beta_1 = E''_2 / (E'_1 \cdot E''_2 - E'_2 \cdot E''_1)$$

$$\alpha_2 = E'_1 / (E'_1 \cdot E''_2 - E'_2 \cdot E''_1)$$

$$\beta_2 = E'_1 / (E'_1 \cdot E''_2 - E'_2 \cdot E''_1)$$

где E'_1 и E'_2 - удельные показатели поглощения одного и второго компонентов при длине волны λ_1 ; E''_1 и E''_2 — удельные показатели одного и второго компонентов при длине волны λ_2 ; A_1 и A_2 — оптимальные плотности смесей соответственно при длинах волн λ_1 и λ_2 .

На основе использования метода Фирордта разработаны способы анализа лекарственных форм, содержащих резорцин и кислоту салициловую; резорцин и новокаин; кислоты салициловую и бензойную; салициламид и кислоту п-аминобензойную; салициламид и кофеин; амидопиридин, натрия бензоат и натрия салицилат; амидопирин, кофеин и натрия салицилат; папаверин и теобромин; смесь папаверина с анестезином и новокаином; смеси сульфаниламидов; анестезина и кислоты п-аминобензойной; амидопирина и бутадиена и т.д.

Недостаток метода Фирордта заключается в том, что при анализе трех- и более компонентных смесей даже небольшие ошибки в измерениях удельных показателей поглощения и оптических плотностей приводят к значительному снижению точности анализа.

Существуют и другие способы определения, подробно описанные в специальной литературе.

Относительная ошибка спектрофотометрических методов анализа 2%.

9. Вопросы по теме занятия

1. Устройство рефрактометра и поляриметра, правила работы на нём.

Компетенции: УК-1.3, ОПК-2.1

2. Устройство рефрактометра и поляриметра, правила работы на нём

Компетенции: УК-1.4, ОПК-2.1

3. Особенности анализа лекарственных средств оптическими методами.

Компетенции: УК-1.3, УК-1.4

4. Применение рефрактометрии для количественного определения спирта в настойках, спирто-водных растворах.

Компетенции: УК-1.4, ОПК-2.1

5. Применение рефрактометрии для количественного определения спирта в настойках, спирто-водных растворах.

Компетенции: УК-1.3, ОПК-2.1

10. Тестовые задания по теме с эталонами ответов

1. ФОТОЭЛЕКТРОКОЛОРИМЕТРИЯ ОСНОВАНА НА:

1) поглощение монохроматического света окрашенными растворами;

2) поглощение световой энергии взвешенными частицами;

3) поглощение полихроматического света окрашенными растворами;

4) поглощение инфракрасного излучения определенной частоты;

5) поглощение монохроматического света бесцветными растворами;

Правильный ответ: 4

Компетенции: ОПК-2.1

2. ОПТИМАЛЬНЫМ ИНТЕРВАЛОМ ЗНАЧЕНИЯ ОПТИЧЕСКОЙ ПЛОТНОСТИ РАСТВОРА ЯВЛЯЕТСЯ:

1) 1 - 10;

2) 1 - 5;

3) 0,1 - 1;

4) 0,2 – 0,4;

5) 0,2 – 0,8;

Правильный ответ: 5

Компетенции: УК-1.3

3. МЕТОД, КОТОРЫЙ БОЛЕЕ ИНФОРМАТИВЕН ДЛЯ ЦЕЛЕЙ ИДЕНТИФИКАЦИИ:

1) УФ-спектрофотометрия;

2) ИК-спектроскопия;

3) Спектрофотометрия в видимой области;

Правильный ответ: 2

Компетенции: ОПК-2.1

4. МОНОХРОМИЗАТОРОМ В УЛЬТРАФИОЛЕТОВОЙ ОБЛАСТИ ЧАСТО ИСПОЛЬЗУЕТСЯ:

1) призма из кварцевого стекла;

2) призма из соли (калия бромида, натрия хлорида, лития фторида);

3) дифракционная решетка;

4) лазер;

Правильный ответ: 1

Компетенции: УК-1.4

5. В ИК-СПЕКТРОФОТОМЕТРАХ В КАЧЕСТВЕ МОНОХРОМИЗАТОРА ИСПОЛЬЗУЕТСЯ ЧАЩЕ ВСЕГО:

1) призма из кварцевого стекла;

2) призма из соли (калия бромида, натрия хлорида, лития фторида);

3) дифракционная решетка;

4) лазер;

Правильный ответ: 3

Компетенции: ОПК-2.1

11. Ситуационные задачи по теме с эталонами ответов

1. Практикант в аптеке, определяя присутствие галогенидов в лекарственной форме с раствором серебра нитрата, наблюдал, что образовавшийся желтый осадок быстро изменял окраску от бурой до черной. Объясните, какие процессы происходили в реакционной смеси.

Вопрос 1: Предложите методики определения подлинности и количественного определения ингредиентов лекарственной смеси.;

Вопрос 2: Определить концентрацию 40% этанола.;

1) Т.к. в структуре указанных препаратов присутствуют неподеленные пары электронов и кратные связи, лекарственное средство поглощает электромагнитное излучение в УФ-области и дает характерные спектры. С помощью сравнения спектров препарата и стандартного образца, можно подтвердить его подлинность, а определив оптическую плотность при тах, рассчитать содержание. Хроматография – это метод разделения веществ, позволяющий определить как состав, так и подлинности и количественное содержание вещества.;

2) Например, определение показателя преломления проводится при 23 0С. Показатель преломления – 1,3541. Согласно таблице № 1, поправка на 1 0С для показателя преломления, близкого по величине к полученному (1,35500), равна $2,4 \cdot 10^{-4}$ (т.е. 0,00024). Температура выше 20 0С на 3 0С, следовательно, поправка равна $0,00024 \cdot 3 = 0,00072$. Поскольку определение проводилось при температуре выше 20 0С, поправку следует прибавлять к полученной величине показателя преломления, т.е. истинный показатель преломления при 20 0С равен: $1,3541 + 0,00072 = 1,35482$.;

Компетенции: УК-1.3, УК-1.4, ОПК-2.1

2. Практиканту дали на анализ лекарственную форму состава: Кислоты аскорбиновой 0,2 Пиридоксина гидрохлорида 0,05 Кислоты никотиновой 0,02

Вопрос 1: Рассчитайте фактора эквивалентности (f) и молярную массу эквивалента вещества (Mf), для вещества вступающего в реакцию окисления-восстановления и приведите пример.;

Вопрос 2: Будут ли расходоваться одинаковые объемы титрованных растворов (одной концентрации) натрия гидроксида и натрия нитрита при титровании одной и той же аликвоты лекарственной формы состава?;

1) Производные бензодиазепина содержат в своей структуре гетероциклическую серу, что может сопровождаться появлением желтоватого или кремового оттенка у соединений. Т.к. в структуре указанных препаратов присутствуют неподеленные пары электронов и кратные связи, лекарственное средство поглощает электромагнитное излучение в УФ-области и дает характерные спектры. С помощью сравнения спектров препарата и стандартного образца, можно подтвердить его подлинность, а определив оптическую плотность при тах, рассчитать содержание.;

2) n показатель преломления анализируемого раствора при 200С; n0 показатель преломления воды при 200С; 0,00215 фактор прироста показателя преломления раствора димедрола; С1 концентрация димедрола в растворе, найденная титриметрическим методом, в %; 0,00134 фактор прироста показателя преломления раствора натрия бромида; С2 концентрация натрия бромида в растворе, найденная аргентометрическим методом, в %; 0,00142. фактор прироста показателя преломления раствора безводной глюкозы.;

Компетенции: УК-1.3, УК-1.4, ОПК-2.1

12. Примерная тематика НИРС по теме

1. Оптические методы анализа: рефрактометрия. Закон преломления. Применение в фарманализе.
2. Предложить студентам, подготовить обучающие программы по изучаемой теме.
3. Сущность тонкослойной хроматографии (ТСХ). Проведение качественного и количественного анализа методом ТСХ.
4. Практическое значение газовой хроматографии

13. Рекомендованная литература по теме занятия

- **дополнительная:**

[Фармацевтическая химия](#) : учебник / ред. Г. В. Раменская. - 3-е изд., (электрон.). - Москва : Лаборатория знаний, 2019. - 470 с. - Текст : электронный.

- **электронные ресурсы:**

Анализ лекарственных препаратов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (<https://docs.google.com/file/d/0ByYcXpTXVG2vWU5XWm4tbVBxVVU/edit>)

Качественный анализ методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (<https://docs.google.com/file/d/0ByYcXpTXVG2vampYR2VnTkQteWs/edit>)

Анализ лекарственных препаратов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии в сочетании с хромато-масс спектрометрией (<https://docs.google.com/file/d/0ByYcXpTXVG2vZjRrQUhfbzFoOFU/edit>)

1. Тема № 3. Спектрофотометрия в УФ-области спектра. Применение методов в фармализе. (Компетенции: УК-1.2, УК-1.3, ОПК-2.1)

2. Разновидность занятия: дискуссия

3. Методы обучения: объяснительно-иллюстративный

4. Значение темы (актуальность изучаемой проблемы): Фармацевтическая химия занимает центральное место среди других специальных фармацевтических дисциплин – фармакогнозии, фармацевтической технологии, фармакологии, организации и экономики фармации, токсикологической химии и является своеобразным связующим звеном между ними. Задачи, стоящие перед фармацевтической химией, решаются с помощью классических химических, физических и физико-химических методов, которые используются как для синтеза, так и для анализа лекарственных веществ. Разработка нормативно-правовых документов, регламентирующих качество фармацевтической продукции, а также неукоснительное соблюдение и контроль за соответствием качества продукции данным документам является важнейшей задачей фармацевтического анализа и его составной части – фармакопейного анализа. Материал данной темы будет использоваться при изучении других тем фармацевтической химии.

5. Цели обучения

- **обучающийся должен знать** методы, приемы и способы выполнения химического и физико-химического анализа для установления качественного состава и количественного определения, оборудование и реактивы для проведения физико-химического анализа лекарственных веществ для медицинского применения, биомедицинского клеточного продукта и медицинских изделий, принципы работы автоматизированных аналитических систем, **уметь** использовать технику флюорисцентного анализа, определить среднюю массу таблеток, рассчитать отклонения от средней массы, **владеть** техникой ионообменной, бумажной и тонкослойной хроматографии, техникой работы на фотоэлектроколориметре: определение концентрации, определение удельного показателя поглощения

6. Место проведения и оснащение занятия:

- **место проведения занятия:** учебная комната 6-26

- **оснащение занятия:** весы аналитические, весы электронные, влагоанализатор mettler toledo, иономер, набор химических реактивов, набор химической посуды, спектрофотометр unisco, фотоколориметр leki, шкафы вытяжные, штативы лабораторные, электропечь муфельная

7. Структура содержания темы (хронокарта)

Хронокарта

п/п	Этапы практического занятия	Продолжительность (мин.)	Содержание этапа и оснащенность
1	Организация занятия	5.00	Проверка посещаемости и внешнего вида обучающихся
2	Формулировка темы и целей	5.00	Озвучивание преподавателем темы и ее актуальности, целей занятия
3	Контроль исходного уровня знаний и умений	10.00	Тестирование
4	Раскрытие учебно-целевых вопросов по теме занятия	10.00	Инструктаж обучающихся преподавателем перед практической работой.
5	Самостоятельная работа обучающихся: а) приготовление эталонных растворов, б) подготовка к ответам на вопросы занятия.	40.00	1) выполнение практического задания, 2) подготовка к ответам на вопросы занятия по учебнику и учебному пособию.
6	Итоговый контроль знаний (письменно или устно)	15.00	ситуационные задачи
7	Задание на дом (на следующее занятие)	5.00	Учебно-методические разработки следующего занятия и методические разработки для внеаудиторной работы по теме
	ВСЕГО	90	

8. Аннотация (краткое содержание темы)

Фотометрические методы анализа основаны на использовании объединенного закона Бугера-Ламберта-Бера:

где J_0 – интенсивность излучения, падающего на вещество; J – интенсивность излучения, прошедшего через вещество; $A(D)$ – величина оптической плотности; x – показатель поглощения данного вещества; C – концентрация раствора анализируемого вещества; g ; l – длина рабочего слоя кюветы, см.

На основании этого закона содержание вещества в растворе определяют по формуле:

В случае несоответствия закону Бугера-Ламберта-Бера вначале с помощью стандартного раствора устанавливают зависимость оптической плотности от концентрации, а затем строят калибровочный график, с помощью которого выполняют расчеты.

Спектрофотометрия в УФ - и видимой областях – один из наиболее широко используемых физико-химических методов в фармацевтическом анализе.

Анализируемые ЛВ должны иметь в структуре молекулы хромофорные группы (сопряженные связи, ароматическое ядро и др.), обуславливающие различные электронные переходы в молекулах и поглощение электромагнитного излучения.

Кривая зависимости интенсивности светопоглощения от длины волны (нм) называется спектром поглощения вещества и является его специфической характеристикой. Измерение спектров поглощения растворов анализируемых веществ в ультрафиолетовой (190 – 380 нм) и видимой (380 – 780 нм) областях производят с помощью спектрофотометров различных марок. В качестве растворителей используют свободные от примесей воду, растворы кислот и щелочей, этанол, хлороформ и другие органические растворители.

Спектрофотометрической константой является удельный показатель поглощения (E), который рассчитывают по формуле:

Удельный показатель поглощения E представляет собой величину оптической плотности раствора, содержащего 1,0 г вещества в 100 мл раствора, измеренную в кювете с рабочей длиной 1 см. Установив по стандартному образцу величину E и преобразовав эту формулу, можно рассчитать концентрацию анализируемого вещества с относительной погрешностью до $\pm 2\%$.

Идентификацию ЛВ можно провести по E , характеру спектральных кривых в различных растворителях, положению максимума и минимума светопоглощения или их отношению (при различных длинах волн). Для количественного спектрофотометрического анализа важен выбор аналитической полосы поглощения. Последняя должна быть свободна от наложения полос поглощения других компонентов смеси и иметь достаточно высокий удельный показатель поглощения анализируемого вещества.

Фотоколориметрия отличается от спектрофотометрического анализа тем, что анализируемое вещество с помощью какого-либо реагента переводят (количественно) в окрашенное соединение. Вначале получают окрашенные растворы, используя растворы стандартных образцов (ГСО или РСО). Измерение оптической плотности производят на фотоколориметрах. Затем строят калибровочный график зависимости интенсивности поглощения окрашенных растворов от концентрации, по которому рассчитывают содержание ЛВ в испытуемых образцах ЛВ или ЛФ.

Метод дифференциальной спектрофотометрии и фотоколориметрии основан на измерении светопоглощения анализируемого раствора относительно раствора сравнения, содержащего определенное количество стандартного образца испытуемого вещества или его заменителя. Такой прием приводит к изменению рабочей области шкалы прибора и снижению относительной погрешности определения до $\pm 0,5-1\%$, т.е. сопоставимой с титриметрическими методами.

Производная УФ-спектрофотометрия является одним из вариантов дифференциальной спектрофотометрии. Если в дифференциальной спектрофотометрии используют разность оптических плотностей при одной и той же длине волны, то в производной — при двух длинах волн, разделенных небольшим интервалом. Этот вариант основан на выделении индивидуальных полос из УФ-спектра, который представляет собой сумму налагающихся полос поглощения или полос, не имеющих четко выраженного максимума. При этом на спектральных кривых в координатах: производная - длина волны появляются полосы с отчетливо выраженными максимумами и минимумами. Благодаря этому можно идентифицировать сходные по химической структуре вещества, повысить избирательность анализа и выполнять количественное определение двух-, трехкомпонентных смесей более экономично и эффективно, чем титриметрическими методами.

Одним из вариантов дифференциальной спектрофотометрии является **Е-метод**. Он основан на превращении одного из веществ, входящих в состав анализируемой пробы, в таутомерную (или иную) форму, отличающуюся по характеру и интенсивности светопоглощения. Затем измеряют светопоглощение раствора одной таутомерной формы по отношению к другой, т.е. используют в качестве стандарта раствор анализируемого вещества.

Спектрофотометрия в ИК-области. Природа полос поглощения в ИК области связана с колебательными переходами и изменением колебательных состояний ядер, входящих в молекулу поглощающего вещества. Поэтому поглощением в ИК-области обладают молекулы, дипольные моменты которых изменяются при возбуждении колебательных движений ядер. Область применения ИК-спектроскопии аналогична, но более широка, чем у УФ-метода. ИК-спектр однозначно характеризует всю структуру молекулы, включая незначительные её изменения. Важные преимущества ИК-спектроскопии — высокая специфичность, объективность полученных результатов, возможность анализа веществ в кристаллическом состоянии. Для измерения ИК-спектров на однолучевых или двухлучевых ИК-спектрофотометрах взвешивают вещества в вазелиновом масле или помещают анализируемое вещество между пластинами из бромида калия. Каждый ИК-спектр представляет собой серию полос поглощения,

максимумы которых определяются волновым числом, измеряемым в см⁻¹, и определенной интенсивностью. Для анализа ЛВ обычно используют спектральную область от 4000 до 400 см⁻¹.

ГФ XI рекомендует два способа установления подлинности по ИК-спектрам. Один из них основан на сравнении зарегистрированных в идентичных условиях ИК-спектров испытуемого ЛВ и его стандартного образца. Второй способ заключается в сравнении ИК-спектра испытуемого ЛВ с его стандартным спектром, прилагаемым к ФС и зарегистрированным в соответствии с указанными в ней требованиями.

Фототурбидиметрия – метод, основанный на измерении интенсивности света, поглощенного тонкодисперсной суспензией, и **фотонепелометрия** – метод, основанный на измерении света, рассеянного взвешенными частицами анализируемого вещества. Оба метода довольно редко применяют в фармацевтическом анализе для количественного определения ЛВ, образующих с различными реактивами тонкие суспензии. Предварительно устанавливают зависимость между интенсивностью поглощения (рассеяния) света и концентрацией вещества в анализируемом растворе. Способы расчета аналогичны фотометрическим методам.

Лабораторная работа

ПРОПИСЬ: Раствор этакридина лактата 1:1000 - 100,0 мл

Однокомпонентная жидкая лекарственная форма для наружного применения. В основе фотоэлектроколориметрического и спектрофотометрического методов количественного определения этакридина лактата лежит реакция получения окрашенной в вишнево-красный цвет соли диазония

Желтая прозрачная жидкость с зеленой флуоресценцией.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПОДЛИННОСТИ

К 1 - 2 мл раствора прибавляют 0,2 мл кислоты хлористоводородной разведенной и 0,2 мл 0,1 моль/л раствора натрия нитрита. Появляется вишнево-красное окрашивание.

Методика. 2,5 мл исследуемого раствора помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл и по каплям прибавляют 0,6 мл 1 моль/л раствора кислоты хлористоводородной и 0,5 мл 1% раствора натрия нитрита, появляется вишнево-красное окрашивание. Через 5 минут объем раствора доводят водой до метки и перемешивают. Измеряют оптическую плотность раствора на спектрофотометре или фотоэлектроколориметре при длине волны 520 нм, в кюветах с толщиной слоя 1 см. Раствор сравнения – вода.

Одновременно измеряют оптическую плотность стандартного раствора.

Приготовление стандартного раствора (0,1%).

2,5 мл 0,1% раствора этакридина лактата помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл и далее продолжают, как описано ранее.

1 мл стандартного раствора содержит 0,00005 г этакридина лактата.

Построение графика.

Для построения графика зависимости оптической плотности от концентрации готовят серию стандартных растворов. С этой целью 0,5 мл, 1,0 мл, 1,5 мл, 2,0 мл, 2,5 мл, 3,0 мл стандартного раствора этакридина лактата помещают в мерные колбы вместимостью 50 мл и прибавляют в каждую колбу воды до 5 мл, по 0,6 мл кислоты хлористоводородной и по 0,5 мл 1% раствора натрия нитрита. Через 5 минут объем раствора доводят водой до метки, перемешивают и измеряют оптическую плотность полученных растворов в кювете с толщиной поглощающего слоя 1 см при длине волны 520 нм. Строят график зависимости **D=f(C)**, откладывая по оси абсцисс концентрацию в г/мл, а по оси ординат – оптическую плотность раствора.

Расчет концентрации исследуемого раствора.

1. По графику.

Где $C_{\text{граф}}$ – концентрация исследуемого раствора, определенная графически, в г/мл;

V_{проп.} – объем лекарственной формы по прописи, в мл .

2. По стандартному раствору.

Где $D_{\text{иссл}}$ - оптическая плотность исследуемого раствора;

$D_{\text{ст}}$ - оптическая плотность стандартного (0,1%) раствора;

0,00005 - количество граммов этакридина лактата в 1 мл стандартного раствора;

$V_{\text{проп}}$ - объем лекарственной формы по прописи, в мл.

3. *С использованием рассчитанного удельного показателя поглощения.*

где n - удельный показатель поглощения стандартного раствора этакридина лактата, где $n = 1, 2, 3, \dots, n$;

C_n - концентрация n -ного фотометрируемого стандартного раствора этакридина лактата, в %;

D_n - оптическая плотность n -ного фотометрируемого стандартного раствора этакридина лактата;

l - толщина поглощающего слоя, в см.

Где - среднее значение удельного показателя поглощения этакридина лактата, рассчитанное из n показателей поглощения.

9. Вопросы по теме занятия

1. Теоретические основы метода. Особенности спектрофотометрии в УФ-области.

Компетенции: УК-1.3, ОПК-2.1

2. Аппаратурное оформление спектрофотометров различных моделей.

Компетенции: УК-1.2, ОПК-2.1

3. Аналитические возможности спектрофотометрического метода в УФ области для целей установления подлинности, чистоты и количественного содержания лекарственных средств.

Компетенции: УК-1.3, ОПК-2.1

4. Возможности использования спектрофотометрического метода в УФ области для анализа лекарственных веществ на примере нескольких фармакопейных статей (цианокобаламин, ретинола ацетат, левомицетин и др.)

Компетенции: УК-1.2, УК-1.3

5. Аппаратурное оформление ИК-спектрометров различных моделей.

Компетенции: УК-1.2, ОПК-2.1

10. Тестовые задания по теме с эталонами ответов

1. КОЭФФИЦИЕНТ ПРОПУСКАНИЯ ЭТО:

- 1) отношение интенсивности падающего на раствор света k ; интенсивности света прошедшего через чистый растворитель;
- 2) логарифм отношения интенсивностей;
- 3) оптическая плотность 1 молярного раствора;
- 4) взятый с обратным знаком логарифм интенсивностей;

Правильный ответ: 1

Компетенции: ОПК-2.1

2. ОПТИЧЕСКАЯ ПЛОТНОСТЬ - ЭТО:

- 1) логарифм отношения интенсивностей;
- 2) оптическая плотность 1 молярного раствора;
- 3) взятый с обратным знаком логарифм интенсивностей;
- 4) отношение интенсивности падающего на раствор света k ; интенсивности света прошедшего через чистый растворитель;

Правильный ответ: 4

Компетенции: УК-1.2

3. УДЕЛЬНЫЙ ПОКАЗАТЕЛЬ ПОГЛОЩЕНИЯ - ЭТО:

- 1) оптическая плотность молярного раствора при толщине кюветы 1 см;
- 2) оптическая плотность 1% раствора при толщине кюветы 1 см;
- 3) обратный десятичный логарифм от оптической плотности;
- 4) логарифм от коэффициента пропускания;

Правильный ответ: 2

Компетенции: ОПК-2.1

4. МОЛЯРНЫЙ ПОКАЗАТЕЛЬ ПОГЛОЩЕНИЯ - ЭТО:

- 1) обратный десятичный логарифм от оптической плотности;

- 2) логарифм от коэффициента пропускания;
- 3) оптическая плотность молярного раствора при толщине кюветы 1 см;
- 4) оптическая плотность 1% раствора при толщине кюветы 1 см;

Правильный ответ: 3

Компетенции: ОПК-2.1

5. ФАКТОРЫ, ДЕЙСТВИЕ КОТОРЫХ МОЖЕТ ПРИВЕСТИ К ОТКЛОНЕНИЮ ОТ ЗАКОНОВ БЕРА:

- 1) колебания в монохроматичности света;
- 2) при том же хим.составе изменение вида светопоглощающих частиц;
- 3) очень маленькая толщина кюветы;
- 4) температура измеряемого раствора ниже 10 С;

Правильный ответ: 1,2

Компетенции: УК-1.2

11. Ситуационные задачи по теме с эталонами ответов

1. На аптечный склад поступил грудной сбор № 4, расфасованный по 50,0 в пакеты бумажные, с последующим вложением в пачки картонные. Провизор-аналитик провел приемочный контроль по показателям упаковка, маркировка и содержание действующих веществ. В протоколе анализа он отметил: маркировка частично отсутствует, неполная (отсутствует номер серии, данные производителя, штрих-код); упаковка соответствует требованиям нормативного документа. Фармацевты сообщили в отдел продаж, что на остатках аптечного склада достаточно грудного сбора № 1 и других лекарственных растительных препаратов для приготовления настоев отхаркивающего и противовоспалительного действия.

Вопрос 1: Какое растительное сырье используется для получения сборов при заболевании дыхательных путей, сопровождающемся кашлем?;

Вопрос 2: Перечислите возможные способы доставки товара в аптеку и их особенности.;

1) Для получения сборов используется смесь измельченного лекарственного растительного сырья — корней алтея, листьев мать-и-мачехи, травы душицы, листьев подорожника большого, корней солодки, цветков ромашки, побегов багульника, цветков календулы, травы фиалки, листьев мяты, плоды аниса обыкновенного, листья шалфея лекарственного.;

2) Транспортировка заказов на фармацевтическом рынке может осуществляться как поставщиком товаров (производитель, оптовое предприятие), специализированной транспортной организацией (грузоперевозчик), так и самим заказчиком(самовывоз). Процесс транспортировки начинается с выбора транспортного средства, так как от вида транспортного средства зависит своевременность доставки, сохранность груза и уровень цен на товары. Виды транспорта. Автомобильный – высокая стоимость, скорость доставки, очень высокие надежность и доступность, очень низкая способность перевозить различные грузы. Железнодорожный – очень низкие стоимость и время доставки, очень высокая надежность, доступность и способность перевозить различные грузы. Воздушный - очень высокие стоимость, скорость доставки, низкая доступность, очень низкие надежность и способность перевозить различные грузы. Водный – очень низкие стоимость, скорость, надежность, очень высокая способность перевозить различные грузы.;

Компетенции: УК-1.2, УК-1.3, ОПК-2.1

2. Методом спектрофотометрии установлено, что молярный показатель поглощения фурагина при длине волны 396 нм равен 615, оптическая плотность 0,0005% раствора фурагина при толщине поглощающего слоя 10 мм равна 0,390. М.м. фурагина 264,20.

Вопрос 1: Какой из видов фармацевтического анализа дает наибольшую информацию об эффективности лекарства?;

Вопрос 2: Какие реакции подлинности можно предложить при анализе ЛФ?;

1) Биофармацевтический анализ.;

2) При окислении сульфаниламидов хлорамином в щелочной среде и сочетании с фенолами образуются индофеноловые красители. Эта реакция применяется для количественного ФЭК-определения лекарственных веществ этой группы;

Компетенции: УК-1.2, УК-1.3, ОПК-2.1

12. Примерная тематика НИРС по теме

1. Газожидкостная хроматография. Коэффициент распределения, выбор подвижной фазы. Методы определения подлинности и количественного содержания веществ в лекарственной форме.
2. Предложить студентам, подготовить обучающие программы по изучаемой теме.
3. Особенности капиллярной хроматографии
4. Достоинства и недостатки газовой адсорбционной и газожидкостной хроматографии

13. Рекомендованная литература по теме занятия

- **дополнительная:**

[Фармацевтическая химия](#) : учебник / ред. Г. В. Раменская. - 3-е изд., (электрон.). - Москва : Лаборатория знаний, 2019. - 470 с. - Текст : электронный.

- **электронные ресурсы:**

Анализ лекарственных препаратов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

(<https://docs.google.com/file/d/0ByYcXpTXVG2vWU5XWm4tbVBxVVU/edit>)

Качественный анализ методом высокоэффективной жидкостной хроматографии
(<https://docs.google.com/file/d/0ByYcXpTXVG2vampYR2VnTkQteWs/edit>)

Анализ лекарственных препаратов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии в сочетании с хромато-масс спектрометрией (<https://docs.google.com/file/d/0ByYcXpTXVG2vZjRrQUhfbzFoOFU/edit>)

1. Тема № 4. Спектрофотометрия в видимой области спектра. Применение методов в фармаанализе. (Компетенции: УК-1.1, УК-1.3)

2. Разновидность занятия: дискуссия

3. Методы обучения: объяснительно-иллюстративный

4. Значение темы (актуальность изучаемой проблемы): Фармацевтическая химия занимает центральное место среди других специальных фармацевтических дисциплин – фармакогнозии, фармацевтической технологии, фармакологии, организации и экономики фармации, токсикологической химии и является своеобразным связующим звеном между ними. Задачи, стоящие перед фармацевтической химией, решаются с помощью классических химических, физических и физико-химических методов, которые используются как для синтеза, так и для анализа лекарственных веществ. Разработка нормативно-правовых документов, регламентирующих качество фармацевтической продукции, а также неукоснительное соблюдение и контроль за соответствием качества продукции данным документам является важнейшей задачей фармацевтического анализа и его составной части – фармакопейного анализа. Материал данной темы будет использоваться при изучении других тем фармацевтической химии.

5. Цели обучения

- **обучающийся должен знать** оборудование и реактивы для проведения физико-химического анализа лекарственных веществ для медицинского применения, биомедицинского клеточного продукта и медицинских изделий, принципы работы автоматизированных аналитических систем, методы, приемы и способы выполнения химического и физико-химического анализа, **уметь** определять показатель преломления на рефрактометре, расчет концентрации с использованием метода интерполяции, определять рН среды потенциометрически на иономере, приготовить титрованный раствор по навеске и из фиксаля и установление поправочного коэффициента, **владеть** техникой ионообменной, бумажной и тонкослойной хроматографии, техникой работы на фотоэлектроколориметре: определение концентрации, определение удельного показателя поглощения

6. Место проведения и оснащение занятия:

- **место проведения занятия:** учебная комната 6-26

- **оснащение занятия:** весы аналитические, весы электронные, влагоанализатор mettler toledo, иономер, набор химических реактивов, набор химической посуды, спектрофотометр unisco, фотоколориметр leki, шкафы вытяжные, штативы лабораторные, электропечь муфельная

7. Структура содержания темы (хронокарта)

Хронокарта

п/п	Этапы практического занятия	Продолжительность (мин.)	Содержание этапа и оснащенность
1	Организация занятия	5.00	Проверка посещаемости и внешнего вида обучающихся
2	Формулировка темы и целей	5.00	Озвучивание преподавателем темы и ее актуальности, целей занятия
3	Контроль исходного уровня знаний и умений	10.00	Тестирование
4	Раскрытие учебно-целевых вопросов по теме занятия	10.00	Инструктаж обучающихся преподавателем
5	Самостоятельная работа обучающихся: а) приготовление эталонных растворов, б) подготовка к ответам на вопросы занятия.	40.00	1) выполнение практического задания, 2) подготовка к ответам на вопросы занятия по учебнику и учебному пособию.
6	Итоговый контроль знаний (письменно или устно)	15.00	ситуационные задачи
7	Задание на дом (на следующее занятие)	5.00	Учебно-методические разработки следующего занятия и методические разработки для внеаудиторной работы по теме
	ВСЕГО	90	

8. Аннотация (краткое содержание темы)

Фотометрические методы анализа основаны на использовании объединенного закона Бугера-Ламберта-Бера:

где J_0 – интенсивность излучения, падающего на вещество; J – интенсивность излучения, прошедшего через вещество; $A(D)$ – величина оптической плотности; x – показатель поглощения данного вещества; C – концентрация раствора анализируемого вещества, г; l – длина рабочего слоя кюветы, см.

На основании этого закона содержание вещества в растворе определяют по формуле:

В случае несоответствия закону Бугера-Ламберта-Бера вначале с помощью стандартного раствора устанавливают

зависимость оптической плотности от концентрации, а затем строят калибровочный график, с помощью которого выполняют расчеты.

Спектрофотометрия в УФ - и видимой областях – один из наиболее широко используемых физико-химических методов в фармацевтическом анализе.

Анализируемые ЛВ должны иметь в структуре молекулы хромофорные группы (сопряженные связи, ароматическое ядро и др.), обуславливающие различные электронные переходы в молекулах и поглощение электромагнитного излучения.

Кривая зависимости интенсивности светопоглощения от длины волны (нм) называется спектром поглощения вещества и является его специфической характеристикой. Измерение спектров поглощения растворов анализируемых веществ в ультрафиолетовой (190 – 380 нм) и видимой (380 – 780 нм) областях производят с помощью спектрофотометров различных марок. В качестве растворителей используют свободные от примесей воду, растворы кислот и щелочей, этанол, хлороформ и другие органические растворители.

Спектрофотометрической константой является удельный показатель поглощения (E), который рассчитывают по формуле:

Удельный показатель поглощения E представляет собой величину оптической плотности раствора, содержащего 1,0 г вещества в 100 мл раствора, измеренную в кювете с рабочей длиной 1 см. Установив по стандартному образцу величину E и преобразовав эту формулу, можно рассчитать концентрацию анализируемого вещества с относительной погрешностью до $\pm 2\%$.

Идентификацию ЛВ можно провести по E , характеру спектральных кривых в различных растворителях, положению максимума и минимума светопоглощения или их отношению (при различных длинах волн). Для количественного спектрофотометрического анализа важен выбор аналитической полосы поглощения. Последняя должна быть свободна от наложения полос поглощения других компонентов смеси и иметь достаточно высокий удельный показатель поглощения анализируемого вещества.

Фотоколориметрия отличается от спектрофотометрического анализа тем, что анализируемое вещество с помощью какого-либо реагента переводят (количественно) в окрашенное соединение. Вначале получают окрашенные растворы, используя растворы стандартных образцов (ГСО или РСО). Измерение оптической плотности производят на фотоколориметрах. Затем строят калибровочный график зависимости интенсивности поглощения окрашенных растворов от концентрации, по которому рассчитывают содержание ЛВ в испытуемых образцах ЛВ или ЛФ.

Метод дифференциальной спектрофотометрии и фотоколориметрии основан на измерении светопоглощения анализируемого раствора относительно раствора сравнения, содержащего определенное количество стандартного образца испытуемого вещества или его заместителя. Такой прием приводит к изменению рабочей области шкалы прибора и снижению относительной погрешности определения до $\pm 0,5-1\%$, т.е. сопоставимой с титриметрическими методами.

Производная УФ-спектрофотометрия является одним из вариантов дифференциальной спектрофотометрии. Если в дифференциальной спектрофотометрии используют разность оптических плотностей при одной и той же длине волны, то в производной — при двух длинах волн, разделенных небольшим интервалом. Этот вариант основан на выделении индивидуальных полос из УФ-спектра, который представляет собой сумму налагающихся полос поглощения или полос, не имеющих четко выраженного максимума. При этом на спектральных кривых в координатах: производная - длина волны появляются полосы с отчетливо выраженными максимумами и минимумами. Благодаря этому можно идентифицировать сходные по химической структуре вещества, повысить избирательность анализа и выполнять количественное определение двух-, трехкомпонентных смесей более экономично и эффективно, чем титриметрическими методами.

Одним из вариантов дифференциальной спектрофотометрии является **Е-метод**. Он основан на превращении одного из веществ, входящих в состав анализируемой пробы, в таутомерную (или иную) форму, отличающуюся по характеру и интенсивности светопоглощения. Затем намеряют светопоглощение раствора одной таутомерной формы по отношению к другой, т.е. используют в качестве стандарта раствор анализируемого вещества.

Спектрофотометрия в ИК-области. Природа полос поглощения в ИК области связана с колебательными переходами и изменением колебательных состояний ядер, входящих в молекулу поглощающего вещества. Поэтому поглощением в ИК-области обладают молекулы, дипольные моменты которых изменяются при возбуждении колебательных движений ядер. Область применения ИК-спектроскопии аналогична, но более широка, чем у УФ-метода. ИК-спектр однозначно характеризует всю структуру молекулы, включая незначительные её изменения. Важные преимущества ИК-спектроскопии — высокая специфичность, объективность полученных результатов,

возможность анализа веществ в кристаллическом состоянии. Для измерения ИК-спектров на однолучевых или дуолучевых ИК-спектрофотометрах используют взвеси веществ в вазелиновом масле или помещают анализируемое вещество между пластинами из бромида калия. Каждый ИК-спектр представляет собой серию полос поглощения, максимумы которых определяются волновым числом, измеряемым в см^{-1} , и определенной интенсивностью. Для анализа ЛВ обычно используют спектральную область от 4000 до 400 см^{-1} .

ГФ XI рекомендует два способа установления подлинности по ИК-спектрам. Один из них основан на сравнении зарегистрированных в идентичных условиях ИК-спектров испытуемого ЛВ и его стандартного образца. Второй способ заключается в сравнении ИК-спектра испытуемого ЛВ с его стандартным спектром, прилагаемым к ФС и зарегистрированным в соответствии с указанными в ней требованиями.

Фототурбидиметрия – метод, основанный на измерении интенсивности света, поглощенного тонкодисперсной суспензией, и **фотонепелометрия** – метод, основанный на измерении света, рассеянного взвешенными частицами анализируемого вещества. Оба метода довольно редко применяют в фармацевтическом анализе для количественного определения ЛВ, образующих с различными реактивами тонкие суспензии. Предварительно устанавливают зависимость между интенсивностью поглощения (рассеяния) света и концентрацией вещества в анализируемом растворе. Способы расчета аналогичны фотометрическим методам.

Лабораторная работа

ПРОПИСЬ: Раствор этакридина лактата 1:1000 - 100,0 мл

Однокомпонентная жидкая лекарственная форма для наружного применения. В основе фотоэлектроколориметрического и спектрофотометрического методов количественного определения этакридина лактата лежит реакция получения окрашенной в вишнево-красный цвет соли диазония

Желтая прозрачная жидкость с зеленой флуоресценцией.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПОДЛИННОСТИ

К 1 – 2 мл раствора прибавляют 0,2 мл кислоты хлористоводородной разведенной и 0,2 мл 0,1 моль/л раствора натрия нитрита. Появляется вишнево-красное окрашивание.

Методика. 2,5 мл исследуемого раствора помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл и по каплям прибавляют 0,6 мл 1 моль/л раствора кислоты хлористоводородной и 0,5 мл 1% раствора натрия нитрита, появляется вишнево-красное окрашивание. Через 5 минут объем раствора доводят водой до метки и перемешивают. Измеряют оптическую плотность раствора на спектрофотометре или фотоэлектроколориметре при длине волны 520 нм, в кюветах с толщиной слоя 1 см. Раствор сравнения – вода.

Одновременно измеряют оптическую плотность стандартного раствора.

Приготовление стандартного раствора (0,1%).

2,5 мл 0,1% раствора этакридина лактата помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл и далее продолжают, как описано ранее.

1 мл стандартного раствора содержит 0,00005 г этакридина лактата.

Построение графика.

Для построения графика зависимости оптической плотности от концентрации готовят серию стандартных растворов. С этой целью 0,5 мл, 1,0 мл, 1,5 мл, 2,0 мл, 2,5 мл, 3,0 мл стандартного раствора этакридина лактата помещают в мерные колбы вместимостью 50 мл и прибавляют в каждую колбу воды до 5 мл, по 0,6 мл кислоты хлористоводородной и по 0,5 мл 1% раствора натрия нитрита. Через 5 минут объем раствора доводят водой до метки, перемешивают и измеряют оптическую плотность полученных растворов в кювете с толщиной поглощающего слоя 1 см при длине волны 520 нм. Строят график зависимости $D=f(C)$, откладывая по оси абсцисс концентрацию в г/мл, а по оси ординат – оптическую плотность раствора.

Расчет концентрации исследуемого раствора.

1. По графику.

Где $C_{\text{граф}}$ – концентрация исследуемого раствора, определенная графически, в г/мл;

Впроп. - объем лекарственной формы по прописи, в мл .

2. По стандартному раствору.

Где $D_{\text{иссл}}$ - оптическая плотность исследуемого раствора;

$D_{\text{ст}}$ - оптическая плотность стандартного (0,1%) раствора;

0,00005 - количество граммов этакридина лактата в 1 мл стандартного раствора;

Впроп. - объем лекарственной формы по прописи, в мл.

3. С использованием рассчитанного удельного показателя поглощения.

где n - удельный показатель поглощения стандартного раствора этакридина лактата, где $n = 1, 2, 3, \dots, n$;

C_n - концентрация n -ного фотометрируемого стандартного раствора этакридина лактата, в %;

D_n - оптическая плотность n -ного фотометрируемого стандартного раствора этакридина лактата;

l - толщина поглощающего слоя, в см.

Где - среднее значение удельного показателя поглощения этакридина лактата, рассчитанное из n показателей поглощения.

9. Вопросы по теме занятия

1. Теоретические основы метода. Особенности спектрофотометрии в видимой области.

Компетенции: УК-1.1

2. Аппаратурное оформление спектрофотометров различных моделей.

Компетенции: УК-1.3

3. Аналитические возможности спектрофотометрического метода в видимой области для целей установления подлинности, чистоты и количественного содержания лекарственных средств.

Компетенции: УК-1.1, УК-1.3

4. Возможности использования спектрофотометрического метода в видимой области для анализа лекарственных веществ на примере нескольких фармакопейных статей (цианокобаламин, ретинола ацетат, левомицетин и др.).

Компетенции: УК-1.1, УК-1.3

5. Аппаратурное оформление ИК-спектрометров различных моделей.

Компетенции: УК-1.1

10. Тестовые задания по теме с эталонами ответов

1. КОЭФФИЦИЕНТ ПРОПУСКАНИЯ - ЭТО:

- 1) отношение интенсивности падающего на раствор света k ; интенсивности света прошедшего через чистый растворитель;
- 2) логарифм отношения интенсивностей;
- 3) оптическая плотность 1 молярного раствора;
- 4) взятый с обратным знаком логарифм интенсивностей;

Правильный ответ: 1

Компетенции: УК-1.3

2. ОПТИЧЕСКАЯ ПЛОТНОСТЬ - ЭТО:

- 1) логарифм отношения интенсивностей;
- 2) оптическая плотность 1 молярного раствора;
- 3) взятый с обратным знаком логарифм интенсивностей;
- 4) отношение интенсивности падающего на раствор света k ; интенсивности света прошедшего через чистый растворитель;

Правильный ответ: 4

Компетенции: УК-1.3

3. МЕТОД, КОТОРЫЙ НЕ ИСПОЛЬЗУЕТСЯ В КОЛИЧЕСТВЕННЫХ ИЗМЕРЕНИЯХ В СПЕКТРОФОТОМЕТРИИ:

- 1) метод добавок;
- 2) метод молярного коэффициента поглощения;
- 3) градуировочного графика;
- 4) метод фазовой растворимости;

Правильный ответ: 4

Компетенции: УК-1.3

4. ОПТИМАЛЬНОЕ ЗНАЧЕНИЕ ОПТИЧЕСКОЙ ПЛОТНОСТИ ДЛЯ КОЛИЧЕСТВЕННЫХ ИЗМЕРЕНИЙ:

- 1) 0,02-0,07;
- 2) 0,1- 0,3;
- 3) 0,5-0,7;
- 4) 0,8- 1,0;

Правильный ответ: 3

Компетенции: УК-1.3

5. ДЛЯ ЦЕЛЕЙ ИДЕНТИФИКАЦИИ БОЛЕЕ ИНФОРМАТИВЕН МЕТОД:

- 1) УФ-спектрофотометрия;
- 2) ИК-спектроскопия;
- 3) Спектрофотометрия в видимой области;

Правильный ответ: 2

Компетенции: УК-1.3

11. Ситуационные задачи по теме с эталонами ответов

1. Растительные препараты иммуностимулирующего действия широко используются в современной научной медицине, например, препарат «Иммунал» и многие другие.

Вопрос 1: Дайте характеристику сырьевой базы.;

Вопрос 2: Каков химический состав данного вида сырья, основные биологически активные соединения?;

- 1) Сырьё эхинацеи пурпурной. Родина – Северная Америка. В России возделывается на Северном Кавказе и в Московской обл.;
- 2) - фенилпропаноиды, представленные оксикоричными кислотами - производными кофейной кислоты (основное биологически активное соединение - цикориевая кислота); - полисахариды на основе фруктозы - фруктаны (инулин); - алкиламиды; - флавоноиды, дубильные вещества. В небольшом количестве присутствуют эфирные масла, фитостерины, сапонины, органические кислоты;

Компетенции: УК-1.1, УК-1.3

2. При построении градуировочного графика для фурацилина при длине волны 450 нм и толщине поглощающего слоя 10 мм были получены следующие значения оптической плотности: D 0,180 0,240 0,360 0,541 0,780 0,790 $c\%$ 0,004 0,006 0,008 0,0012 0,016 0,020

Вопрос 1: Какие реакции подтверждают подлинность данного ЛП с помощью экспресс-анализа?;

Вопрос 2: Установите, в каком диапазоне концентраций построенный градуировочный график подчиняется закону Бугера-Ламберта-Бера;

- 1) Для экспресс – анализа многокомпонентных жидких и твердых лекарственных форм представляют интерес и другие методы, позволяющие идентифицировать компоненты смеси без их разделения. Иногда можно одним реактивом обнаружить два ингредиента. Например, действуя окислителями, можно последовательно открывать бромиды и иодиды, раствором железа (III) хлорида, бензоаты и салицилаты и т.д. Можно подобрать реактив, который с одним лекарственным веществом, содержащимся в смеси, образует окрашенное соединение (растворимое или нерастворимое в воде), а с другим выделяет газообразный продукт. Такого результата достигают, действуя концентрированной кислотой на смесь, содержащую гидрокарбонаты и алкалоиды;
- 2) Для построения графика зависимости оптической плотности от концентрации готовят серию стандартных растворов. С этой целью 0,5 мл, 1,0 мл, 1,5 мл, 2,0 мл, 2,5 мл, 3,0 мл стандартного раствора этакридина лактата помещают в мерные колбы вместимостью 50 мл и прибавляют в каждую колбу воды до 5 мл, по 0,6 мл кислоты хлористоводородной и по 0,5 мл 1% раствора натрия нитрита. Через 5 минут объем раствора доводят водой до метки, перемешивают и измеряют оптическую плотность полученных растворов в кювете с толщиной поглощающего слоя 1 см при длине волны 520 нм. Строят график зависимости $D=f(C)$, откладывая по оси абсцисс концентрацию в г/мл, а по оси ординат – оптическую плотность раствора. Расчет концентрации исследуемого раствора по графику;

Компетенции: УК-1.1, УК-1.3

12. Примерная тематика НИРС по теме

1. Спектральные методы анализа лекарственных средств: спектрофотометрия в УФ- и видимой областях, флуориметрия, фототурбидиметрия, фотоэлектроколориметрия. Основной закон светопоглощения. Основные части фотоэлектроколориметра и принцип работы на приборах.

2. Спектральные методы анализа лекарственных средств: спектрофотометрия в ИК-области. Основные части ИК-спектрометра и принцип работы на приборах.

3. Предложить студентам, подготовить обучающие программы по изучаемой теме.

4. Сущность тонкослойной хроматографии (ТСХ). Проведение качественного и количественного анализа методом ТСХ.

5. Особенности капиллярной хроматографии

13. Рекомендованная литература по теме занятия

- дополнительная:

[Фармацевтическая химия](#) : учебник / ред. Г. В. Раменская. - 3-е изд., (электрон.). - Москва : Лаборатория знаний, 2019. - 470 с. - Текст : электронный.

- электронные ресурсы:

Анализ лекарственных препаратов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (<https://docs.google.com/file/d/0ByYcXpTXVG2vWU5XWm4tbVBxVVU/edit>)

Качественный анализ методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (<https://docs.google.com/file/d/0ByYcXpTXVG2vampYR2VnTkQteWs/edit>)

Анализ лекарственных препаратов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии в сочетании с хромато-масс спектрометрией (<https://docs.google.com/file/d/0ByYcXpTXVG2vZjRrQUhfbzFoOFU/edit>)

1. Тема № 5. Фотоэлектроколориметрия. Особенности применения метода в фармакоанализе. (Компетенции: УК-1.1, УК-1.2, УК-1.4)

2. Разновидность занятия: дискуссия

3. Методы обучения: объяснительно-иллюстративный

4. Значение темы (актуальность изучаемой проблемы): Фармацевтическая химия занимает центральное место среди других специальных фармацевтических дисциплин – фармакогнозии, фармацевтической технологии, фармакологии, организации и экономики фармации, токсикологической химии и является своеобразным связующим звеном между ними. Задачи, стоящие перед фармацевтической химией, решаются с помощью классических химических, физических и физико-химических методов, которые используются как для синтеза, так и для анализа лекарственных веществ. Разработка нормативно-правовых документов, регламентирующих качество фармацевтической продукции, а также неукоснительное соблюдение и контроль за соответствием качества продукции данным документам является важнейшей задачей фармацевтического анализа и его составной части – фармакопейного анализа. Материал данной темы будет использоваться при изучении других тем фармацевтической химии.

5. Цели обучения

- **обучающийся должен знать** оборудование и реактивы для проведения физико-химического анализа лекарственных веществ для медицинского применения, биомедицинского клеточного продукта и медицинских изделий, принципы работы автоматизированных аналитических систем, методы, приемы и способы выполнения химического и физико-химического анализа, **уметь** определять показатель преломления на рефрактометре, расчет концентрации с использованием метода интерполяции, приготовить титрованный раствор по навеске и из фиксанала и установление поправочного коэффициента, **владеть** техникой ионообменной, бумажной и тонкослойной хроматографии, техникой работы на фотоэлектроколориметре: определение концентрации, определение удельного показателя поглощения

6. Место проведения и оснащение занятия:

- **место проведения занятия:** учебная комната 6-26

- **оснащение занятия:** весы аналитические, весы электронные, влагоанализатор mettler toledo, иономер, набор химических реактивов, набор химической посуды, спектрофотометр unisco, фотоколориметр leki, шкафы вытяжные, штативы лабораторные, электропечь муфельная

7. Структура содержания темы (хронокарта)

Хронокарта

п/п	Этапы практического занятия	Продолжительность (мин.)	Содержание этапа и оснащенность
1	Организация занятия	5.00	Проверка посещаемости и внешнего вида обучающихся
2	Формулировка темы и целей	5.00	Озвучивание преподавателем темы и ее актуальности, целей занятия
3	Контроль исходного уровня знаний и умений	10.00	Тестирование
4	Раскрытие учебно-целевых вопросов по теме занятия	10.00	Инструктаж обучающихся преподавателем
5	Самостоятельная работа обучающихся: а) приготовление эталонных растворов, б) подготовка к ответам на вопросы занятия.	40.00	1) выполнение практического задания, 2) подготовка к ответам на вопросы занятия по учебнику и учебному пособию.
6	Итоговый контроль знаний (письменно или устно)	15.00	ситуационные задачи
7	Задание на дом (на следующее занятие)	5.00	Учебно-методические разработки следующего занятия и методические разработки для внеаудиторной работы по теме
	ВСЕГО	90	

8. Аннотация (краткое содержание темы)

Фотометрические методы анализа основаны на использовании объединенного закона Бугера-Ламберта-Бера:

где J_0 – интенсивность излучения, падающего на вещество; J – интенсивность излучения, прошедшего через вещество; $A(D)$ – величина оптической плотности; x – показатель поглощения данного вещества; C – концентрация раствора анализируемого вещества, г; l – длина рабочего слоя кюветы, см.

На основании этого закона содержание вещества в растворе определяют по формуле:

В случае несоответствия закону Бугера-Ламберта-Бера вначале с помощью стандартного раствора устанавливают

зависимость оптической плотности от концентрации, а затем строят калибровочный график, с помощью которого выполняют расчеты.

Спектрофотометрия в УФ - и видимой областях – один из наиболее широко используемых физико-химических методов в фармацевтическом анализе.

Анализируемые ЛВ должны иметь в структуре молекулы хромофорные группы (сопряженные связи, ароматическое ядро и др.), обуславливающие различные электронные переходы в молекулах и поглощение электромагнитного излучения.

Кривая зависимости интенсивности светопоглощения от длины волны (нм) называется спектром поглощения вещества и является его специфической характеристикой. Измерение спектров поглощения растворов анализируемых веществ в ультрафиолетовой (190 – 380 нм) и видимой (380 – 780 нм) областях производят с помощью спектрофотометров различных марок. В качестве растворителей используют свободные от примесей воду, растворы кислот и щелочей, этанол, хлороформ и другие органические растворители.

Спектрофотометрической константой является удельный показатель поглощения (E), который рассчитывают по формуле:

Удельный показатель поглощения E представляет собой величину оптической плотности раствора, содержащего 1,0 г вещества в 100 мл раствора, измеренную в кювете с рабочей длиной 1 см. Установив по стандартному образцу величину E и преобразовав эту формулу, можно рассчитать концентрацию анализируемого вещества с относительной погрешностью до $\pm 2\%$.

Идентификацию ЛВ можно провести по E , характеру спектральных кривых в различных растворителях, положению максимума и минимума светопоглощения или их отношению (при различных длинах волн). Для количественного спектрофотометрического анализа важен выбор аналитической полосы поглощения. Последняя должна быть свободна от наложения полос поглощения других компонентов смеси и иметь достаточно высокий удельный показатель поглощения анализируемого вещества.

Фотоколориметрия отличается от спектрофотометрического анализа тем, что анализируемое вещество с помощью какого-либо реагента переводят (количественно) в окрашенное соединение. Вначале получают окрашенные растворы, используя растворы стандартных образцов (ГСО или РСО). Измерение оптической плотности производят на фотоколориметрах. Затем строят калибровочный график зависимости интенсивности поглощения окрашенных растворов от концентрации, по которому рассчитывают содержание ЛВ в испытуемых образцах ЛВ или ЛФ.

Метод дифференциальной спектрофотометрии и фотоколориметрии основан на измерении светопоглощения анализируемого раствора относительно раствора сравнения, содержащего определенное количество стандартного образца испытуемого вещества или его заменителя. Такой прием приводит к изменению рабочей области шкалы прибора и снижению относительной погрешности определения до $\pm 0,5-1\%$, т.е. сопоставимой с титриметрическими методами.

Производная УФ-спектрофотометрия является одним из вариантов дифференциальной спектрофотометрии. Если в дифференциальной спектрофотометрии используют разность оптических плотностей при одной и той же длине волны, то в производной — при двух длинах волн, разделенных небольшим интервалом. Этот вариант основан на выделении индивидуальных полос из УФ-спектра, который представляет собой сумму налагающихся полос поглощения или полос, не имеющих четко выраженного максимума. При этом на спектральных кривых в координатах: производная - длина волны появляются полосы с отчетливо выраженными максимумами и минимумами. Благодаря этому можно идентифицировать сходные по химической структуре вещества, повысить избирательность анализа и выполнять количественное определение двух-, трехкомпонентных смесей более экономично и эффективно, чем титриметрическими методами.

Одним из вариантов дифференциальной спектрофотометрии является **Е-метод**. Он основан на превращении одного из веществ, входящих в состав анализируемой пробы, в таутомерную (или иную) форму, отличающуюся по характеру и интенсивности светопоглощения. Затем намеряют светопоглощение раствора одной таутомерной формы по отношению к другой, т.е. используют в качестве стандарта раствор анализируемого вещества.

Спектрофотометрия в ИК-области. Природа полос поглощения в ИК области связана с колебательными переходами и изменением колебательных состояний ядер, входящих в молекулу поглощающего вещества. Поэтому поглощением в ИК-области обладают молекулы, дипольные моменты которых изменяются при возбуждении колебательных движений ядер. Область применения ИК-спектроскопии аналогична, но более широка, чем у УФ-метода. ИК-спектр однозначно характеризует всю структуру молекулы, включая незначительные её изменения. Важные преимущества ИК-спектроскопии — высокая специфичность, объективность полученных результатов,

возможность анализа веществ в кристаллическом состоянии. Для измерения ИК-спектров на однолучевых или дуолучевых ИК-спектрофотометрах используют взвеси веществ в вазелиновом масле или помещают анализируемое вещество между пластинами из бромида калия. Каждый ИК-спектр представляет собой серию полос поглощения, максимумы которых определяются волновым числом, измеряемым в см^{-1} , и определенной интенсивностью. Для анализа ЛВ обычно используют спектральную область от 4000 до 400 см^{-1} .

ГФ XI рекомендует два способа установления подлинности по ИК-спектрам. Один из них основан на сравнении зарегистрированных в идентичных условиях ИК-спектров испытуемого ЛВ и его стандартного образца. Второй способ заключается в сравнении ИК-спектра испытуемого ЛВ с его стандартным спектром, прилагаемым к ФС и зарегистрированным в соответствии с указанными в ней требованиями.

Фототурбидиметрия – метод, основанный на измерении интенсивности света, поглощенного тонкодисперсной суспензией, и **фотонепелометрия** – метод, основанный на измерении света, рассеянного взвешенными частицами анализируемого вещества. Оба метода довольно редко применяют в фармацевтическом анализе для количественного определения ЛВ, образующих с различными реактивами тонкие суспензии. Предварительно устанавливают зависимость между интенсивностью поглощения (рассеяния) света и концентрацией вещества в анализируемом растворе. Способы расчета аналогичны фотометрическим методам.

Лабораторная работа

ПРОПИСЬ: Раствор этакридина лактата 1:1000 - 100,0 мл

Однокомпонентная жидкая лекарственная форма для наружного применения. В основе фотоэлектроколориметрического и спектрофотометрического методов количественного определения этакридина лактата лежит реакция получения окрашенной в вишнево-красный цвет соли диазония

Желтая прозрачная жидкость с зеленой флуоресценцией.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПОДЛИННОСТИ

К 1 – 2 мл раствора прибавляют 0,2 мл кислоты хлористоводородной разведенной и 0,2 мл 0,1 моль/л раствора натрия нитрита. Появляется вишнево-красное окрашивание.

Методика. 2,5 мл исследуемого раствора помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл и по каплям прибавляют 0,6 мл 1 моль/л раствора кислоты хлористоводородной и 0,5 мл 1% раствора натрия нитрита, появляется вишнево-красное окрашивание. Через 5 минут объем раствора доводят водой до метки и перемешивают. Измеряют оптическую плотность раствора на спектрофотометре или фотоэлектроколориметре при длине волны 520 нм, в кюветах с толщиной слоя 1 см. Раствор сравнения – вода.

Одновременно измеряют оптическую плотность стандартного раствора.

Приготовление стандартного раствора (0,1%).

2,5 мл 0,1% раствора этакридина лактата помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл и далее продолжают, как описано ранее.

1 мл стандартного раствора содержит 0,00005 г этакридина лактата.

Построение графика.

Для построения графика зависимости оптической плотности от концентрации готовят серию стандартных растворов. С этой целью 0,5 мл, 1,0 мл, 1,5 мл, 2,0 мл, 2,5 мл, 3,0 мл стандартного раствора этакридина лактата помещают в мерные колбы вместимостью 50 мл и прибавляют в каждую колбу воды до 5 мл, по 0,6 мл кислоты хлористоводородной и по 0,5 мл 1% раствора натрия нитрита. Через 5 минут объем раствора доводят водой до метки, перемешивают и измеряют оптическую плотность полученных растворов в кювете с толщиной поглощающего слоя 1 см при длине волны 520 нм. Строят график зависимости $D=f(C)$, откладывая по оси абсцисс концентрацию в г/мл, а по оси ординат – оптическую плотность раствора.

Расчет концентрации исследуемого раствора.

1. По графику.

Где $C_{\text{граф}}$ – концентрация исследуемого раствора, определенная графически, в г/мл;

Впроп. - объем лекарственной формы по прописи, в мл .

2. По стандартному раствору.

Где $D_{\text{иссл}}$ - оптическая плотность исследуемого раствора;

$D_{\text{ст}}$ - оптическая плотность стандартного (0,1%) раствора;

0,00005 - количество граммов этакридина лактата в 1 мл стандартного раствора;

Впроп. - объем лекарственной формы по прописи, в мл.

3. С использованием рассчитанного удельного показателя поглощения.

где n - удельный показатель поглощения стандартного раствора этакридина лактата, где $n = 1, 2, 3, \dots, n$;

C_n - концентрация n -ного фотометрируемого стандартного раствора этакридина лактата, в %;

D_n - оптическая плотность n -ного фотометрируемого стандартного раствора этакридина лактата;

l - толщина поглощающего слоя, в см.

Где \bar{n} - среднее значение удельного показателя поглощения этакридина лактата, рассчитанное из n показателей поглощения.

9. Вопросы по теме занятия

1. Теоретические основы метода. Особенности спектрофотометрии в видимой области.

Компетенции: УК-1.1, УК-1.2

2. Аппаратурное оформление спектрофотометров различных моделей.

Компетенции: УК-1.1, УК-1.4

3. Аналитические возможности спектрофотометрического метода в видимой области для целей установления подлинности, чистоты и количественного содержания лекарственных средств.

Компетенции: УК-1.1, УК-1.2

4. Возможности использования спектрофотометрического метода в видимой области для анализа лекарственных веществ на примере нескольких фармакопейных статей (цианокобаламин, ретинола ацетат, левомицетин и др.).

Компетенции: УК-1.2, УК-1.4

5. Аппаратурное оформление ИК-спектрометров различных моделей.

Компетенции: УК-1.2, УК-1.4

10. Тестовые задания по теме с эталонами ответов

1. КОЭФФИЦИЕНТ ПРОПУСКАНИЯ - ЭТО:

- 1) отношение интенсивности падающего на раствор света k ; интенсивности света прошедшего через чистый растворитель;
- 2) логарифм отношения интенсивностей;
- 3) оптическая плотность 1 молярного раствора;
- 4) взятый с обратным знаком логарифм интенсивностей;

Правильный ответ: 1

Компетенции: УК-1.2

2. ОПТИЧЕСКАЯ ПЛОТНОСТЬ - ЭТО:

- 1) логарифм отношения интенсивностей;
- 2) оптическая плотность 1 молярного раствора;
- 3) взятый с обратным знаком логарифм интенсивностей;
- 4) отношение интенсивности падающего на раствор света k ; интенсивности света прошедшего через чистый растворитель;

Правильный ответ: 4

Компетенции: УК-1.2

3. МЕТОД, КОТОРЫЙ НЕ ИСПОЛЬЗУЕТСЯ В КОЛИЧЕСТВЕННЫХ ИЗМЕРЕНИЯХ В СПЕКТРОФОТОМЕТРИИ:

- 1) метод добавок;
- 2) метод молярного коэффициента поглощения;
- 3) градуировочного графика;
- 4) метод фазовой растворимости;

Правильный ответ: 4

Компетенции: УК-1.4

4. ОПТИМАЛЬНОЕ ЗНАЧЕНИЕ ОПТИЧЕСКОЙ ПЛОТНОСТИ ДЛЯ КОЛИЧЕСТВЕННЫХ ИЗМЕРЕНИЙ:

- 1) 0,02-0,07;
- 2) 0,1- 0,3;
- 3) 0,5-0,7;
- 4) 0,8- 1,0;

Правильный ответ: 3

Компетенции: УК-1.1

5. ДЛЯ ЦЕЛЕЙ ИДЕНТИФИКАЦИИ БОЛЕЕ ИНФОРМАТИВЕН МЕТОД:

- 1) УФ-спектрофотометрия;
- 2) ИК-спектроскопия;
- 3) Спектрофотометрия в видимой области;

Правильный ответ: 2

Компетенции: УК-1.4

11. Ситуационные задачи по теме с эталонами ответов

1. Растительные препараты иммуностимулирующего действия широко используются в современной научной медицине, например, препарат «Иммунал» и многие другие.

Вопрос 1: Дайте характеристику сырьевой базы.;

Вопрос 2: Каков химический состав данного вида сырья, основные биологически активные соединения?;

- 1) Сырьё эхинацеи пурпурной. Родина – Северная Америка. В России возделывается на Северном Кавказе и в Московской обл.;
- 2) - фенилпропаноиды, представленные оксикоричными кислотами - производными кофейной кислоты (основное биологически активное соединение - цикориевая кислота); - полисахариды на основе фруктозы - фруктаны (инулин); - алкиламиды; - флавоноиды, дубильные вещества. В небольшом количестве присутствуют эфирные масла, фитостерины, сапонины, органические кислоты;

Компетенции: УК-1.1, УК-1.2, УК-1.4

2. При построении градуировочного графика для фурацилина при длине волны 450 нм и толщине поглощающего слоя 10 мм были получены следующие значения оптической плотности: D 0,180 0,240 0,360 0,541 0,780 0,790 $c\%$ 0,004 0,006 0,008 0,0012 0,016 0,020

Вопрос 1: Какие реакции подтверждают подлинность данного ЛП с помощью экспресс-анализа?;

Вопрос 2: Установите, в каком диапазоне концентраций построенный градуировочный график подчиняется закону Бугера-Ламберта-Бера;

- 1) Для экспресс – анализа многокомпонентных жидких и твердых лекарственных форм представляют интерес и другие методы, позволяющие идентифицировать компоненты смеси без их разделения. Иногда можно одним реактивом обнаружить два ингредиента. Например, действуя окислителями, можно последовательно открывать бромиды и иодиды, раствором железа (III) хлорида, бензоаты и салицилаты и т.д. Можно подобрать реактив, который с одним лекарственным веществом, содержащимся в смеси, образует окрашенное соединение (растворимое или нерастворимое в воде), а с другим выделяет газообразный продукт. Такого результата достигают, действуя концентрированной кислотой на смесь, содержащую гидрокарбонаты и алкалоиды;
- 2) Для построения графика зависимости оптической плотности от концентрации готовят серию стандартных растворов. С этой целью 0,5 мл, 1,0 мл, 1,5 мл, 2,0 мл, 2,5 мл, 3,0 мл стандартного раствора этакридина лактата помещают в мерные колбы вместимостью 50 мл и прибавляют в каждую колбу воды до 5 мл, по 0,6 мл кислоты хлористоводородной и по 0,5 мл 1% раствора натрия нитрита. Через 5 минут объем раствора доводят водой до метки, перемешивают и измеряют оптическую плотность полученных растворов в кювете с толщиной поглощающего слоя 1 см при длине волны 520 нм. Строят график зависимости $D=f(C)$, откладывая по оси абсцисс концентрацию в г/мл, а по оси ординат – оптическую плотность раствора. Расчет концентрации исследуемого раствора по графику;

Компетенции: УК-1.1, УК-1.2, УК-1.4

12. Примерная тематика НИРС по теме

1. Спектральные методы анализа лекарственных средств: спектрофотометрия в УФ- и видимой областях, флуориметрия, фототурбидиметрия, фотоэлектроколориметрия. Основной закон светопоглощения. Основные части фотоэлектроколориметра и принцип работы на приборах.

2. Спектральные методы анализа лекарственных средств: спектрофотометрия в ИК-области. Основные части ИК-спектрометра и принцип работы на приборах.

3. Предложить студентам, подготовить обучающие программы по изучаемой теме.

4. Сущность тонкослойной хроматографии (ТСХ). Проведение качественного и количественного анализа методом ТСХ.

5. Особенности капиллярной хроматографии

13. Рекомендованная литература по теме занятия

- дополнительная:

[Фармацевтическая химия](#) : учебник / ред. Г. В. Раменская. - 3-е изд., (электрон.). - Москва : Лаборатория знаний, 2019. - 470 с. - Текст : электронный.

- электронные ресурсы:

Анализ лекарственных препаратов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (<https://docs.google.com/file/d/0ByYcXpTXVG2vWU5XWm4tbVBxVVU/edit>)

Качественный анализ методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (<https://docs.google.com/file/d/0ByYcXpTXVG2vampYR2VnTkQteWs/edit>)

Анализ лекарственных препаратов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии в сочетании с хромато-масс спектрометрией (<https://docs.google.com/file/d/0ByYcXpTXVG2vZjRrQUhfbzFoOFU/edit>)

1. Тема № 6. Флуориметрия, фототурбидиметрия. Применение в анализе лекарственных средств. (Компетенции: УК-1.2, УК-1.4, ОПК-2.1)

2. Разновидность занятия: дискуссия

3. Методы обучения: объяснительно-иллюстративный

4. Значение темы (актуальность изучаемой проблемы): Фармацевтическая химия занимает центральное место среди других специальных фармацевтических дисциплин – фармакогнозии, фармацевтической технологии, фармакологии, организации и экономики фармации, токсикологической химии и является своеобразным связующим звеном между ними. Задачи, стоящие перед фармацевтической химией, решаются с помощью классических химических, физических и физико-химических методов, которые используются как для синтеза, так и для анализа лекарственных веществ. Разработка нормативно-правовых документов, регламентирующих качество фармацевтической продукции, а также неукоснительное соблюдение и контроль за соответствием качества продукции данным документам является важнейшей задачей фармацевтического анализа и его составной части – фармакопейного анализа. Материал данной темы будет использоваться при изучении других тем фармацевтической химии.

5. Цели обучения

- **обучающийся должен знать** принципы, положенные в основу физико-химических методов анализа лекарственных средств для медицинского применения, биомедицинского клеточного продукта и медицинских изделий, основные нормативные документы, касающиеся контроля качества лекарственных средств, биомедицинских препаратов и изделий медицинского назначения, оборудование и реактивы для проведения физико-химического анализа лекарственных веществ для медицинского применения, биомедицинского клеточного продукта и медицинских изделий, **уметь** определять рН среды потенциометрически на иономере, приготовить титрованный раствор по навеске и из фиксаля и установление поправочного коэффициента, **владеть** техникой работы на фотоэлектроколориметре: определение концентрации, определение удельного показателя поглощения, техникой экспресс-анализа - выполнение капельных реакций, техникой микрокристаллоскопического анализа

6. Место проведения и оснащение занятия:

- **место проведения занятия:** учебная комната 6-26

- **оснащение занятия:** весы аналитические, весы электронные, влагоанализатор mettler toledo, иономер, набор химических реактивов, набор химической посуды, спектрофотометр uniso, фотоколориметр leki, шкафы вытяжные, штативы лабораторные, электропечь муфельная

7. Структура содержания темы (хронокарта)

Хронокарта

п/п	Этапы практического занятия	Продолжительность (мин.)	Содержание этапа и оснащенность
1	Организация занятия	5.00	Проверка посещаемости и внешнего вида обучающихся
2	Формулировка темы и целей	5.00	Озвучивание преподавателем темы и ее актуальности, целей занятия
3	Контроль исходного уровня знаний и умений	10.00	Тестирование
4	Раскрытие учебно-целевых вопросов по теме занятия	10.00	Инструктаж обучающихся преподавателем
5	Самостоятельная работа обучающихся: а) приготовление эталонных растворов, б) подготовка к ответам на вопросы занятия.	40.00	1) выполнение практического задания, 2) подготовка к ответам на вопросы занятия по учебнику и учебному пособию.
6	Итоговый контроль знаний (письменно или устно)	15.00	ситуационные задачи
7	Задание на дом (на следующее занятие)	5.00	Учебно-методические разработки следующего занятия и методические разработки для внеаудиторной работы по теме
	ВСЕГО	90	

8. Аннотация (краткое содержание темы)

Фотометрические методы анализа основаны на использовании объединенного закона Бугера-Ламберта-Бера:

где J_0 – интенсивность излучения, падающего на вещество; J – интенсивность излучения, прошедшего через вещество; $A(D)$ – величина оптической плотности; x – показатель поглощения данного вещества; C – концентрация раствора анализируемого вещества; g ; l – длина рабочего слоя кюветы, см.

На основании этого закона содержание вещества в растворе определяют по формуле:

В случае несоответствия закону Бугера-Ламберта-Бера вначале с помощью стандартного раствора устанавливают зависимость оптической плотности от концентрации, а затем строят калибровочный график, с помощью которого выполняют расчеты.

Спектрофотометрия в УФ - и видимой областях – один из наиболее широко используемых физико-химических методов в фармацевтическом анализе.

Анализируемые ЛВ должны иметь в структуре молекулы хромофорные группы (сопряженные связи, ароматическое ядро и др.), обуславливающие различные электронные переходы в молекулах и поглощение электромагнитного излучения.

Кривая зависимости интенсивности светопоглощения от длины волны (нм) называется спектром поглощения вещества и является его специфической характеристикой. Измерение спектров поглощения растворов анализируемых веществ в ультрафиолетовой (190 – 380 нм) и видимой (380 – 780 нм) областях производят с помощью спектрофотометров различных марок. В качестве растворителей используют свободные от примесей воду, растворы кислот и щелочей, этанол, хлороформ и другие органические растворители.

Спектрофотометрической константой является удельный показатель поглощения (E), который рассчитывают по формуле:

Удельный показатель поглощения E представляет собой величину оптической плотности раствора, содержащего 1,0 г вещества в 100 мл раствора, измеренную в кювете с рабочей длиной 1 см. Установив по стандартному образцу величину E и преобразовав эту формулу, можно рассчитать концентрацию анализируемого вещества с относительной погрешностью до $\pm 2\%$.

Идентификацию ЛВ можно провести по E , характеру спектральных кривых в различных растворителях, положению максимума и минимума светопоглощения или их отношению (при различных длинах волн). Для количественного спектрофотометрического анализа важен выбор аналитической полосы поглощения. Последняя должна быть свободна от наложения полос поглощения других компонентов смеси и иметь достаточно высокий удельный показатель поглощения анализируемого вещества.

Фотоколориметрия отличается от спектрофотометрического анализа тем, что анализируемое вещество с помощью какого-либо реагента переводят (количественно) в окрашенное соединение. Вначале получают окрашенные растворы, используя растворы стандартных образцов (ГСО или РСО). Измерение оптической плотности производят на фотоколориметрах. Затем строят калибровочный график зависимости интенсивности поглощения окрашенных растворов от концентрации, по которому рассчитывают содержание ЛВ в испытуемых образцах ЛВ или ЛФ.

Метод дифференциальной спектрофотометрии и фотоколориметрии основан на измерении светопоглощения анализируемого раствора относительно раствора сравнения, содержащего определенное количество стандартного образца испытуемого вещества или его заменителя. Такой прием приводит к изменению рабочей области шкалы прибора и снижению относительной погрешности определения до $\pm 0,5-1\%$, т.е. сопоставимой с титриметрическими методами.

Производная УФ-спектрофотометрия является одним из вариантов дифференциальной спектрофотометрии. Если в дифференциальной спектрофотометрии используют разность оптических плотностей при одной и той же длине волны, то в производной — при двух длинах волн, разделенных небольшим интервалом. Этот вариант основан на выделении индивидуальных полос из УФ-спектра, который представляет собой сумму налагающихся полос поглощения или полос, не имеющих четко выраженного максимума. При этом на спектральных кривых в координатах: производная - длина волны появляются полосы с отчетливо выраженными максимумами и минимумами. Благодаря этому можно идентифицировать сходные по химической структуре вещества, повысить избирательность анализа и выполнять количественное определение двух-, трехкомпонентных смесей более экономично и эффективно, чем титриметрическими методами.

Одним из вариантов дифференциальной спектрофотометрии является **Е-метод**. Он основан на превращении одного из веществ, входящих в состав анализируемой пробы, в таутомерную (или иную) форму, отличающуюся по характеру и интенсивности светопоглощения. Затем измеряют светопоглощение раствора одной таутомерной формы по отношению к другой, т.е. используют в качестве стандарта раствор анализируемого вещества.

Спектрофотометрия в ИК-области. Природа полос поглощения в ИК области связана с колебательными переходами и изменением колебательных состояний ядер, входящих в молекулу поглощающего вещества. Поэтому поглощением в ИК-области обладают молекулы, дипольные моменты которых изменяются при возбуждении колебательных движений ядер. Область применения ИК-спектроскопии аналогична, но более широка, чем у УФ-метода. ИК-спектр однозначно характеризует всю структуру молекулы, включая незначительные её изменения.

Важные преимущества ИК-спектроскопии — высокая специфичность, объективность полученных результатов, возможность анализа веществ в кристаллическом состоянии. Для измерения ИК-спектров на однолучевых или двулучевых ИК-спектрофотометрах используют взвеси веществ в вазелиновом масле или помещают анализируемое вещество между пластинами из бромида калия. Каждый ИК-спектр представляет собой серию полос поглощения, максимумы которых определяются волновым числом, измеряемым в см^{-1} , и определенной интенсивностью. Для анализа ЛВ обычно используют спектральную область от 4000 до 400 см^{-1} .

ГФ XI рекомендует два способа установления подлинности по ИК-спектрам. Один из них основан на сравнении зарегистрированных в идентичных условиях ИК-спектров испытуемого ЛВ и его стандартного образца. Второй способ заключается в сравнении ИК-спектра испытуемого ЛВ с его стандартным спектром, прилагаемым к ФС и зарегистрированным в соответствии с указанными в ней требованиями.

Фототурбидиметрия – метод, основанный на измерении интенсивности света, поглощенного тонкодисперсной суспензией, и **фотонепелометрия** – метод, основанный на измерении света, рассеянного взвешенными частицами анализируемого вещества. Оба метода довольно редко применяют в фармацевтическом анализе для количественного определения ЛВ, образующих с различными реактивами тонкие суспензии. Предварительно устанавливают зависимость между интенсивностью поглощения (рассеяния) света и концентрацией вещества в анализируемом растворе. Способы расчета аналогичны фотометрическим методам.

Лабораторная работа

ПРОПИСЬ: Раствор этакридина лактата 1:1000 - 100,0 мл

Однокомпонентная жидкая лекарственная форма для наружного применения. В основе фотоэлектроколориметрического и спектрофотометрического методов количественного определения этакридина лактата лежит реакция получения окрашенной в вишнево-красный цвет соли диазония

Желтая прозрачная жидкость с зеленой флуоресценцией.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПОДЛИННОСТИ

К 1 – 2 мл раствора прибавляют 0,2 мл кислоты хлористоводородной разведенной и 0,2 мл 0,1 моль/л раствора натрия нитрита. Появляется вишнево-красное окрашивание.

Методика. 2,5 мл исследуемого раствора помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл и по каплям прибавляют 0,6 мл 1 моль/л раствора кислоты хлористоводородной и 0,5 мл 1% раствора натрия нитрита, появляется вишнево-красное окрашивание. Через 5 минут объем раствора доводят водой до метки и перемешивают. Измеряют оптическую плотность раствора на спектрофотометре или фотоэлектроколориметре при длине волны 520 нм, в кюветах с толщиной слоя 1 см. Раствор сравнения – вода.

Одновременно измеряют оптическую плотность стандартного раствора.

Приготовление стандартного раствора (0,1%).

2,5 мл 0,1% раствора этакридина лактата помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл и далее продолжают, как описано ранее.

1 мл стандартного раствора содержит 0,00005 г этакридина лактата.

Построение графика.

Для построения графика зависимости оптической плотности от концентрации готовят серию стандартных растворов. С этой целью 0,5 мл, 1,0 мл, 1,5 мл, 2,0 мл, 2,5 мл, 3,0 мл стандартного раствора этакридина лактата помещают в мерные колбы вместимостью 50 мл и прибавляют в каждую колбу воды до 5 мл, по 0,6 мл кислоты хлористоводородной и по 0,5 мл 1% раствора натрия нитрита. Через 5 минут объем раствора доводят водой до метки, перемешивают и измеряют оптическую плотность полученных растворов в кювете с толщиной поглощающего слоя 1 см при длине волны 520 нм. Строят график зависимости $D=f(C)$, откладывая по оси абсцисс концентрацию в г/мл, а по оси ординат – оптическую плотность раствора.

Расчет концентрации исследуемого раствора.

1. По графику.

Где $C_{\text{граф}}$ – концентрация исследуемого раствора, определенная графически, в г/мл;

Впроп. - объем лекарственной формы по прописи, в мл .

2. По стандартному раствору.

Где $D_{\text{иссл}}$ - оптическая плотность исследуемого раствора;

$D_{\text{ст}}$ - оптическая плотность стандартного (0,1%) раствора;

0,00005 - количество граммов этакридина лактата в 1 мл стандартного раствора;

Впроп. - объем лекарственной формы по прописи, в мл.

3. С использованием рассчитанного удельного показателя поглощения.

где n - удельный показатель поглощения стандартного раствора этакридина лактата, где $n = 1, 2, 3, \dots, n$;

C_n - концентрация n -ного фотометрируемого стандартного раствора этакридина лактата, в %;

D_n - оптическая плотность n -ного фотометрируемого стандартного раствора этакридина лактата;

l - толщина поглощающего слоя, в см.

Где - среднее значение удельного показателя поглощения этакридина лактата, рассчитанное из n показателей поглощения.

9. Вопросы по теме занятия

1. Теоретические основы метода. Особенности спектрофотометрии в видимой области.

Компетенции: УК-1.2, ОПК-2.1

2. Аппаратурное оформление спектрофотометров различных моделей.

Компетенции: УК-1.4, ОПК-2.1

3. Аналитические возможности спектрофотометрического метода в видимой области для целей установления подлинности, чистоты и количественного содержания лекарственных средств.

Компетенции: УК-1.4

4. Возможности использования спектрофотометрического метода в видимой области для анализа лекарственных веществ на примере нескольких фармакопейных статей (цианокобаламин, ретинола ацетат, левомицетин и др.).

Компетенции: УК-1.4, ОПК-2.1

5. Аппаратурное оформление ИК-спектрометров различных моделей.

Компетенции: УК-1.2, ОПК-2.1

10. Тестовые задания по теме с эталонами ответов

1. КОЭФФИЦИЕНТ ПРОПУСКАНИЯ - ЭТО:

- 1) отношение интенсивности падающего на раствор света k ; интенсивности света прошедшего через чистый растворитель;
- 2) логарифм отношения интенсивностей;
- 3) оптическая плотность 1 молярного раствора;
- 4) взятый с обратным знаком логарифм интенсивностей;

Правильный ответ: 1

Компетенции: УК-1.2

2. ОПТИЧЕСКАЯ ПЛОТНОСТЬ - ЭТО:

- 1) логарифм отношения интенсивностей;
- 2) оптическая плотность 1 молярного раствора;
- 3) взятый с обратным знаком логарифм интенсивностей;
- 4) отношение интенсивности падающего на раствор света k ; интенсивности света прошедшего через чистый растворитель;

Правильный ответ: 4

Компетенции: УК-1.2

3. МЕТОД, КОТОРЫЙ НЕ ИСПОЛЬЗУЕТСЯ В КОЛИЧЕСТВЕННЫХ ИЗМЕРЕНИЯХ В СПЕКТРОФОТОМЕТРИИ:

- 1) метод добавок;
- 2) метод молярного коэффициента поглощения;
- 3) градуировочного графика;
- 4) метод фазовой растворимости;

Правильный ответ: 4

Компетенции: ОПК-2.1

4. ОПТИМАЛЬНОЕ ЗНАЧЕНИЕ ОПТИЧЕСКОЙ ПЛОТНОСТИ ДЛЯ КОЛИЧЕСТВЕННЫХ ИЗМЕРЕНИЙ:

- 1) 0,02-0,07;
- 2) 0,1- 0,3;
- 3) 0,5-0,7;
- 4) 0,8- 1,0;

Правильный ответ: 3

Компетенции: УК-1.4

5. ДЛЯ ЦЕЛЕЙ ИДЕНТИФИКАЦИИ БОЛЕЕ ИНФОРМАТИВЕН МЕТОД:

- 1) УФ-спектрофотометрия;
- 2) ИК-спектроскопия;
- 3) Спектрофотометрия в видимой области;

Правильный ответ: 2

Компетенции: УК-1.4

11. Ситуационные задачи по теме с эталонами ответов

1. Растительные препараты иммуностимулирующего действия широко используются в современной научной медицине, например, препарат «Иммунал» и многие другие.

Вопрос 1: Дайте характеристику сырьевой базы.;

Вопрос 2: Каков химический состав данного вида сырья, основные биологически активные соединения?;

- 1) Сырьё эхинацеи пурпурной. Родина – Северная Америка. В России возделывается на Северном Кавказе и в Московской обл.;
- 2) - фенилпропаноиды, представленные оксикоричными кислотами - производными кофейной кислоты (основное биологически активное соединение - цикориевая кислота); - полисахариды на основе фруктозы - фруктаны (инулин); - алкиламиды; - флавоноиды, дубильные вещества. В небольшом количестве присутствуют эфирные масла, фитостерины, сапонины, органические кислоты;

Компетенции: УК-1.2, УК-1.4, ОПК-2.1

2. При построении градуировочного графика для фурацилина при длине волны 450 нм и толщине поглощающего слоя 10 мм были получены следующие значения оптической плотности: D 0,180 0,240 0,360 0,541 0,780 0,790 c% 0,004 0,006 0,008 0,0012 0,016 0,020

Вопрос 1: Какие реакции подтверждают подлинность данного ЛП с помощью экспресс-анализа?;

Вопрос 2: Установите, в каком диапазоне концентраций построенный градуировочный график подчиняется закону Бугера-Ламберта-Бера;

- 1) Для экспресс – анализа многокомпонентных жидких и твердых лекарственных форм представляют интерес и другие методы, позволяющие идентифицировать компоненты смеси без их разделения. Иногда можно одним реактивом обнаружить два ингредиента. Например, действуя окислителями, можно последовательно открывать бромиды и иодиды, раствором железа (III) хлорида, бензоаты и салицилаты и т.д. Можно подобрать реактив, который с одним лекарственным веществом, содержащимся в смеси, образует окрашенное соединение (растворимое или нерастворимое в воде), а с другим выделяет газообразный продукт. Такого результата достигают, действуя концентрированной кислотой на смесь, содержащую гидрокарбонаты и алкалоиды;
- 2) Для построения графика зависимости оптической плотности от концентрации готовят серию стандартных растворов. С этой целью 0,5 мл, 1,0 мл, 1,5 мл, 2,0 мл, 2,5 мл, 3,0 мл стандартного раствора этакридина лактата помещают в мерные колбы вместимостью 50 мл и прибавляют в каждую колбу воды до 5 мл, по 0,6 мл кислоты хлористоводородной и по 0,5 мл 1% раствора натрия нитрита. Через 5 минут объем раствора доводят водой до метки, перемешивают и измеряют оптическую плотность полученных растворов в кювете с толщиной поглощающего слоя 1 см при длине волны 520 нм. Строят график зависимости $D=f(C)$, откладывая по оси абсцисс концентрацию в г/мл, а по оси ординат – оптическую плотность раствора. Расчет концентрации исследуемого раствора по графику;

Компетенции: УК-1.2, УК-1.4, ОПК-2.1

12. Примерная тематика НИРС по теме

1. Спектральные методы анализа лекарственных средств: спектрофотометрия в УФ- и видимой областях, флуориметрия, фототурбидиметрия, фотоэлектроколориметрия. Основной закон светопоглощения. Основные части фотоэлектроколориметра и принцип работы на приборах.

2. Спектральные методы анализа лекарственных средств: спектрофотометрия в ИК-области. Основные части ИК-спектрометра и принцип работы на приборах.

3. Предложить студентам, подготовить обучающие программы по изучаемой теме.

4. Сущность тонкослойной хроматографии (ТСХ). Проведение качественного и количественного анализа методом ТСХ.

5. Особенности капиллярной хроматографии

13. Рекомендованная литература по теме занятия

- дополнительная:

[Фармацевтическая химия](#) : учебник / ред. Г. В. Раменская. - 3-е изд., (электрон.). - Москва : Лаборатория знаний, 2019. - 470 с. - Текст : электронный.

- электронные ресурсы:

Анализ лекарственных препаратов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (<https://docs.google.com/file/d/0ByYcXpTXVG2vWU5XWm4tbVBxVVU/edit>)

Качественный анализ методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (<https://docs.google.com/file/d/0ByYcXpTXVG2vampYR2VnTkQteWs/edit>)

Анализ лекарственных препаратов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии в сочетании с хромато-масс спектрометрией (<https://docs.google.com/file/d/0ByYcXpTXVG2vZjRrQUhfbzFoOFU/edit>)

1. Тема № 7. Определение подлинности и количественного содержания сульфацил-натрия методом УФ-спектроскопии (Компетенции: УК-1.1, УК-1.2)

2. Разновидность занятия: дискуссия

3. Методы обучения: объяснительно-иллюстративный

4. Значение темы (актуальность изучаемой проблемы): Фармацевтическая химия занимает центральное место среди других специальных фармацевтических дисциплин – фармакогнозии, фармацевтической технологии, фармакологии, организации и экономики фармации, токсикологической химии и является своеобразным связующим звеном между ними. Задачи, стоящие перед фармацевтической химией, решаются с помощью классических химических, физических и физико-химических методов, которые используются как для синтеза, так и для анализа лекарственных веществ. Разработка нормативно-правовых документов, регламентирующих качество фармацевтической продукции, а также неукоснительное соблюдение и контроль за соответствием качества продукции данным документам является важнейшей задачей фармацевтического анализа и его составной части – фармакопейного анализа. Материал данной темы будет использоваться при изучении других тем фармацевтической химии.

5. Цели обучения

- **обучающийся должен знать** методы, приемы и способы выполнения химического и физико-химического анализа для установления качественного состава и количественного определения, оборудование и реактивы для проведения физико-химического анализа лекарственных веществ для медицинского применения, биомедицинского клеточного продукта и медицинских изделий, методы, приемы и способы выполнения химического и физико-химического анализа, **уметь** определять рН среды потенциометрически на иономере, приготовить титрованный раствор по навеске и из фиксаля и установление поправочного коэффициента, использовать технику флуорисцентного анализа, **владеть** техникой ионообменной, бумажной и тонкослойной хроматографии, техникой работы на фотоэлектроколориметре: определение концентрации, определение удельного показателя поглощения

6. Место проведения и оснащение занятия:

- **место проведения занятия:** учебная комната 6-26

- **оснащение занятия:** весы аналитические, весы электронные, влагоанализатор mettler toledo, иономер, набор химических реактивов, набор химической посуды, спектрофотометр unisco, фотоколориметр leki, шкафы вытяжные, штативы лабораторные, электропечь муфельная

7. Структура содержания темы (хронокарта)

Хронокарта

п/п	Этапы практического занятия	Продолжительность (мин.)	Содержание этапа и оснащенность
1	Организация занятия	5.00	Проверка посещаемости и внешнего вида обучающихся
2	Формулировка темы и целей	5.00	Озвучивание преподавателем темы и ее актуальности, целей занятия
3	Контроль исходного уровня знаний и умений	10.00	Тестирование
4	Раскрытие учебно-целевых вопросов по теме занятия	10.00	Инструктаж обучающихся преподавателем перед практической работой.
5	Самостоятельная работа обучающихся: а) приготовление эталонных растворов, б) подготовка к ответам на вопросы занятия.	40.00	1) выполнение практического задания, 2) подготовка к ответам на вопросы занятия по учебнику и учебному пособию.
6	Итоговый контроль знаний (письменно или устно)	15.00	ситуационные задачи
7	Задание на дом (на следующее занятие)	5.00	Учебно-методические разработки следующего занятия и методические разработки для внеаудиторной работы по теме
	ВСЕГО	90	

8. Аннотация (краткое содержание темы)

Фотометрические методы анализа основаны на использовании объединенного закона Бугера-Ламберта-Бера:

где J_0 – интенсивность излучения, падающего на вещество; J – интенсивность излучения, прошедшего через вещество; $A(D)$ – величина оптической плотности; x – показатель поглощения данного вещества; C – концентрация раствора анализируемого вещества; g ; l – длина рабочего слоя кюветы, см.

На основании этого закона содержание вещества в растворе определяют по формуле:

В случае несоответствия закону Бугера-Ламберта-Бера вначале с помощью стандартного раствора устанавливают зависимость оптической плотности от концентрации, а затем строят калибровочный график, с помощью которого

выполняют расчеты.

Спектрофотометрия в УФ - и видимой областях – один из наиболее широко используемых физико-химических методов в фармацевтическом анализе.

Анализируемые ЛВ должны иметь в структуре молекулы хромофорные группы (сопряженные связи, ароматическое ядро и др.), обуславливающие различные электронные переходы в молекулах и поглощение электромагнитного излучения.

Кривая зависимости интенсивности светопоглощения от длины волны (нм) называется спектром поглощения вещества и является его специфической характеристикой. Измерение спектров поглощения растворов анализируемых веществ в ультрафиолетовой (190 – 380 нм) и видимой (380 – 780 нм) областях производят с помощью спектрофотометров различных марок. В качестве растворителей используют свободные от примесей воду, растворы кислот и щелочей, этанол, хлороформ и другие органические растворители.

Спектрофотометрической константой является удельный показатель поглощения (E), который рассчитывают по формуле:

Удельный показатель поглощения E представляет собой величину оптической плотности раствора, содержащего 1,0 г вещества в 100 мл раствора, измеренную в кювете с рабочей длиной 1 см. Установив по стандартному образцу величину E и преобразовав эту формулу, можно рассчитать концентрацию анализируемого вещества с относительной погрешностью до $\pm 2\%$.

Идентификацию ЛВ можно провести по E , характеру спектральных кривых в различных растворителях, положению максимума и минимума светопоглощения или их отношению (при различных длинах волн). Для количественного спектрофотометрического анализа важен выбор аналитической полосы поглощения. Последняя должна быть свободна от наложения полос поглощения других компонентов смеси и иметь достаточно высокий удельный показатель поглощения анализируемого вещества.

Фотоколориметрия отличается от спектрофотометрического анализа тем, что анализируемое вещество с помощью какого-либо реагента переводят (количественно) в окрашенное соединение. Вначале получают окрашенные растворы, используя растворы стандартных образцов (ГСО или РСО). Измерение оптической плотности производят на фотоколориметрах. Затем строят калибровочный график зависимости интенсивности поглощения окрашенных растворов от концентрации, по которому рассчитывают содержание ЛВ в испытуемых образцах ЛВ или ЛФ.

Метод дифференциальной спектрофотометрии и фотоколориметрии основан на измерении светопоглощения анализируемого раствора относительно раствора сравнения, содержащего определенное количество стандартного образца испытуемого вещества или его заменителя. Такой прием приводит к изменению рабочей области шкалы прибора и снижению относительной погрешности определения до $\pm 0,5-1\%$, т.е. сопоставимой с титриметрическими методами.

Производная УФ-спектрофотометрия является одним из вариантов дифференциальной спектрофотометрии. Если в дифференциальной спектрофотометрии используют разность оптических плотностей при одной и той же длине волны, то в производной — при двух длинах волн, разделенных небольшим интервалом. Этот вариант основан на выделении индивидуальных полос из УФ-спектра, который представляет собой сумму налагающихся полос поглощения или полос, не имеющих четко выраженного максимума. При этом на спектральных кривых в координатах: производная - длина волны появляются полосы с отчетливо выраженными максимумами и минимумами. Благодаря этому можно идентифицировать сходные по химической структуре вещества, повысить избирательность анализа и выполнять количественное определение двух-, трехкомпонентных смесей более экономично и эффективно, чем титриметрическими методами.

Одним из вариантов дифференциальной спектрофотометрии является **Е-метод**. Он основан на превращении одного из веществ, входящих в состав анализируемой пробы, в таутомерную (или иную) форму, отличающуюся по характеру и интенсивности светопоглощения. Затем намеряют светопоглощение раствора одной таутомерной формы по отношению к другой, т.е. используют в качестве стандарта раствор анализируемого вещества.

Спектрофотометрия в ИК-области. Природа полос поглощения в ИК области связана с колебательными переходами и изменением колебательных состояний ядер, входящих в молекулу поглощающего вещества. Поэтому поглощением в ИК-области обладают молекулы, дипольные моменты которых изменяются при возбуждении колебательных движений ядер. Область применения ИК-спектроскопии аналогична, но более широка, чем у УФ-метода. ИК-спектр однозначно характеризует всю структуру молекулы, включая незначительные её изменения. Важные преимущества ИК-спектроскопии — высокая специфичность, объективность полученных результатов, возможность анализа веществ в кристаллическом состоянии. Для измерения ИК-спектров на однолучевых или

двулучевых ИК-спектрофотометрах используют взвеси веществ в вазелиновом масле или помещают анализируемое вещество между пластинами из бромида калия. Каждый ИК-спектр представляет собой серию полос поглощения, максимумы которых определяются волновым числом, измеряемым в см^{-1} , и определенной интенсивностью. Для анализа ЛВ обычно используют спектральную область от 4000 до 400 см^{-1} .

ГФ XI рекомендует два способа установления подлинности по ИК-спектрам. Один из них основан на сравнении зарегистрированных в идентичных условиях ИК-спектров испытуемого ЛВ и его стандартного образца. Второй способ заключается в сравнении ИК-спектра испытуемого ЛВ с его стандартным спектром, прилагаемым к ФС и зарегистрированным в соответствии с указанными в ней требованиями.

Фототурбидиметрия – метод, основанный на измерении интенсивности света, поглощенного тонкодисперсной суспензией, и **фотонепелометрия** – метод, основанный на измерении света, рассеянного взвешенными частицами анализируемого вещества. Оба метода довольно редко применяют в фармацевтическом анализе для количественного определения ЛВ, образующих с различными реактивами тонкие суспензии. Предварительно устанавливают зависимость между интенсивностью поглощения (рассеяния) света и концентрацией вещества в анализируемом растворе. Способы расчета аналогичны фотометрическим методам.

Лабораторная работа

ПРОПИСЬ: Раствор этакридина лактата 1:1000 - 100,0 мл

Однокомпонентная жидкая лекарственная форма для наружного применения. В основе фотоэлектроколориметрического и спектрофотометрического методов количественного определения этакридина лактата лежит реакция получения окрашенной в вишнево-красный цвет соли диазония

Желтая прозрачная жидкость с зеленой флуоресценцией.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПОДЛИННОСТИ

К 1 – 2 мл раствора прибавляют 0,2 мл кислоты хлористоводородной разведенной и 0,2 мл 0,1 моль/л раствора натрия нитрита. Появляется вишнево-красное окрашивание.

Методика. 2,5 мл исследуемого раствора помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл и по каплям прибавляют 0,6 мл 1 моль/л раствора кислоты хлористоводородной и 0,5 мл 1% раствора натрия нитрита, появляется вишнево-красное окрашивание. Через 5 минут объем раствора доводят водой до метки и перемешивают. Измеряют оптическую плотность раствора на спектрофотометре или фотоэлектроколориметре при длине волны 520 нм, в кюветах с толщиной слоя 1 см. Раствор сравнения – вода.

Одновременно измеряют оптическую плотность стандартного раствора.

Приготовление стандартного раствора (0,1%).

2,5 мл 0,1% раствора этакридина лактата помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл и далее продолжают, как описано ранее.

1 мл стандартного раствора содержит 0,00005 г этакридина лактата.

Построение графика.

Для построения графика зависимости оптической плотности от концентрации готовят серию стандартных растворов. С этой целью 0,5 мл, 1,0 мл, 1,5 мл, 2,0 мл, 2,5 мл, 3,0 мл стандартного раствора этакридина лактата помещают в мерные колбы вместимостью 50 мл и прибавляют в каждую колбу воды до 5 мл, по 0,6 мл кислоты хлористоводородной и по 0,5 мл 1% раствора натрия нитрита. Через 5 минут объем раствора доводят водой до метки, перемешивают и измеряют оптическую плотность полученных растворов в кювете с толщиной поглощающего слоя 1 см при длине волны 520 нм. Строят график зависимости $D=f(C)$, откладывая по оси абсцисс концентрацию в г/мл, а по оси ординат – оптическую плотность раствора.

Расчет концентрации исследуемого раствора.

1. По графику.

Где $C_{\text{граф}}$ – концентрация исследуемого раствора, определенная графически, в г/мл;

$V_{\text{проп}}$ – объем лекарственной формы по прописи, в мл .

2. По стандартному раствору.

Где $D_{\text{иссл}}$ - оптическая плотность исследуемого раствора;

$D_{\text{ст}}$ - оптическая плотность стандартного (0,1%) раствора;

0,00005 - количество граммов этакридина лактата в 1 мл стандартного раствора;

$V_{\text{проп}}$ - объем лекарственной формы по прописи, в мл.

3. С использованием рассчитанного удельного показателя поглощения.

где n - удельный показатель поглощения стандартного раствора этакридина лактата, где $n = 1, 2, 3, \dots, n$;

C_n - концентрация n -ного фотометрируемого стандартного раствора этакридина лактата, в %;

D_n - оптическая плотность n -ного фотометрируемого стандартного раствора этакридина лактата;

l - толщина поглощающего слоя, в см.

Где - среднее значение удельного показателя поглощения этакридина лактата, рассчитанное из n показателей поглощения.

9. Вопросы по теме занятия

1. Теоретические основы метода. Особенности спектрофотометрии в УФ-области.

Компетенции: УК-1.1, УК-1.2

2. Аппаратурное оформление спектрофотометров различных моделей.

Компетенции: УК-1.1, УК-1.2

3. Аналитические возможности спектрофотометрического метода в УФ области для целей установления подлинности, чистоты и количественного содержания лекарственных средств.

Компетенции: УК-1.1, УК-1.2

4. Возможности использования спектрофотометрического метода в УФ области для анализа лекарственных веществ на примере нескольких фармакопейных статей (цианокобаламин, ретинола ацетат, левомецетин и др.)

Компетенции: УК-1.1, УК-1.2

5. Аппаратурное оформление ИК-спектрометров различных моделей.

Компетенции: УК-1.1, УК-1.2

10. Тестовые задания по теме с эталонами ответов

1. КОЭФФИЦИЕНТ ПРОПУСКАНИЯ ЭТО:

- 1) отношение интенсивности падающего на раствор света k ; интенсивности света прошедшего через чистый растворитель;
- 2) логарифм отношения интенсивностей;
- 3) оптическая плотность 1 молярного раствора;
- 4) взятый с обратным знаком логарифм интенсивностей;

Правильный ответ: 1

Компетенции: УК-1.1

2. ОПТИЧЕСКАЯ ПЛОТНОСТЬ - ЭТО:

- 1) логарифм отношения интенсивностей;
- 2) оптическая плотность 1 молярного раствора;
- 3) взятый с обратным знаком логарифм интенсивностей;
- 4) отношение интенсивности падающего на раствор света k ; интенсивности света прошедшего через чистый растворитель;

Правильный ответ: 4

Компетенции: УК-1.1

3. УДЕЛЬНЫЙ ПОКАЗАТЕЛЬ ПОГЛОЩЕНИЯ - ЭТО:

- 1) оптическая плотность молярного раствора при толщине кюветы 1 см;
- 2) оптическая плотность 1% раствора при толщине кюветы 1 см;
- 3) обратный десятичный логарифм от оптической плотности;
- 4) логарифм от коэффициента пропускания;

Правильный ответ: 2

Компетенции: УК-1.1

4. МОЛЯРНЫЙ ПОКАЗАТЕЛЬ ПОГЛОЩЕНИЯ - ЭТО:

- 1) обратный десятичный логарифм от оптической плотности;
- 2) логарифм от коэффициента пропускания;
- 3) оптическая плотность молярного раствора при толщине кюветы 1 см;
- 4) оптическая плотность 1% раствора при толщине кюветы 1 см;

Правильный ответ: 3

Компетенции: УК-1.2

5. ФАКТОРЫ, ДЕЙСТВИЕ КОТОРЫХ МОЖЕТ ПРИВЕСТИ К ОТКЛОНЕНИЮ ОТ ЗАКОНОВ БЕРА:

- 1) колебания в монохроматичности света;
- 2) при том же хим.составе изменение вида светопоглощающих частиц;
- 3) очень маленькая толщина кюветы;
- 4) температура измеряемого раствора ниже 10 С;

Правильный ответ: 1,2

Компетенции: УК-1.1

11. Ситуационные задачи по теме с эталонами ответов

1. На аптечный склад поступил грудной сбор № 4, расфасованный по 50,0 в пакеты бумажные, с последующим вложением в пачки картонные. Провизор-аналитик провел приемочный контроль по показателям упаковка, маркировка и содержание действующих веществ. В протоколе анализа он отметил: маркировка частично отсутствует, неполная (отсутствует номер серии, данные производителя, штрих-код); упаковка соответствует требованиям нормативного документа. Фармацевты сообщили в отдел продаж, что на остатках аптечного склада достаточно грудного сбора № 1 и других лекарственных растительных препаратов для приготовления настоев отхаркивающего и противовоспалительного действия.

Вопрос 1: Какое растительное сырье используется для получения сборов при заболевании дыхательных путей, сопровождающемся кашлем?;

Вопрос 2: Перечислите возможные способы доставки товара в аптеку и их особенности.;

1) Для получения сборов используется смесь измельченного лекарственного растительного сырья — корней алтея, листьев мать-и-мачехи, травы душицы, листьев подорожника большого, корней солодки, цветков ромашки, побегов багульника, цветков календулы, травы фиалки, листьев мяты, плоды аниса обыкновенного, листья шалфея лекарственного.;

2) Транспортировка заказов на фармацевтическом рынке может осуществляться как поставщиком товаров (производитель, оптовое предприятие), специализированной транспортной организацией (грузоперевозчик), так и самим заказчиком(самовывоз). Процесс транспортировки начинается с выбора транспортного средства, так как от вида транспортного средства зависит своевременность доставки, сохранность груза и уровень цен на товары. Виды транспорта. Автомобильный – высокая стоимость, скорость доставки, очень высокие надежность и доступность, очень низкая способность перевозить различные грузы. Железнодорожный – очень низкие стоимость и время доставки, очень высокая надежность, доступность и способность перевозить различные грузы. Воздушный - очень высокие стоимость, скорость доставки, низкая доступность, очень низкие надежность и способность перевозить различные грузы. Водный – очень низкие стоимость, скорость, надежность, очень высокая способность перевозить различные грузы.;

Компетенции: УК-1.1, УК-1.2

2. Методом спектрофотометрии установлено, что молярный показатель поглощения фурагина при длине волны 396 нм равен 615, оптическая плотность 0,0005% раствора фурагина при толщине поглощающего слоя 10 мм равна 0,390. М.м. фурагина 264,20.

Вопрос 1: Какой из видов фармацевтического анализа дает наибольшую информацию об эффективности лекарства?;

Вопрос 2: Какие реакции подлинности можно предложить при анализе ЛФ?;

1) Биофармацевтический анализ.;

2) При окислении сульфаниламидов хлорамином в щелочной среде и сочетании с фенолами образуются индофеноловые красители. Эта реакция применяется для количественного ФЭК-определения лекарственных веществ этой группы;

Компетенции: УК-1.1, УК-1.2

12. Примерная тематика НИРС по теме

1. Газожидкостная хроматография. Коэффициент распределения, выбор подвижной фазы. Методы определения подлинности и количественного содержания веществ в лекарственной форме.
2. Предложить студентам, подготовить обучающие программы по изучаемой теме.
3. Особенности капиллярной хроматографии
4. Достоинства и недостатки газовой адсорбционной и газожидкостной хроматографии

13. Рекомендованная литература по теме занятия

- дополнительная:

[Фармацевтическая химия](#) : учебник / ред. Г. В. Раменская. - 3-е изд., (электрон.). - Москва : Лаборатория знаний, 2019. - 470 с. - Текст : электронный.

- электронные ресурсы:

Анализ лекарственных препаратов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (<https://docs.google.com/file/d/0ByYcXpTXVG2vWU5XWm4tbVBxVVU/edit>)

Качественный анализ методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (<https://docs.google.com/file/d/0ByYcXpTXVG2vampYR2VnTkQteWs/edit>)

Анализ лекарственных препаратов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии в сочетании с хромато-масс спектрометрией (<https://docs.google.com/file/d/0ByYcXpTXVG2vZjRrQUhfbzFoOFU/edit>)

1. Тема № 8. Оптические методы анализа. (в интерактивной форме) (Компетенции: УК-1.4, ОПК-2.1)

2. Разновидность занятия: дискуссия

3. Методы обучения: объяснительно-иллюстративный

4. Значение темы (актуальность изучаемой проблемы): Фармацевтическая химия занимает центральное место среди других специальных фармацевтических дисциплин – фармакогнозии, фармацевтической технологии, фармакологии, организации и экономики фармации, токсикологической химии и является своеобразным связующим звеном между ними. Задачи, стоящие перед фармацевтической химией, решаются с помощью классических химических, физических и физико-химических методов, которые используются как для синтеза, так и для анализа лекарственных веществ. Разработка нормативно-правовых документов, регламентирующих качество фармацевтической продукции, а также неукоснительное соблюдение и контроль за соответствием качества продукции данным документам является важнейшей задачей фармацевтического анализа и его составной части – фармакопейного анализа. Материал данной темы будет использоваться при изучении других тем фармацевтической химии.

5. Цели обучения

- **обучающийся должен знать** методы, приемы и способы выполнения химического и физико-химического анализа, методы, приемы и способы выполнения химического и физико-химического анализа для установления качественного состава и количественного определения, методы, приемы и способы выполнения химического и физико-химического анализа, **уметь** определять удельное вращение оптически активных препаратов, определять показатель преломления на рефрактометре, расчет концентрации с использованием метода интерполяции, **владеть** техникой экспресс-анализа - выполнение капельных реакций, техникой микрокристаллоскопического анализа

6. Место проведения и оснащение занятия:

- **место проведения занятия:** учебная комната 6-26

- **оснащение занятия:** весы аналитические, весы электронные, влагоанализатор mettler toledo, иономер, набор химических реактивов, набор химической посуды, спектрофотометр uniso, фотоколориметр leki, шкафы вытяжные, штативы лабораторные, электропечь муфельная

7. Структура содержания темы (хронокарта)

Хронокарта

п/п	Этапы практического занятия	Продолжительность (мин.)	Содержание этапа и оснащенность
1	Организация занятия	5.00	Проверка посещаемости и внешнего вида обучающихся
2	Формулировка темы и целей	5.00	Озвучивание преподавателем темы и ее актуальности, целей занятия
3	Контроль исходного уровня знаний и умений	10.00	Тестирование
4	Раскрытие учебно-целевых вопросов по теме занятия	10.00	Инструктаж обучающихся преподавателем перед практической работой.
5	Самостоятельная работа обучающихся: а) приготовление эталонных растворов, б) подготовка к ответам на вопросы занятия.	40.00	1) выполнение практического задания, 2) подготовка к ответам на вопросы занятия по учебнику и учебному пособию.
6	Итоговый контроль знаний (письменно или устно)	15.00	ситуационные задачи
7	Задание на дом (на следующее занятие)	5.00	Учебно-методические разработки следующего занятия и методические разработки для внеаудиторной работы по теме
	ВСЕГО	90	

8. Аннотация (краткое содержание темы)

Фотометрические методы анализа основаны на использовании объединенного закона Бугера-Ламберта-Бера:

где J_0 - интенсивность излучения, падающего на вещество; J - интенсивность излучения, прошедшего через вещество; $A(D)$ - величина оптической плотности; x - показатель поглощения данного вещества; C - концентрация раствора анализируемого вещества; g ; l - длина рабочего слоя кюветы, см.

На основании этого закона содержание вещества в растворе определяют по формуле:

В случае несоответствия закону Бугера-Ламберта-Бера вначале с помощью стандартного раствора устанавливают зависимость оптической плотности от концентрации, а затем строят калибровочный график, с помощью которого выполняют расчеты.

Спектрофотометрия в **УФ - и видимой областях** - один из наиболее широко используемых физико-химических

методов в фармацевтическом анализе.

Анализируемые ЛВ должны иметь в структуре молекулы хромофорные группы (сопряженные связи, ароматическое ядро и др.), обуславливающие различные электронные переходы в молекулах и поглощение электромагнитного излучения.

Кривая зависимости интенсивности светопоглощения от длины волны (нм) называется спектром поглощения вещества и является его специфической характеристикой. Измерение спектров поглощения растворов анализируемых веществ в ультрафиолетовой (190 – 380 нм) и видимой (380 – 780 нм) областях производят с помощью спектрофотометров различных марок. В качестве растворителей используют свободные от примесей воду, растворы кислот и щелочей, этанол, хлороформ и другие органические растворители.

Спектрофотометрической константой является удельный показатель поглощения (E), который рассчитывают по формуле:

Удельный показатель поглощения E представляет собой величину оптической плотности раствора, содержащего 1,0 г вещества в 100 мл раствора, измеренную в кювете с рабочей длиной 1 см. Установив по стандартному образцу величину E и преобразовав эту формулу, можно рассчитать концентрацию анализируемого вещества с относительной погрешностью до $\pm 2\%$.

Идентификацию ЛВ можно провести по E , характеру спектральных кривых в различных растворителях, положению максимума и минимума светопоглощения или их отношению (при различных длинах волн). Для количественного спектрофотометрического анализа важен выбор аналитической полосы поглощения. Последняя должна быть свободна от наложения полос поглощения других компонентов смеси и иметь достаточно высокий удельный показатель поглощения анализируемого вещества.

Фотоколориметрия отличается от спектрофотометрического анализа тем, что анализируемое вещество с помощью какого-либо реагента переводят (количественно) в окрашенное соединение. Вначале получают окрашенные растворы, используя растворы стандартных образцов (ГСО или РСО). Измерение оптической плотности производят на фотоколориметрах. Затем строят калибровочный график зависимости интенсивности поглощения окрашенных растворов от концентрации, по которому рассчитывают содержание ЛВ в испытуемых образцах ЛВ или ЛФ.

Метод дифференциальной спектрофотометрии и фотоколориметрии основан на измерении светопоглощения анализируемого раствора относительно раствора сравнения, содержащего определенное количество стандартного образца испытуемого вещества или его заменителя. Такой прием приводит к изменению рабочей области шкалы прибора и снижению относительной погрешности определения до $\pm 0,5-1\%$, т.е. сопоставимой с титриметрическими методами.

Производная УФ-спектрофотометрия является одним из вариантов дифференциальной спектрофотометрии. Если в дифференциальной спектрофотометрии используют разность оптических плотностей при одной и той же длине волны, то в производной — при двух длинах волн, разделенных небольшим интервалом. Этот вариант основан на выделении индивидуальных полос из УФ-спектра, который представляет собой сумму налагающихся полос поглощения или полос, не имеющих четко выраженного максимума. При этом на спектральных кривых в координатах: производная - длина волны появляются полосы с отчетливо выраженными максимумами и минимумами. Благодаря этому можно идентифицировать сходные по химической структуре вещества, повысить избирательность анализа и выполнять количественное определение двух-, трехкомпонентных смесей более экономично и эффективно, чем титриметрическими методами.

Одним из вариантов дифференциальной спектрофотометрии является **Е-метод**. Он основан на превращении одного из веществ, входящих в состав анализируемой пробы, в таутомерную (или иную) форму, отличающуюся по характеру и интенсивности светопоглощения. Затем намеряют светопоглощение раствора одной таутомерной формы по отношению к другой, т.е. используют в качестве стандарта раствор анализируемого вещества.

Спектрофотометрия в ИК-области. Природа полос поглощения в ИК области связана с колебательными переходами и изменением колебательных состояний ядер, входящих в молекулу поглощающего вещества. Поэтому поглощением в ИК-области обладают молекулы, дипольные моменты которых изменяются при возбуждении колебательных движений ядер. Область применения ИК-спектроскопии аналогична, но более широка, чем у УФ-метода. ИК-спектр однозначно характеризует всю структуру молекулы, включая незначительные её изменения. Важные преимущества ИК-спектроскопии — высокая специфичность, объективность полученных результатов, возможность анализа веществ в кристаллическом состоянии. Для измерения ИК-спектров на однолучевых или двухлучевых ИК-спектрофотометрах используют взвеси веществ в вазелиновом масле или помещают анализируемое вещество между пластинами из бромида калия. Каждый ИК-спектр представляет собой серию полос поглощения, максимумы которых определяются волновым числом, измеряемым в см^{-1} , и определенной интенсивностью. Для

анализа ЛВ обычно используют спектральную область от 4000 до 400 см⁻¹.

ГФ XI рекомендует два способа установления подлинности по ИК-спектрам. Один из них основан на сравнении зарегистрированных в идентичных условиях ИК-спектров испытуемого ЛВ и его стандартного образца. Второй способ заключается в сравнении ИК-спектра испытуемого ЛВ с его стандартным спектром, прилагаемым к ФС и зарегистрированным в соответствии с указанными в ней требованиями.

Фототурбидиметрия – метод, основанный на измерении интенсивности света, поглощенного тонкодисперсной суспензией, и **фотонепелометрия** – метод, основанный на измерении света, рассеянного взвешенными частицами анализируемого вещества. Оба метода довольно редко применяют в фармацевтическом анализе для количественного определения ЛВ, образующих с различными реактивами тонкие суспензии. Предварительно устанавливают зависимость между интенсивностью поглощения (рассеяния) света и концентрацией вещества в анализируемом растворе. Способы расчета аналогичны фотометрическим методам.

Лабораторная работа

ПРОПИСЬ: Раствор этакридина лактата 1:1000 - 100,0 мл

Однокомпонентная жидкая лекарственная форма для наружного применения. В основе фотоэлектроколориметрического и спектрофотометрического методов количественного определения этакридина лактата лежит реакция получения окрашенной в вишнево-красный цвет соли диазония

Желтая прозрачная жидкость с зеленой флуоресценцией.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПОДЛИННОСТИ

К 1 – 2 мл раствора прибавляют 0,2 мл кислоты хлористоводородной разведенной и 0,2 мл 0,1 моль/л раствора натрия нитрита. Появляется вишнево-красное окрашивание.

Методика. 2,5 мл исследуемого раствора помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл и по каплям прибавляют 0,6 мл 1 моль/л раствора кислоты хлористоводородной и 0,5 мл 1% раствора натрия нитрита, появляется вишнево-красное окрашивание. Через 5 минут объем раствора доводят водой до метки и перемешивают. Измеряют оптическую плотность раствора на спектрофотометре или фотоэлектроколориметре при длине волны 520 нм, в кюветах с толщиной слоя 1 см. Раствор сравнения – вода.

Одновременно измеряют оптическую плотность стандартного раствора.

Приготовление стандартного раствора (0,1%).

2,5 мл 0,1% раствора этакридина лактата помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл и далее продолжают, как описано ранее.

1 мл стандартного раствора содержит 0,00005 г этакридина лактата.

Построение графика.

Для построения графика зависимости оптической плотности от концентрации готовят серию стандартных растворов. С этой целью 0,5 мл, 1,0 мл, 1,5 мл, 2,0 мл, 2,5 мл, 3,0 мл стандартного раствора этакридина лактата помещают в мерные колбы вместимостью 50 мл и прибавляют в каждую колбу воды до 5 мл, по 0,6 мл кислоты хлористоводородной и по 0,5 мл 1% раствора натрия нитрита. Через 5 минут объем раствора доводят водой до метки, перемешивают и измеряют оптическую плотность полученных растворов в кювете с толщиной поглощающего слоя 1 см при длине волны 520 нм. Строят график зависимости **D=f(C)**, откладывая по оси абсцисс концентрацию в г/мл, а по оси ординат – оптическую плотность раствора.

Расчет концентрации исследуемого раствора.

1. По графику.

Где $C_{\text{граф}}$ – концентрация исследуемого раствора, определенная графически, в г/мл;

$V_{\text{проп}}$ – объем лекарственной формы по прописи, в мл .

2. По стандартному раствору.

Где $D_{\text{иссл}}$ – оптическая плотность исследуемого раствора;

Дст. - оптическая плотность стандартного (0,1%) раствора;

0,00005 - количество граммов этакридина лактата в 1 мл стандартного раствора;

Впроп. - объем лекарственной формы по прописи, в мл.

3. С использованием рассчитанного удельного показателя поглощения.

где n - удельный показатель поглощения стандартного раствора этакридина лактата, где $n = 1, 2, 3, \dots, n$;

C_n - концентрация n -ного фотометрируемого стандартного раствора этакридина лактата, в %;

D_n - оптическая плотность n -ного фотометрируемого стандартного раствора этакридина лактата;

l - толщина поглощающего слоя, в см.

Где - среднее значение удельного показателя поглощения этакридина лактата, рассчитанное из n показателей поглощения.

9. Вопросы по теме занятия

1. Теоретические основы метода. Особенности спектрофотометрии в УФ-области.

Компетенции: УК-1.4, ОПК-2.1

2. Аппаратурное оформление спектрофотометров различных моделей.

Компетенции: УК-1.4, ОПК-2.1

3. Аналитические возможности спектрофотометрического метода в УФ области для целей установления подлинности, чистоты и количественного содержания лекарственных средств.

Компетенции: УК-1.4, ОПК-2.1

4. Возможности использования спектрофотометрического метода в УФ области для анализа лекарственных веществ на примере нескольких фармакопейных статей (цианокобаламин, ретинола ацетат, левомецетин и др.)

Компетенции: УК-1.4, ОПК-2.1

5. Аппаратурное оформление ИК-спектрометров различных моделей.

Компетенции: УК-1.4, ОПК-2.1

10. Тестовые задания по теме с эталонами ответов

1. КОЭФФИЦИЕНТ ПРОПУСКАНИЯ ЭТО:

- 1) отношение интенсивности падающего на раствор света k ; интенсивности света прошедшего через чистый растворитель;
- 2) логарифм отношения интенсивностей;
- 3) оптическая плотность 1 молярного раствора;
- 4) взятый с обратным знаком логарифм интенсивностей;

Правильный ответ: 1

Компетенции: УК-1.4

2. ОПТИЧЕСКАЯ ПЛОТНОСТЬ - ЭТО:

- 1) логарифм отношения интенсивностей;
- 2) оптическая плотность 1 молярного раствора;
- 3) взятый с обратным знаком логарифм интенсивностей;
- 4) отношение интенсивности падающего на раствор света k ; интенсивности света прошедшего через чистый растворитель;

Правильный ответ: 4

Компетенции: ОПК-2.1

3. УДЕЛЬНЫЙ ПОКАЗАТЕЛЬ ПОГЛОЩЕНИЯ - ЭТО:

- 1) оптическая плотность молярного раствора при толщине кюветы 1 см;
- 2) оптическая плотность 1% раствора при толщине кюветы 1 см;
- 3) обратный десятичный логарифм от оптической плотности;
- 4) логарифм от коэффициента пропускания;

Правильный ответ: 2

Компетенции: УК-1.4

4. МОЛЯРНЫЙ ПОКАЗАТЕЛЬ ПОГЛОЩЕНИЯ - ЭТО:

- 1) обратный десятичный логарифм от оптической плотности;
- 2) логарифм от коэффициента пропускания;

- 3) оптическая плотность молярного раствора при толщине кюветы 1 см;
- 4) оптическая плотность 1% раствора при толщине кюветы 1 см;

Правильный ответ: 3

Компетенции: УК-1.4

5. ФАКТОРЫ, ДЕЙСТВИЕ КОТОРЫХ МОЖЕТ ПРИВЕСТИ К ОТКЛОНЕНИЮ ОТ ЗАКОНОВ БЕРА:

- 1) колебания в монохроматичности света;
- 2) при том же хим.составе изменение вида светопоглощающих частиц;
- 3) очень маленькая толщина кюветы;
- 4) температура измеряемого раствора ниже 10 С;

Правильный ответ: 1,2

Компетенции: ОПК-2.1

11. Ситуационные задачи по теме с эталонами ответов

1. На аптечный склад поступил грудной сбор № 4, расфасованный по 50,0 в пакеты бумажные, с последующим вложением в пачки картонные. Провизор-аналитик провел приемочный контроль по показателям упаковка, маркировка и содержание действующих веществ. В протоколе анализа он отметил: маркировка частично отсутствует, неполная (отсутствует номер серии, данные производителя, штрих-код); упаковка соответствует требованиям нормативного документа. Фармацевты сообщили в отдел продаж, что на остатках аптечного склада достаточно грудного сбора № 1 и других лекарственных растительных препаратов для приготовления настоев отхаркивающего и противовоспалительного действия.

Вопрос 1: Какое растительное сырье используется для получения сборов при заболевании дыхательных путей, сопровождающемся кашлем?;

Вопрос 2: Перечислите возможные способы доставки товара в аптеку и их особенности.;

1) Для получения сборов используется смесь измельченного лекарственного растительного сырья — корней алтея, листьев мать-и-мачехи, травы душицы, листьев подорожника большого, корней солодки, цветков ромашки, побегов багульника, цветков календулы, травы фиалки, листьев мяты, плоды аниса обыкновенного, листья шалфея лекарственного.;

2) Транспортировка заказов на фармацевтическом рынке может осуществляться как поставщиком товаров (производитель, оптовое предприятие), специализированной транспортной организацией (грузоперевозчик), так и самим заказчиком(самовывоз). Процесс транспортировки начинается с выбора транспортного средства, так как от вида транспортного средства зависит своевременность доставки, сохранность груза и уровень цен на товары. Виды транспорта. Автомобильный – высокая стоимость, скорость доставки, очень высокие надежность и доступность, очень низкая способность перевозить различные грузы. Железнодорожный – очень низкие стоимость и время доставки, очень высокая надежность, доступность и способность перевозить различные грузы. Воздушный - очень высокие стоимость, скорость доставки, низкая доступность, очень низкие надежность и способность перевозить различные грузы. Водный – очень низкие стоимость, скорость, надежность, очень высокая способность перевозить различные грузы.;

Компетенции: УК-1.4, ОПК-2.1

2. Методом спектрофотометрии установлено, что молярный показатель поглощения фурагина при длине волны 396 нм равен 615, оптическая плотность 0,0005% раствора фурагина при толщине поглощающего слоя 10 мм равна 0,390. М.м. фурагина 264,20.

Вопрос 1: Какой из видов фармацевтического анализа дает наибольшую информацию об эффективности лекарства?;

Вопрос 2: Какие реакции подлинности можно предложить при анализе ЛФ?;

1) Биофармацевтический анализ.;

2) При окислении сульфаниламидов хлорамином в щелочной среде и сочетании с фенолами образуются индофеноловые красители. Эта реакция применяется для количественного ФЭК-определения лекарственных веществ этой группы;

Компетенции: УК-1.4, ОПК-2.1

12. Примерная тематика НИРС по теме

1. Газожидкостная хроматография. Коэффициент распределения, выбор подвижной фазы. Методы определения подлинности и количественного содержания веществ в лекарственной форме.
2. Предложить студентам, подготовить обучающие программы по изучаемой теме.
3. Особенности капиллярной хроматографии
4. Достоинства и недостатки газовой адсорбционной и газожидкостной хроматографии

13. Рекомендованная литература по теме занятия

- **дополнительная:**

[Фармацевтическая химия](#) : учебник / ред. Г. В. Раменская. - 3-е изд., (электрон.). - Москва : Лаборатория знаний, 2019. - 470 с. - Текст : электронный.

- **электронные ресурсы:**

Анализ лекарственных препаратов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (<https://docs.google.com/file/d/0ByYcXpTXVG2vWU5XWm4tbVBxVVU/edit>)

Качественный анализ методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (<https://docs.google.com/file/d/0ByYcXpTXVG2vampYR2VnTkQteWs/edit>)

Анализ лекарственных препаратов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии в сочетании с хромато-масс спектрометрией (<https://docs.google.com/file/d/0ByYcXpTXVG2vZjRrQUhfbzFoOFU/edit>)

1. Тема № 9. Оптические методы анализа лекарственных средств. Коллоквиум № 1. Зачет. (Компетенции: УК-1.1, УК-1.2, УК-1.3)

2. Разновидность занятия: дискуссия

3. Методы обучения: объяснительно-иллюстративный

4. Значение темы (актуальность изучаемой проблемы): Фармацевтическая химия занимает центральное место среди других специальных фармацевтических дисциплин – фармакогнозии, фармацевтической технологии, фармакологии, организации и экономики фармации, токсикологической химии и является своеобразным связующим звеном между ними. Задачи, стоящие перед фармацевтической химией, решаются с помощью классических химических, физических и физико-химических методов, которые используются как для синтеза, так и для анализа лекарственных веществ. Разработка нормативно-правовых документов, регламентирующих качество фармацевтической продукции, а также неукоснительное соблюдение и контроль за соответствием качества продукции данным документам является важнейшей задачей фармацевтического анализа и его составной части – фармакопейного анализа. Материал данной темы будет использоваться при изучении других тем фармацевтической химии.

5. Цели обучения

- **обучающийся должен знать** оборудование и реактивы для проведения физико-химического анализа лекарственных веществ для медицинского применения, биомедицинского клеточного продукта и медицинских изделий, принципы работы автоматизированных аналитических систем, методы, приемы и способы выполнения химического и физико-химического анализа, **уметь** приготовить титрованный раствор по навеске и из фиксанала и установление поправочного коэффициента, использовать технику флюорисцентного анализа, определить среднюю массу таблеток, рассчитать отклонения от средней массы, **владеть** техникой ионообменной, бумажной и тонкослойной хроматографии, техникой работы на фотоэлектроколориметре: определение концентрации, определение удельного показателя поглощения

6. Место проведения и оснащение занятия:

- **место проведения занятия:** учебная комната 6-26

- **оснащение занятия:** весы аналитические, весы электронные, влагоанализатор mettler toledo, иономер, набор химических реактивов, набор химической посуды, спектрофотометр unisco, фотоколориметр leki, шкафы вытяжные, штативы лабораторные, электропечь муфельная

7. Структура содержания темы (хронокарта)

Хронокарта

п/п	Этапы практического занятия	Продолжительность (мин.)	Содержание этапа и оснащенность
1	Организация занятия	5.00	Проверка посещаемости и внешнего вида обучающихся
2	Формулировка темы и целей	5.00	Озвучивание преподавателем темы и ее актуальности, целей занятия
3	Контроль исходного уровня знаний и умений	10.00	Тестирование
4	Раскрытие учебно-целевых вопросов по теме занятия	10.00	Инструктаж обучающихся преподавателем
5	Самостоятельная работа обучающихся: а) приготовление эталонных растворов, б) подготовка к ответам на вопросы занятия.	40.00	1) выполнение практического задания, 2) подготовка к ответам на вопросы занятия по учебнику и учебному пособию.
6	Итоговый контроль знаний (письменно или устно)	15.00	ситуационные задачи
7	Задание на дом (на следующее занятие)	5.00	Учебно-методические разработки следующего занятия и методические разработки для внеаудиторной работы по теме
	ВСЕГО	90	

8. Аннотация (краткое содержание темы)

Контрольное занятие для оценки уровня знаний студентов.

Фотоколориметрия отличается от спектрофотометрического анализа тем, что анализируемое вещество с помощью какого-либо реагента переводят (количественно) в окрашенное соединение. Вначале получают окрашенные растворы, используя растворы стандартных образцов (ГСО или РСО). Измерение оптической плотности производят на фотоколориметрах. Затем строят калибровочный график зависимости интенсивности поглощения окрашенных растворов от концентрации, по которому рассчитывают содержание ЛВ в испытуемых образцах ЛВ или ЛФ.

Метод дифференциальной спектрофотометрии и фотоколориметрии основан на измерении светопоглощения

анализируемого раствора относительно раствора сравнения, содержащего определенное количество стандартного образца испытуемого вещества или его заменителя. Такой прием приводит к изменению рабочей области шкалы прибора и снижению относительной погрешности определения до $\pm 0,5-1\%$, т.е. сопоставимой с титриметрическими методами.

Производная УФ-спектрофотометрия является одним из вариантов дифференциальной спектрофотометрии. Если в дифференциальной спектрофотометрии используют разность оптических плотностей при одной и той же длине волны, то в производной — при двух длинах волн, разделенных небольшим интервалом. Этот вариант основан на выделении индивидуальных полос из УФ-спектра, который представляет собой сумму налагающихся полос поглощения или полос, не имеющих четко выраженного максимума. При этом на спектральных кривых в координатах: производная - длина волны появляются полосы с отчетливо выраженными максимумами и минимумами. Благодаря этому можно идентифицировать сходные по химической структуре вещества, повысить избирательность анализа и выполнять количественное определение двух-, трехкомпонентных смесей более экономично и эффективно, чем титриметрическими методами.

Одним из вариантов дифференциальной спектрофотометрии является **Е-метод**. Он основан на превращении одного из веществ, входящих в состав анализируемой пробы, в таутомерную (или иную) форму, отличающуюся по характеру и интенсивности светопоглощения. Затем намеряют светопоглощение раствора одной таутомерной формы по отношению к другой, т.е. используют в качестве стандарта раствор анализируемого вещества.

Спектрофотометрия в ИК-области. Природа полос поглощения в ИК области связана с колебательными переходами и изменением колебательных состояний ядер, входящих в молекулу поглощающего вещества. Поэтому поглощением в ИК-области обладают молекулы, дипольные моменты которых изменяются при возбуждении колебательных движений ядер. Область применения ИК-спектроскопии аналогична, но более широка, чем у УФ-метода. ИК-спектр однозначно характеризует всю структуру молекулы, включая незначительные её изменения. Важные преимущества ИК-спектроскопии — высокая специфичность, объективность полученных результатов, возможность анализа веществ в кристаллическом состоянии. Для измерения ИК-спектров на однолучевых или двухлучевых ИК-спектрофотометрах используют взвеси веществ в вазелиновом масле или помещают анализируемое вещество между пластинами из бромида калия. Каждый ИК-спектр представляет собой серию полос поглощения, максимумы которых определяются волновым числом, измеряемым в см^{-1} , и определенной интенсивностью. Для анализа ЛВ обычно используют спектральную область от 4000 до 400 см^{-1} .

ГФ XI рекомендует два способа установления подлинности по ИК-спектрам. Один из них основан на сравнении зарегистрированных в идентичных условиях ИК-спектров испытуемого ЛВ и его стандартного образца. Второй способ заключается в сравнении ИК-спектра испытуемого ЛВ с его стандартным спектром, прилагаемым к ФС и зарегистрированным в соответствии с указанными в ней требованиями.

Фототурбидиметрия - метод, основанный на измерении интенсивности света, поглощенного тонкодисперсной суспензией, и **фотонейфелометрия** - метод, основанный на измерении света, рассеянного взвешенными частицами анализируемого вещества. Оба метода довольно редко применяют в фармацевтическом анализе для количественного определения ЛВ, образующих с различными реактивами тонкие суспензии. Предварительно устанавливают зависимость между интенсивностью поглощения (рассеяния) света и концентрацией вещества в анализируемом растворе. Способы расчета аналогичны фотометрическим методам.

9. Вопросы по теме занятия

1. Теоретические основы метода рефрактометрии и поляриметрии.

Компетенции: УК-1.1, УК-1.2

2. Какое явление лежит в основе методов?

Компетенции: УК-1.3, УК-1.1

3. Что такое показатель преломления, по какой формуле он рассчитывается?

Компетенции: УК-1.2, УК-1.1

4. Поясните физический смысл фактора прироста показателя преломления вещества.

Компетенции: УК-1.3, УК-1.2

5. Объясните влияние температуры на показатель преломления.

Компетенции: УК-1.3, УК-1.2

6. Устройство рефрактометра и поляриметра, правила работы на нём.

Компетенции: УК-1.2, УК-1.1

7. Устройство рефрактометра и поляриметра, правила работы на нём

Компетенции: УК-1.3, УК-1.2

8. Особенности анализа лекарственных средств оптическими методами.

Компетенции: УК-1.3, УК-1.1

9. Применение методов для анализа сложных лекарственных форм.

Компетенции: УК-1.3, УК-1.1

10. Применение рефрактометрии для количественного определения спирта в настойках, спирто-водных растворах.

Компетенции: УК-1.3, УК-1.2

11. Применение рефрактометрии для количественного определения спирта в настойках, спирто-водных растворах.

Компетенции: УК-1.3, УК-1.1

12. Преимущества и недостатки методов.

Компетенции: УК-1.2, УК-1.1

13. Преимущества и недостатки методов.

Компетенции: УК-1.2, УК-1.1

10. Тестовые задания по теме с эталонами ответов

1. С ПОМОЩЬЮ РЕФРАКТОМЕТРИИ МОЖНО ОПРЕДЕЛИТЬ:

- 1) содержание этанола однокомпонентной лекарственной форме;
- 2) содержание одного ингредиента в многокомпонентной лекарственной форме;
- 3) содержание двух и более компонентов в лекарственной форме;
- 4) содержание этанола и одного из компонентов лекарственной формы;

Правильный ответ: 2

Компетенции: УК-1.2

2. КОНЦЕНТРАЦИЯ СПИРТА В РАСТВОРАХ, ПРИ КОТОРОЙ НАБЛЮДАЕТСЯ ПРЯМОЛИНЕЙНАЯ ЗАВИСИМОСТЬ:

- 1) от 1 % до 55 %;
- 2) от 55 до 75 %;
- 3) от 75 до 95 %;

Правильный ответ: 1

Компетенции: УК-1.3

3. ПЕРЕД РЕФРАКТОМЕТРИЧЕСКИМ ОПРЕДЕЛЕНИЕМ СПИРТОВУЮ ЛЕКАРСТВЕННУЮ ФОРМУ, НА КОТОРОЙ ПО РЕЦЕПТУ В НЕЙ КОНЦЕНТРАЦИЯ СПИРТА ОБОЗНАЧЕНА, НУЖНО РАЗБАВИТЬ СЛУЧАЕ:

- 1) 40 %;
- 2) 70 %;
- 3) 80 %;
- 4) 95 %;

Правильный ответ: 2,3,4

Компетенции: УК-1.2

4. КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ В СПИРТОВЫХ РАСТВОРАХ ЦЕЛЕСООБРАЗНО ПРОВОДИТЬ:

- 1) титриметрическими методами;
- 2) фотоэлектроколориметрическим методом;
- 3) спектрофотометрическим методом;
- 4) рефрактометрически;

Правильный ответ: 4

Компетенции: УК-1.3

5. ПРИ РЕФРАКТОМЕТРИЧЕСКИМ ОПРЕДЕЛЕНИИ КОМПОНЕНТОВ В ВОДНО-СПИРТОВЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМАХ В КАЧЕСТВЕ КОНТРОЛЯ НЕОБХОДИМО ИСПОЛЬЗОВАТЬ ПОКАЗАТЕЛЬ ПРЕЛОМЛЕНИЯ (N_D)::

- 1) воды (при 20 °C);
- 2) этанола точно такой же концентрации, как в растворе при 20 °C;
- 3) этанола точно такой же концентрации, как в растворе при температуре измерения;

Правильный ответ: 3

Компетенции: УК-1.1

11. Ситуационные задачи по теме с эталонами ответов

1. На анализ в Контрольно-аналитическую лабораторию поступило сырьё «Красавки трава».

Вопрос 1: Какой нормативной документацией руководствуются при проведении анализа данного вида сырья?;

Вопрос 2: Каков химический состав? Укажите методы обнаружения и определения биологически активных веществ.;

1) ГФ XIII, ФС.2.5.0020.15.;

2) Содержатся алкалоиды - производные тропана (0,05-0,8%). Основными алкалоидами красавки являются L-гиосциамин, а также скополамин. В процессе первичной переработки сырья и выделения алкалоидов L-гиосциамин частично переходит в правовращающий изомер - D-гиосциамин. Рацемическая смесь право- и

левовращающих изомеров называется атропином. Кроме того, трава красавки содержит стероиды, фенольные кислоты и их производные, флавоноиды, оксикумарины, алифатические спирты. Обнаружение алкалоидов проводят с помощью качественных реакций с общеалкалоидными осадительными реактивами и методом тонкослойной хроматографии. Сумму алкалоидов в пересчете на гиосциамин в траве красавки определяют методом обратного водного титрования.;

Компетенции: УК-1.1, УК-1.2, УК-1.3

2. В контрольно-аналитическую лабораторию на анализ поступила раствор йода спиртовой 5%.

Вопрос 1: Как определить концентрацию данного ЛП с помощью рефрактометрии, используя показатель преломления?;

Вопрос 2: Какой метод количественного определения можно использовать при анализе данной ЛФ?;

1) В водных растворах этанола наблюдается линейная зависимость показателя преломления от его концентрации до 50 - 55 %. При более высокой концентрации этанола не соблюдается прямопропорциональная зависимость. В связи с этим в растворах этанола с концентрацией более 55 % необходимо его предварительное разведение водой. Следует иметь в виду, что на точность результатов рефрактометрического анализа спиртовых растворов значительное влияние оказывает температура. Поэтому, если определение показателя преломления проводится не при 20 0С, необходимо вносить поправку на температуру. Величины поправок показателя преломления на 1 0С (температурный коэффициент) приводятся в таблицах. В случае определения при температуре выше 20 0С поправку прибавляют к найденной величине показателя преломления, если анализ проведен при температуре ниже 20 0С, поправку вычитают. Для рефрактометрического определения концентрации этанола в растворах, содержащих не менее 55 % этанола, наносят на призму рефрактометра 3 - 5 капель спиртового раствора, быстро закрывают ее и определяют показатель преломления. Далее, если определение проводилось не при температуре 20 0С, вносят поправку на температуру и после приведения показателя преломления к 20 0С находят по таблице концентрацию этанола, соответствующую полученной величине показателя преломления.;

2) Метод йодиметрии. Титрант - натрия тиосульфат, индикатор - крахмал.;

Компетенции: УК-1.1, УК-1.2, УК-1.3

12. Примерная тематика НИРС по теме

1. Спектральные методы анализа лекарственных средств: спектрофотометрия в УФ- и видимой областях, флуориметрия, фототурбидиметрия, фотоэлектроколориметрия. Основной закон светопоглощения. Основные части фотоэлектроколориметра и принцип работы на приборах.
2. Спектральные методы анализа лекарственных средств: спектрофотометрия в ИК-области. Основные части ИК-спектрометра и принцип работы на приборах.
3. Предложить студентам, подготовить обучающие программы по изучаемой теме.
4. Сущность тонкослойной хроматографии (ТСХ). Проведение качественного и количественного анализа методом ТСХ.

13. Рекомендованная литература по теме занятия

- **дополнительная:**

[Фармацевтическая химия](#) : учебник / ред. Г. В. Раменская. - 3-е изд., (электрон.). - Москва : Лаборатория знаний, 2019. - 470 с. - Текст : электронный.

- **электронные ресурсы:**

Анализ лекарственных препаратов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (<https://docs.google.com/file/d/0ByYcXpTXVG2vWU5XWm4tbVBxVVU/edit>)

Качественный анализ методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (<https://docs.google.com/file/d/0ByYcXpTXVG2vampYR2VnTkQteWs/edit>)

Анализ лекарственных препаратов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии в сочетании с хромато-масс спектрометрией (<https://docs.google.com/file/d/0ByYcXpTXVG2vZjRrQUhfbzFoOFU/edit>)

1. Тема № 10. ИК-спектроскопия. Применение метода для установления структуры, подлинности и количественного содержания лекарственных веществ. (Компетенции: УК-1.3, УК-1.4, ОПК-2.1)

2. Разновидность занятия: дискуссия

3. Методы обучения: объяснительно-иллюстративный

4. Значение темы (актуальность изучаемой проблемы): Фармацевтическая химия занимает центральное место среди других специальных фармацевтических дисциплин - фармакогнозии, фармацевтической технологии, фармакологии, организации и экономики фармации, токсикологической химии и является своеобразным связующим звеном между ними. Задачи, стоящие перед фармацевтической химией, решаются с помощью классических химических, физических и физико-химических методов, которые используются как для синтеза, так и для анализа лекарственных веществ. Разработка нормативно-правовых документов, регламентирующих качество фармацевтической продукции, а также неукоснительное соблюдение и контроль за соответствием качества продукции данным документам является важнейшей задачей фармацевтического анализа и его составной части - фармакопейного анализа. Материал данной темы будет использоваться при изучении других тем фармацевтической химии.

5. Цели обучения

- **обучающийся должен знать** оборудование и реактивы для проведения физико-химического анализа лекарственных веществ для медицинского применения, биомедицинского клеточного продукта и медицинских изделий, принципы работы автоматизированных аналитических систем, методы, приемы и способы выполнения химического и физико-химического анализа, **уметь** определять удельное вращение оптически активных препаратов, приготовить титрованный раствор по навеске и из фиксаля и установление поправочного коэффициента, определить среднюю массу таблеток, рассчитать отклонения от средней массы, **владеть** техникой работы на фотоэлектроколориметре: определение концентрации, определение удельного показателя поглощения, техникой экспресс-анализа - выполнение капельных реакций, техникой микрокристаллоскопического анализа

6. Место проведения и оснащение занятия:

- **место проведения занятия:** учебная комната 6-26

- **оснащение занятия:** весы аналитические, весы электронные, влагоанализатор mettler toledo, иономер, набор химических реактивов, набор химической посуды, спектрофотометр uniso, фотоколориметр leki, шкафы вытяжные, штативы лабораторные, электропечь муфельная

7. Структура содержания темы (хронокарта)

Хронокарта

п/п	Этапы практического занятия	Продолжительность (мин.)	Содержание этапа и оснащенность
1	Организация занятия	5.00	Проверка посещаемости и внешнего вида обучающихся
2	Формулировка темы и целей	5.00	Озвучивание преподавателем темы и ее актуальности, целей занятия
3	Контроль исходного уровня знаний и умений	10.00	Тестирование
4	Раскрытие учебно-целевых вопросов по теме занятия	10.00	Инструктаж обучающихся преподавателем
5	Самостоятельная работа обучающихся: а) приготовление эталонных растворов, б) подготовка к ответам на вопросы занятия.	40.00	1) выполнение практического задания, 2) подготовка к ответам на вопросы занятия по учебнику и учебному пособию.
6	Итоговый контроль знаний (письменно или устно)	15.00	ситуационные задачи
7	Задание на дом (на следующее занятие)	5.00	Учебно-методические разработки следующего занятия и методические разработки для внеаудиторной работы по теме
	ВСЕГО	90	

8. Аннотация (краткое содержание темы)

Фотометрические методы анализа основаны на использовании объединенного закона Бугера-Ламберта-Бера:

где J_0 - интенсивность излучения, падающего на вещество; J - интенсивность излучения, прошедшего через вещество; $A(D)$ - величина оптической плотности; x - показатель поглощения данного вещества; C - концентрация раствора анализируемого вещества, г; l - длина рабочего слоя кюветы, см.

На основании этого закона содержание вещества в растворе определяют по формуле:

В случае несоответствия закону Бугера-Ламберта-Бера вначале с помощью стандартного раствора устанавливают

зависимость оптической плотности от концентрации, а затем строят калибровочный график, с помощью которого выполняют расчеты.

Спектрофотометрия в УФ - и видимой областях – один из наиболее широко используемых физико-химических методов в фармацевтическом анализе.

Анализируемые ЛВ должны иметь в структуре молекулы хромофорные группы (сопряженные связи, ароматическое ядро и др.), обуславливающие различные электронные переходы в молекулах и поглощение электромагнитного излучения.

Кривая зависимости интенсивности светопоглощения от длины волны (нм) называется спектром поглощения вещества и является его специфической характеристикой. Измерение спектров поглощения растворов анализируемых веществ в ультрафиолетовой (190 – 380 нм) и видимой (380 – 780 нм) областях производят с помощью спектрофотометров различных марок. В качестве растворителей используют свободные от примесей воду, растворы кислот и щелочей, этанол, хлороформ и другие органические растворители.

Спектрофотометрической константой является удельный показатель поглощения (E), который рассчитывают по формуле:

Удельный показатель поглощения E представляет собой величину оптической плотности раствора, содержащего 1,0 г вещества в 100 мл раствора, измеренную в кювете с рабочей длиной 1 см. Установив по стандартному образцу величину E и преобразовав эту формулу, можно рассчитать концентрацию анализируемого вещества с относительной погрешностью до $\pm 2\%$.

Идентификацию ЛВ можно провести по E , характеру спектральных кривых в различных растворителях, положению максимума и минимума светопоглощения или их отношению (при различных длинах волн). Для количественного спектрофотометрического анализа важен выбор аналитической полосы поглощения. Последняя должна быть свободна от наложения полос поглощения других компонентов смеси и иметь достаточно высокий удельный показатель поглощения анализируемого вещества.

Фотоколориметрия отличается от спектрофотометрического анализа тем, что анализируемое вещество с помощью какого-либо реагента переводят (количественно) в окрашенное соединение. Вначале получают окрашенные растворы, используя растворы стандартных образцов (ГСО или РСО). Измерение оптической плотности производят на фотоколориметрах. Затем строят калибровочный график зависимости интенсивности поглощения окрашенных растворов от концентрации, по которому рассчитывают содержание ЛВ в испытуемых образцах ЛВ или ЛФ.

Метод дифференциальной спектрофотометрии и фотоколориметрии основан на измерении светопоглощения анализируемого раствора относительно раствора сравнения, содержащего определенное количество стандартного образца испытуемого вещества или его заменителя. Такой прием приводит к изменению рабочей области шкалы прибора и снижению относительной погрешности определения до $\pm 0,5-1\%$, т.е. сопоставимой с титриметрическими методами.

Производная УФ-спектрофотометрия является одним из вариантов дифференциальной спектрофотометрии. Если в дифференциальной спектрофотометрии используют разность оптических плотностей при одной и той же длине волны, то в производной — при двух длинах волн, разделенных небольшим интервалом. Этот вариант основан на выделении индивидуальных полос из УФ-спектра, который представляет собой сумму налагающихся полос поглощения или полос, не имеющих четко выраженного максимума. При этом на спектральных кривых в координатах: производная - длина волны появляются полосы с отчетливо выраженными максимумами и минимумами. Благодаря этому можно идентифицировать сходные по химической структуре вещества, повысить избирательность анализа и выполнять количественное определение двух-, трехкомпонентных смесей более экономично и эффективно, чем титриметрическими методами.

Одним из вариантов дифференциальной спектрофотометрии является **Е-метод**. Он основан на превращении одного из веществ, входящих в состав анализируемой пробы, в таутомерную (или иную) форму, отличающуюся по характеру и интенсивности светопоглощения. Затем намеряют светопоглощение раствора одной таутомерной формы по отношению к другой, т.е. используют в качестве стандарта раствор анализируемого вещества.

Спектрофотометрия в ИК-области. Природа полос поглощения в ИК области связана с колебательными переходами и изменением колебательных состояний ядер, входящих в молекулу поглощающего вещества. Поэтому поглощением в ИК-области обладают молекулы, дипольные моменты которых изменяются при возбуждении колебательных движений ядер. Область применения ИК-спектроскопии аналогична, но более широка, чем у УФ-метода. ИК-спектр однозначно характеризует всю структуру молекулы, включая незначительные её изменения. Важные преимущества ИК-спектроскопии — высокая специфичность, объективность полученных результатов,

возможность анализа веществ в кристаллическом состоянии. Для измерения ИК-спектров на однолучевых или дуолучевых ИК-спектрофотометрах используют взвеси веществ в вазелиновом масле или помещают анализируемое вещество между пластинами из бромида калия. Каждый ИК-спектр представляет собой серию полос поглощения, максимумы которых определяются волновым числом, измеряемым в см^{-1} , и определенной интенсивностью. Для анализа ЛВ обычно используют спектральную область от 4000 до 400 см^{-1} .

ГФ XI рекомендует два способа установления подлинности по ИК-спектрам. Один из них основан на сравнении зарегистрированных в идентичных условиях ИК-спектров испытуемого ЛВ и его стандартного образца. Второй способ заключается в сравнении ИК-спектра испытуемого ЛВ с его стандартным спектром, прилагаемым к ФС и зарегистрированным в соответствии с указанными в ней требованиями.

Фототурбидиметрия – метод, основанный на измерении интенсивности света, поглощенного тонкодисперсной суспензией, и **фотонепелометрия** – метод, основанный на измерении света, рассеянного взвешенными частицами анализируемого вещества. Оба метода довольно редко применяют в фармацевтическом анализе для количественного определения ЛВ, образующих с различными реактивами тонкие суспензии. Предварительно устанавливают зависимость между интенсивностью поглощения (рассеяния) света и концентрацией вещества в анализируемом растворе. Способы расчета аналогичны фотометрическим методам.

Лабораторная работа

ПРОПИСЬ: Раствор этакридина лактата 1:1000 - 100,0 мл

Однокомпонентная жидкая лекарственная форма для наружного применения. В основе фотоэлектроколориметрического и спектрофотометрического методов количественного определения этакридина лактата лежит реакция получения окрашенной в вишнево-красный цвет соли диазония

Желтая прозрачная жидкость с зеленой флуоресценцией.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПОДЛИННОСТИ

К 1 – 2 мл раствора прибавляют 0,2 мл кислоты хлористоводородной разведенной и 0,2 мл 0,1 моль/л раствора натрия нитрита. Появляется вишнево-красное окрашивание.

Методика. 2,5 мл исследуемого раствора помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл и по каплям прибавляют 0,6 мл 1 моль/л раствора кислоты хлористоводородной и 0,5 мл 1% раствора натрия нитрита, появляется вишнево-красное окрашивание. Через 5 минут объем раствора доводят водой до метки и перемешивают. Измеряют оптическую плотность раствора на спектрофотометре или фотоэлектроколориметре при длине волны 520 нм, в кюветах с толщиной слоя 1 см. Раствор сравнения – вода.

Одновременно измеряют оптическую плотность стандартного раствора.

Приготовление стандартного раствора (0,1%).

2,5 мл 0,1% раствора этакридина лактата помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл и далее продолжают, как описано ранее.

1 мл стандартного раствора содержит 0,00005 г этакридина лактата.

Построение графика.

Для построения графика зависимости оптической плотности от концентрации готовят серию стандартных растворов. С этой целью 0,5 мл, 1,0 мл, 1,5 мл, 2,0 мл, 2,5 мл, 3,0 мл стандартного раствора этакридина лактата помещают в мерные колбы вместимостью 50 мл и прибавляют в каждую колбу воды до 5 мл, по 0,6 мл кислоты хлористоводородной и по 0,5 мл 1% раствора натрия нитрита. Через 5 минут объем раствора доводят водой до метки, перемешивают и измеряют оптическую плотность полученных растворов в кювете с толщиной поглощающего слоя 1 см при длине волны 520 нм. Строят график зависимости $D=f(C)$, откладывая по оси абсцисс концентрацию в г/мл, а по оси ординат – оптическую плотность раствора.

Расчет концентрации исследуемого раствора.

1. По графику.

Где $C_{\text{граф}}$ – концентрация исследуемого раствора, определенная графически, в г/мл;

Впроп. - объем лекарственной формы по прописи, в мл .

2. По стандартному раствору.

Где $D_{\text{иссл}}$ - оптическая плотность исследуемого раствора;

$D_{\text{ст}}$ - оптическая плотность стандартного (0,1%) раствора;

0,00005 - количество граммов этакридина лактата в 1 мл стандартного раствора;

Впроп. - объем лекарственной формы по прописи, в мл.

3. С использованием рассчитанного удельного показателя поглощения.

где n - удельный показатель поглощения стандартного раствора этакридина лактата, где $n = 1, 2, 3, \dots, n$;

C_n - концентрация n -ного фотометрируемого стандартного раствора этакридина лактата, в %;

D_n - оптическая плотность n -ного фотометрируемого стандартного раствора этакридина лактата;

l - толщина поглощающего слоя, в см.

Где - среднее значение удельного показателя поглощения этакридина лактата, рассчитанное из n показателей поглощения.

9. Вопросы по теме занятия

1. Теоретические основы метода. Особенности СФ в ИК-области.

Компетенции: УК-1.3, ОПК-2.1

2. Аппаратурное оформление ИК-спектрометров различных моделей.

Компетенции: УК-1.4, ОПК-2.1

3. Аналитические возможности спектрофотометрического метода в ИК-области для целей установления подлинности, чистоты и количественного содержания лекарственных средств.

Компетенции: УК-1.3, УК-1.4

4. Возможности использования спектрофотометрического метода в ИК-области для анализа лекарственных веществ на примере нескольких фармакопейных статей (цианокобаламин, ретинола ацетат, левомецетин и др.).

Компетенции: УК-1.4, ОПК-2.1

5. Аппаратурное оформление УФ-спектрометров различных моделей.

Компетенции: УК-1.3, УК-1.4

10. Тестовые задания по теме с эталонами ответов

1. МЕТОД, КОТОРЫЙ БОЛЕЕ ИНФОРМАТИВЕН ДЛЯ ЦЕЛЕЙ ИДЕНТИФИКАЦИИ:

- 1) УФ-спектрофотометрия;
- 2) ИК-спектроскопия;
- 3) Спектрофотометрия в видимой области;

Правильный ответ: 2

Компетенции: ОПК-2.1

2. МОНОХРОМИЗАТОРОМ В УЛЬТРАФИОЛЕТОВОЙ ОБЛАСТИ ЧАСТО ИСПОЛЬЗУЕТСЯ:

- 1) призма из кварцевого стекла;
- 2) призма из соли (калия бромид, натрия хлорида, лития фторида);
- 3) дифракционная решетка;
- 4) лазер;

Правильный ответ: 1

Компетенции: УК-1.4

3. В ИК-СПЕКТРОФОТОМЕТРАХ В КАЧЕСТВЕ МОНОХРОМИЗАТОРА ИСПОЛЬЗУЕТСЯ ЧАЩЕ ВСЕГО:

- 1) призма из кварцевого стекла;
- 2) призма из соли (калия бромид, натрия хлорида, лития фторида);
- 3) дифракционная решетка;
- 4) лазер;

Правильный ответ: 3

Компетенции: ОПК-2.1

4. МАТЕРИАЛ, ИЗ КОТОРОГО СДЕЛАНЫ ОПТИЧЕСКИЕ ЭЛЕМЕНТЫ СПЕКТРОФОТОМЕТРА:

- 1) стекла;

- 2) кварцевого стекла;
- 3) калия бромида;
- 4) полиметилакрилата;

Правильный ответ: 3

Компетенции: УК-1.4

5. ПОГЛОЩЕНИЕ ИК-ЭНЕРГИИ ОБУСЛОВЛЕНО:

- 1) электронными переходами в молекуле;
- 2) изменением вращательной энергии молекул;
- 3) возбуждением колебательных движений молекулы;
- 4) изменением магнитного момента протона;

Правильный ответ: 2,3

Компетенции: ОПК-2.1

11. Ситуационные задачи по теме с эталонами ответов

1. Дана лекарственная форма состава: Раствора рибофлавина 0,01 %- 10,0 мл Кислоты аскорбиновой 0,02 Тиамин бромид 0,02 Калия иодида 0,2 по количественному содержанию рибофлавина, если оптическая плотность раствора, полученного разведением 1,0 мл лекарственной формы до 10 мл водой, измеренная при длине волны 445 нм в кювете с толщиной поглощающего слоя 1 см равна 0,250. Удельный показатель поглощения рибофлавина при 445 нм равен 245.

Вопрос 1: Какие физико-химические методы анализа можно предложить для подлинности ЛП?;

Вопрос 2: Можно ли использовать спектральные методы для анализа данного ЛП при внутри аптечном контроле?;

- 1) Поляриметрия позволяет сделать заключение о подлинности лекарственного вещества в растворе по значению удельного вращения, рефрактометрия по показателю преломления раствора определенной концентрации.;
- 2) Доступным для использования во внутри аптечном контроле является метод флуориметрии. По характеру флуоресценции кристаллов или растворов можно, например, осуществлять идентификацию препаратов некоторых алкалоидов, витаминов и др. Для возбуждения флуоресценции на растворы испытуемых веществ воздействуют ультрафиолетовым излучением с длиной волны 365-366 нм. Некоторые лекарственные вещества сами не флуоресцируют, но при взаимодействии с рядом реактивов образуют флуоресцирующие продукты.;

Компетенции: УК-1.3, УК-1.4, ОПК-2.1

2. При определении примеси свободной салициловой кислоты в кислоте ацетилсалициловой 0,3049 г препарата растворили в спирте в мерной колбе вместимостью 25 мл, прибавили 1 мл 0,2% раствора железоаммонийных квасцов и довели раствор спиртом до метки. Оптическая плотность полученного раствора, измеренная при длине волны 520 нм в кювете с толщиной слоя 0,5 см, равна 0,265. Оптическая плотность раствора стандартного образца кислоты салициловой, полученного из 1 мл 0,01% раствора в тех же условиях, равна 0,270.

Вопрос 1: Какие еще физико-химические методы анализа могут применяться при анализе данной ЛФ?;

Вопрос 2: Могут ли быть использованы хроматографические методы анализа данной ЛФ?;

- 1) Для выделения анализируемого лекарственного вещества из многокомпонентной лекарственной формы используют хроматографию. Особенно перспективно применение для экспресс - анализа распределительной хроматографии на бумаге и тонкослойной хроматографии. После выделения лекарственного вещества из лекарственной формы выполняют химические реакции на ионы или функциональные группы, причем эти реакции могут быть выполнены прямо на хроматограмме.;
- 2) Для качественного экспресс - анализа может быть применено сочетание адсорбционной хроматографии и люминесцентного анализа. Вначале, используя различие в адсорбционной способности, компоненты лекарственных форм разделяют на отдельные зоны в колонках из оксида алюминия. Полученные хроматограммы идентифицируют а ультрафиолетовом излучении или с помощью групповых реакций.;

Компетенции: УК-1.3, УК-1.4, ОПК-2.1

12. Примерная тематика НИРС по теме

1. Оптические методы анализа: рефрактометрия. Закон преломления. Применение в фарманализе.
2. Газожидкостная хроматография. Коэффициент распределения, выбор подвижной фазы. Методы определения подлинности и количественного содержания веществ в лекарственной форме.
3. Предложить студентам, подготовить обучающие программы по изучаемой теме.
4. Особенности капиллярной хроматографии

13. Рекомендованная литература по теме занятия

- **дополнительная:**

Фармацевтическая химия : учебник / ред. Г. В. Раменская. - 3-е изд., (электрон.). - Москва : Лаборатория знаний, 2019. - 470 с. - Текст : электронный.

- **электронные ресурсы:**

Анализ лекарственных препаратов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (<https://docs.google.com/file/d/0ByYcXpTXVG2vWU5XWm4tbVBxVvU/edit>)

Качественный анализ методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

(<https://docs.google.com/file/d/0ByYcXpTXVG2vampYR2VnTkQteWs/edit>)

Анализ лекарственных препаратов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии в сочетании с хромато-масс спектрометрией (<https://docs.google.com/file/d/0ByYcXpTXVG2vZjRrQUhfbzFoOFU/edit>)

1. Тема № 11. Определение подлинности субстанции ацетилсалициловой кислоты методом ИК-спектроскопии. (Компетенции: УК-1.3, УК-1.4)

2. Разновидность занятия: дискуссия

3. Методы обучения: объяснительно-иллюстративный

4. Значение темы (актуальность изучаемой проблемы): Фармацевтическая химия занимает центральное место среди других специальных фармацевтических дисциплин - фармакогнозии, фармацевтической технологии, фармакологии, организации и экономики фармации, токсикологической химии и является своеобразным связующим звеном между ними. Задачи, стоящие перед фармацевтической химией, решаются с помощью классических химических, физических и физико-химических методов, которые используются как для синтеза, так и для анализа лекарственных веществ. Разработка нормативно-правовых документов, регламентирующих качество фармацевтической продукции, а также неукоснительное соблюдение и контроль за соответствием качества продукции данным документам является важнейшей задачей фармацевтического анализа и его составной части - фармакопейного анализа. Материал данной темы будет использоваться при изучении других тем фармацевтической химии.

5. Цели обучения

- **обучающийся должен знать** методы, приемы и способы выполнения химического и физико-химического анализа для установления качественного состава и количественного определения, методы, приемы и способы выполнения химического и физико-химического анализа, принципы работы автоматизированных аналитических систем, **уметь** определять удельное вращение оптически активных препаратов, определять показатель преломления на рефрактометре, расчет концентрации с использованием метода интерполяции, определять рН среды потенциометрически на иономере, **владеть** техникой работы на фотоэлектроколориметре: определение концентрации, определение удельного показателя поглощения, техникой экспресс-анализа - выполнение капельных реакций

6. Место проведения и оснащение занятия:

- **место проведения занятия:** учебная комната 6-26

- **оснащение занятия:** весы аналитические, весы электронные, влагоанализатор mettler toledo, иономер, набор химических реактивов, набор химической посуды, спектрофотометр unisco, фотоколориметр leki, шкафы вытяжные, штативы лабораторные, электропечь муфельная

7. Структура содержания темы (хронокарта)

Хронокарта

п/п	Этапы практического занятия	Продолжительность (мин.)	Содержание этапа и оснащенность
1	Организация занятия	5.00	Проверка посещаемости и внешнего вида обучающихся
2	Формулировка темы и целей	5.00	Озвучивание преподавателем темы и ее актуальности, целей занятия
3	Контроль исходного уровня знаний и умений	10.00	Тестирование
4	Раскрытие учебно-целевых вопросов по теме занятия	10.00	Инструктаж обучающихся преподавателем
5	Самостоятельная работа обучающихся: а) приготовление эталонных растворов, б) подготовка к ответам на вопросы занятия.	40.00	1) выполнение практического задания, 2) подготовка к ответам на вопросы занятия по учебнику и учебному пособию.
6	Итоговый контроль знаний (письменно или устно)	15.00	ситуационные задачи
7	Задание на дом (на следующее занятие)	5.00	Учебно-методические разработки следующего занятия и методические разработки для внеаудиторной работы по теме
	ВСЕГО	90	

8. Аннотация (краткое содержание темы)

Фотометрические методы анализа основаны на использовании объединенного закона Бугера-Ламберта-Бера:

где J_0 - интенсивность излучения, падающего на вещество; J - интенсивность излучения, прошедшего через вещество; $A(D)$ - величина оптической плотности; x - показатель поглощения данного вещества; C - концентрация раствора анализируемого вещества, г; l - длина рабочего слоя кюветы, см.

На основании этого закона содержание вещества в растворе определяют по формуле:

В случае несоответствия закону Бугера-Ламберта-Бера вначале с помощью стандартного раствора устанавливают

зависимость оптической плотности от концентрации, а затем строят калибровочный график, с помощью которого выполняют расчеты.

Спектрофотометрия в УФ - и видимой областях – один из наиболее широко используемых физико-химических методов в фармацевтическом анализе.

Анализируемые ЛВ должны иметь в структуре молекулы хромофорные группы (сопряженные связи, ароматическое ядро и др.), обуславливающие различные электронные переходы в молекулах и поглощение электромагнитного излучения.

Кривая зависимости интенсивности светопоглощения от длины волны (нм) называется спектром поглощения вещества и является его специфической характеристикой. Измерение спектров поглощения растворов анализируемых веществ в ультрафиолетовой (190 – 380 нм) и видимой (380 – 780 нм) областях производят с помощью спектрофотометров различных марок. В качестве растворителей используют свободные от примесей воду, растворы кислот и щелочей, этанол, хлороформ и другие органические растворители.

Спектрофотометрической константой является удельный показатель поглощения (E), который рассчитывают по формуле:

Удельный показатель поглощения E представляет собой величину оптической плотности раствора, содержащего 1,0 г вещества в 100 мл раствора, измеренную в кювете с рабочей длиной 1 см. Установив по стандартному образцу величину E и преобразовав эту формулу, можно рассчитать концентрацию анализируемого вещества с относительной погрешностью до $\pm 2\%$.

Идентификацию ЛВ можно провести по E , характеру спектральных кривых в различных растворителях, положению максимума и минимума светопоглощения или их отношению (при различных длинах волн). Для количественного спектрофотометрического анализа важен выбор аналитической полосы поглощения. Последняя должна быть свободна от наложения полос поглощения других компонентов смеси и иметь достаточно высокий удельный показатель поглощения анализируемого вещества.

Фотоколориметрия отличается от спектрофотометрического анализа тем, что анализируемое вещество с помощью какого-либо реагента переводят (количественно) в окрашенное соединение. Вначале получают окрашенные растворы, используя растворы стандартных образцов (ГСО или РСО). Измерение оптической плотности производят на фотоколориметрах. Затем строят калибровочный график зависимости интенсивности поглощения окрашенных растворов от концентрации, по которому рассчитывают содержание ЛВ в испытуемых образцах ЛВ или ЛФ.

Метод дифференциальной спектрофотометрии и фотоколориметрии основан на измерении светопоглощения анализируемого раствора относительно раствора сравнения, содержащего определенное количество стандартного образца испытуемого вещества или его заменителя. Такой прием приводит к изменению рабочей области шкалы прибора и снижению относительной погрешности определения до $\pm 0,5-1\%$, т.е. сопоставимой с титриметрическими методами.

Производная УФ-спектрофотометрия является одним из вариантов дифференциальной спектрофотометрии. Если в дифференциальной спектрофотометрии используют разность оптических плотностей при одной и той же длине волны, то в производной — при двух длинах волн, разделенных небольшим интервалом. Этот вариант основан на выделении индивидуальных полос из УФ-спектра, который представляет собой сумму налагающихся полос поглощения или полос, не имеющих четко выраженного максимума. При этом на спектральных кривых в координатах: производная - длина волны появляются полосы с отчетливо выраженными максимумами и минимумами. Благодаря этому можно идентифицировать сходные по химической структуре вещества, повысить избирательность анализа и выполнять количественное определение двух-, трехкомпонентных смесей более экономично и эффективно, чем титриметрическими методами.

Одним из вариантов дифференциальной спектрофотометрии является **Е-метод**. Он основан на превращении одного из веществ, входящих в состав анализируемой пробы, в таутомерную (или иную) форму, отличающуюся по характеру и интенсивности светопоглощения. Затем намеряют светопоглощение раствора одной таутомерной формы по отношению к другой, т.е. используют в качестве стандарта раствор анализируемого вещества.

Спектрофотометрия в ИК-области. Природа полос поглощения в ИК области связана с колебательными переходами и изменением колебательных состояний ядер, входящих в молекулу поглощающего вещества. Поэтому поглощением в ИК-области обладают молекулы, дипольные моменты которых изменяются при возбуждении колебательных движений ядер. Область применения ИК-спектроскопии аналогична, но более широка, чем у УФ-метода. ИК-спектр однозначно характеризует всю структуру молекулы, включая незначительные её изменения. Важные преимущества ИК-спектроскопии — высокая специфичность, объективность полученных результатов,

возможность анализа веществ в кристаллическом состоянии. Для измерения ИК-спектров на однолучевых или дуолучевых ИК-спектрофотометрах используют взвеси веществ в вазелиновом масле или помещают анализируемое вещество между пластинами из бромида калия. Каждый ИК-спектр представляет собой серию полос поглощения, максимумы которых определяются волновым числом, измеряемым в см^{-1} , и определенной интенсивностью. Для анализа ЛВ обычно используют спектральную область от 4000 до 400 см^{-1} .

ГФ XI рекомендует два способа установления подлинности по ИК-спектрам. Один из них основан на сравнении зарегистрированных в идентичных условиях ИК-спектров испытуемого ЛВ и его стандартного образца. Второй способ заключается в сравнении ИК-спектра испытуемого ЛВ с его стандартным спектром, прилагаемым к ФС и зарегистрированным в соответствии с указанными в ней требованиями.

Фототурбидиметрия – метод, основанный на измерении интенсивности света, поглощенного тонкодисперсной суспензией, и **фотонепелометрия** – метод, основанный на измерении света, рассеянного взвешенными частицами анализируемого вещества. Оба метода довольно редко применяют в фармацевтическом анализе для количественного определения ЛВ, образующих с различными реактивами тонкие суспензии. Предварительно устанавливают зависимость между интенсивностью поглощения (рассеяния) света и концентрацией вещества в анализируемом растворе. Способы расчета аналогичны фотометрическим методам.

Лабораторная работа

ПРОПИСЬ: Раствор этакридина лактата 1:1000 - 100,0 мл

Однокомпонентная жидкая лекарственная форма для наружного применения. В основе фотоэлектроколориметрического и спектрофотометрического методов количественного определения этакридина лактата лежит реакция получения окрашенной в вишнево-красный цвет соли диазония

Желтая прозрачная жидкость с зеленой флуоресценцией.

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПОДЛИННОСТИ

К 1 – 2 мл раствора прибавляют 0,2 мл кислоты хлористоводородной разведенной и 0,2 мл 0,1 моль/л раствора натрия нитрита. Появляется вишнево-красное окрашивание.

Методика. 2,5 мл исследуемого раствора помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл и по каплям прибавляют 0,6 мл 1 моль/л раствора кислоты хлористоводородной и 0,5 мл 1% раствора натрия нитрита, появляется вишнево-красное окрашивание. Через 5 минут объем раствора доводят водой до метки и перемешивают. Измеряют оптическую плотность раствора на спектрофотометре или фотоэлектроколориметре при длине волны 520 нм, в кюветах с толщиной слоя 1 см. Раствор сравнения – вода.

Одновременно измеряют оптическую плотность стандартного раствора.

Приготовление стандартного раствора (0,1%).

2,5 мл 0,1% раствора этакридина лактата помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл и далее продолжают, как описано ранее.

1 мл стандартного раствора содержит 0,00005 г этакридина лактата.

Построение графика.

Для построения графика зависимости оптической плотности от концентрации готовят серию стандартных растворов. С этой целью 0,5 мл, 1,0 мл, 1,5 мл, 2,0 мл, 2,5 мл, 3,0 мл стандартного раствора этакридина лактата помещают в мерные колбы вместимостью 50 мл и прибавляют в каждую колбу воды до 5 мл, по 0,6 мл кислоты хлористоводородной и по 0,5 мл 1% раствора натрия нитрита. Через 5 минут объем раствора доводят водой до метки, перемешивают и измеряют оптическую плотность полученных растворов в кювете с толщиной поглощающего слоя 1 см при длине волны 520 нм. Строят график зависимости $D=f(C)$, откладывая по оси абсцисс концентрацию в г/мл, а по оси ординат – оптическую плотность раствора.

Расчет концентрации исследуемого раствора.

1. По графику.

Где $C_{\text{граф}}$ – концентрация исследуемого раствора, определенная графически, в г/мл;

Впроп. - объем лекарственной формы по прописи, в мл .

2. По стандартному раствору.

Где $D_{\text{иссл}}$ - оптическая плотность исследуемого раствора;

$D_{\text{ст}}$ - оптическая плотность стандартного (0,1%) раствора;

0,00005 - количество граммов этакридина лактата в 1 мл стандартного раствора;

Впроп. - объем лекарственной формы по прописи, в мл.

3. С использованием рассчитанного удельного показателя поглощения.

где n - удельный показатель поглощения стандартного раствора этакридина лактата, где $n = 1, 2, 3, \dots, n$;

C_n - концентрация n -ного фотометрируемого стандартного раствора этакридина лактата, в %;

D_n - оптическая плотность n -ного фотометрируемого стандартного раствора этакридина лактата;

l - толщина поглощающего слоя, в см.

Где - среднее значение удельного показателя поглощения этакридина лактата, рассчитанное из n показателей поглощения.

9. Вопросы по теме занятия

1. Теоретические основы метода. Особенности СФ в ИК-области.

Компетенции: УК-1.3, УК-1.4

2. Аппаратурное оформление ИК-спектрометров различных моделей.

Компетенции: УК-1.3, УК-1.4

3. Аналитические возможности спектрофотометрического метода в ИК-области для целей установления подлинности, чистоты и количественного содержания лекарственных средств.

Компетенции: УК-1.3, УК-1.4

4. Возможности использования спектрофотометрического метода в ИК-области для анализа лекарственных веществ на примере нескольких фармакопейных статей (цианокобаламин, ретинола ацетат, левомецетин и др.).

Компетенции: УК-1.3, УК-1.4

5. Аппаратурное оформление УФ-спектрометров различных моделей.

Компетенции: УК-1.3, УК-1.4

10. Тестовые задания по теме с эталонами ответов

1. МЕТОД, КОТОРЫЙ БОЛЕЕ ИНФОРМАТИВЕН ДЛЯ ЦЕЛЕЙ ИДЕНТИФИКАЦИИ:

- 1) УФ-спектрофотометрия;
- 2) ИК-спектроскопия;
- 3) Спектрофотометрия в видимой области;

Правильный ответ: 2

Компетенции: УК-1.4

2. МОНОХРОМИЗАТОРОМ В УЛЬТРАФИОЛЕТОВОЙ ОБЛАСТИ ЧАСТО ИСПОЛЬЗУЕТСЯ:

- 1) призма из кварцевого стекла;
- 2) призма из соли (калия бромид, натрия хлорида, лития фторида);
- 3) дифракционная решетка;
- 4) лазер;

Правильный ответ: 1

Компетенции: УК-1.4

3. В ИК-СПЕКТРОФОТОМЕТРАХ В КАЧЕСТВЕ МОНОХРОМИЗАТОРА ИСПОЛЬЗУЕТСЯ ЧАЩЕ ВСЕГО:

- 1) призма из кварцевого стекла;
- 2) призма из соли (калия бромид, натрия хлорида, лития фторида);
- 3) дифракционная решетка;
- 4) лазер;

Правильный ответ: 3

Компетенции: УК-1.4

4. МАТЕРИАЛ, ИЗ КОТОРОГО СДЕЛАНЫ ОПТИЧЕСКИЕ ЭЛЕМЕНТЫ СПЕКТРОФОТОМЕТРА:

- 1) стекла;

- 2) кварцевого стекла;
- 3) калия бромида;
- 4) полиметилакрилата;

Правильный ответ: 3

Компетенции: УК-1.4

5. ПОГЛОЩЕНИЕ ИК-ЭНЕРГИИ ОБУСЛОВЛЕНО:

- 1) электронными переходами в молекуле;
- 2) изменением вращательной энергии молекул;
- 3) возбуждением колебательных движений молекулы;
- 4) изменением магнитного момента протона;

Правильный ответ: 2,3

Компетенции: УК-1.3

11. Ситуационные задачи по теме с эталонами ответов

1. Дана лекарственная форма состава: Раствора рибофлавина 0,01 %- 10,0 мл Кислоты аскорбиновой 0,02 Тиамин бромид 0,02 Калия иодида 0,2 по количественному содержанию рибофлавина, если оптическая плотность раствора, полученного разведением 1,0 мл лекарственной формы до 10 мл водой, измеренная при длине волны 445 нм в кювете с толщиной поглощающего слоя 1 см равна 0,250. Удельный показатель поглощения рибофлавина при 445 нм равен 245.

Вопрос 1: Какие физико-химические методы анализа можно предложить для подлинности ЛП?;

Вопрос 2: Можно ли использовать спектральные методы для анализа данного ЛП при внутри аптечном контроле?;

- 1) Поляриметрия позволяет сделать заключение о подлинности лекарственного вещества в растворе по значению удельного вращения, рефрактометрия по показателю преломления раствора определенной концентрации.;
- 2) Доступным для использования во внутри аптечном контроле является метод флуориметрии. По характеру флуоресценции кристаллов или растворов можно, например, осуществлять идентификацию препаратов некоторых алкалоидов, витаминов и др. Для возбуждения флуоресценции на растворы испытуемых веществ воздействуют ультрафиолетовым излучением с длиной волны 365-366 нм. Некоторые лекарственные вещества сами не флуоресцируют, но при взаимодействии с рядом реактивов образуют флуоресцирующие продукты.;

Компетенции: УК-1.3, УК-1.4

2. При определении примеси свободной салициловой кислоты в кислоте ацетилсалициловой 0,3049 г препарата растворили в спирте в мерной колбе вместимостью 25 мл, прибавили 1 мл 0,2% раствора железоаммонийных квасцов и довели раствор спиртом до метки. Оптическая плотность полученного раствора, измеренная при длине волны 520 нм в кювете с толщиной слоя 0,5 см, равна 0,265. Оптическая плотность раствора стандартного образца кислоты салициловой, полученного из 1 мл 0,01% раствора в тех же условиях, равна 0,270.

Вопрос 1: Какие еще физико-химические методы анализа могут применяться при анализе данной ЛФ?;

Вопрос 2: Могут ли быть использованы хроматографические методы анализа данной ЛФ?;

- 1) Для выделения анализируемого лекарственного вещества из многокомпонентной лекарственной формы используют хроматографию. Особенно перспективно применение для экспресс - анализа распределительной хроматографии на бумаге и тонкослойной хроматографии. После выделения лекарственного вещества из лекарственной формы выполняют химические реакции на ионы или функциональные группы, причем эти реакции могут быть выполнены прямо на хроматограмме.;
- 2) Для качественного экспресс - анализа может быть применено сочетание адсорбционной хроматографии и люминесцентного анализа. Вначале, используя различие в адсорбционной способности, компоненты лекарственных форм разделяют на отдельные зоны в колонках из оксида алюминия. Полученные хроматограммы идентифицируют а ультрафиолетовом излучении или с помощью групповых реакций.;

Компетенции: УК-1.3, УК-1.4

12. Примерная тематика НИРС по теме

1. Оптические методы анализа: рефрактометрия. Закон преломления. Применение в фарманализе.
2. Газожидкостная хроматография. Коэффициент распределения, выбор подвижной фазы. Методы определения подлинности и количественного содержания веществ в лекарственной форме.
3. Предложить студентам, подготовить обучающие программы по изучаемой теме.
4. Особенности капиллярной хроматографии

13. Рекомендованная литература по теме занятия

- **дополнительная:**

Фармацевтическая химия : учебник / ред. Г. В. Раменская. - 3-е изд., (электрон.). - Москва : Лаборатория знаний, 2019. - 470 с. - Текст : электронный.

- **электронные ресурсы:**

Анализ лекарственных препаратов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (<https://docs.google.com/file/d/0ByYcXpTXVG2vWU5XWm4tbVBxVVU/edit>)

Качественный анализ методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

(<https://docs.google.com/file/d/0ByYcXpTXVG2vampYR2VnTkQteWs/edit>)

Анализ лекарственных препаратов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии в сочетании с хромато-масс спектрометрией (<https://docs.google.com/file/d/0ByYcXpTXVG2vZjRrQUhfbzFoOFU/edit>)

1. Тема № 12. ЯМР-спектроскопия. Применение для установления структуры и подлинности лекарственных веществ. (в интерактивной форме) (Компетенции: УК-1.4, ОПК-2.1)

2. Разновидность занятия: дискуссия

3. Методы обучения: объяснительно-иллюстративный

4. Значение темы (актуальность изучаемой проблемы): Фармацевтическая химия занимает центральное место среди других специальных фармацевтических дисциплин – фармакогнозии, фармацевтической технологии, фармакологии, организации и экономики фармации, токсикологической химии и является своеобразным связующим звеном между ними. Задачи, стоящие перед фармацевтической химией, решаются с помощью классических химических, физических и физико-химических методов, которые используются как для синтеза, так и для анализа лекарственных веществ. Разработка нормативно-правовых документов, регламентирующих качество фармацевтической продукции, а также неукоснительное соблюдение и контроль за соответствием качества продукции данным документам является важнейшей задачей фармацевтического анализа и его составной части – фармакопейного анализа. Материал данной темы будет использоваться при изучении других тем фармацевтической химии.

5. Цели обучения

- **обучающийся должен знать** принципы, положенные в основу физико-химических методов анализа лекарственных средств для медицинского применения, биомедицинского клеточного продукта и медицинских изделий, основные нормативные документы, касающиеся контроля качества лекарственных средств, биомедицинских препаратов и изделий медицинского назначения, методы, приемы и способы выполнения химического и физико-химического анализа для установления качественного состава и количественного определения, **уметь** приготовить титрованный раствор по навеске и из фиксанала и установление поправочного коэффициента, использовать технику флюорисцентного анализа, определить среднюю массу таблеток, рассчитать отклонения от средней массы, **владеть** техникой ионообменной, бумажной и тонкослойной хроматографии, техникой работы на фотоэлектроколориметре: определение концентрации, определение удельного показателя поглощения

6. Место проведения и оснащение занятия:

- **место проведения занятия:** учебная комната 6-26

- **оснащение занятия:** весы аналитические, весы электронные, влагоанализатор mettler toledo, иономер, набор химических реактивов, набор химической посуды, спектрофотометр uniso, фотоколориметр leki, шкафы вытяжные, штативы лабораторные, электропечь муфельная

7. Структура содержания темы (хронокарта)

Хронокарта

п/п	Этапы практического занятия	Продолжительность (мин.)	Содержание этапа и оснащенность
1	Организация занятия	5.00	Проверка посещаемости и внешнего вида обучающихся
2	Формулировка темы и целей	5.00	Озвучивание преподавателем темы и ее актуальности, целей занятия
3	Контроль исходного уровня знаний и умений	10.00	Тестирование
4	Раскрытие учебно-целевых вопросов по теме занятия	10.00	Инструктаж обучающихся преподавателем
5	Самостоятельная работа обучающихся: а) приготовление эталонных растворов, б) подготовка к ответам на вопросы занятия.	40.00	1) выполнение практического задания, 2) подготовка к ответам на вопросы занятия по учебнику и учебному пособию.
6	Итоговый контроль знаний (письменно или устно)	15.00	Ситуационные задачи
7	Задание на дом (на следующее занятие)	5.00	Учебно-методические разработки следующего занятия и методические разработки для внеаудиторной работы по теме
	ВСЕГО	90	

8. Аннотация (краткое содержание темы)

Спектроскопия ядерного магнитного резонанса (ЯМР) – метод, основанный на регистрации переходов между ядерными магнитными энергетическими уровнями молекул вещества, помещенного в магнитное поле. Метод позволяет изучать магнитные переходы ядер со спиновыми квантовыми числами больше нуля (ядра ^1H , ^{13}C , ^{19}F , ^{31}P). Совокупность сигналов переходов между энергетическими уровнями ядер молекул составляет спектр ЯМР. Каждый спектр ЯМР регистрируется для одного типа ядер и специфичен для каждого вещества. Чаще всего используют спектроскопию на протонах (ПМР) и ЯМР ^{13}C .

Одни и те же ядра атомов в различных окружениях в молекуле показывают различные сигналы ЯМР.

Спектр ЯМР представляет собой совокупность пиков с различной шириной, площадью и интенсивностью сигналов. По характеру протонных сигналов можно сделать заключение о наличии в молекуле тех или иных групп атомов. Таким образом, с помощью метода ЯМР можно определять химическое строение веществ, конформации молекул, эффекты взаимного влияния, внутримолекулярные превращения.

Традиционный метод ЯМР-спектроскопии основан на воздействии на исследуемое вещество, помещенное в мощное магнитное поле, радиочастотного генератора. Под действием усиливающегося магнитного поля начинают резонировать ядра, на которые настроен спектрометр. Частоту увеличивают до тех пор, пока она не достигнет некоего предела, выше которого резонанс невозможен. Этот метод является затратным по времени анализа и очень чувствителен к внешним помехам, которые дают на спектрах значительные шумы. Поэтому в современных приборах ЯМР используется метод так называемой импульсной спектроскопии, при этом возбуждение ядер осуществляют не «постоянной волной», а с помощью короткого импульса, продолжительностью несколько микросекунд. В настоящее время все ЯМР-спектрометры строятся на основе мощных сверхпроводящих магнитов с постоянной величиной магнитного поля.

Разновидностью ЯМР-спектроскопии является протонный магнитный резонанс (ПМР), который осуществляют на ядрах ^1H . Поскольку протоны имеют спиновое квантовое число больше нуля, а водород присутствует почти во всех органических соединениях, протонный магнитный резонанс используется, как правило, для установления структуры органических молекул. ПМР используется также в магнитно-резонансной томографии – неинвазивном методе исследования внутренних органов человека.

9. Вопросы по теме занятия

1. Основы метода ЯМР-спектроскопии.

Компетенции: УК-1.4, ОПК-2.1

2. Перечислите основные узлы прибора.

Компетенции: УК-1.4, ОПК-2.1

3. Назовите достоинства метода.

Компетенции: УК-1.4, ОПК-2.1

4. Перечислите недостатки метода.

Компетенции: УК-1.4, ОПК-2.1

5. Какова область применения ЯМР-спектроскопии?

Компетенции: УК-1.4, ОПК-2.1

10. Тестовые задания по теме с эталонами ответов

1. СДВИГ РЕЗОНАНСНОЙ ЧАСТОТЫ ИЛИ ХИМИЧЕСКИЙ СДВИГ ОПРЕДЕЛЯЕТСЯ:

- 1) ориентацией спина ядра в магнитном поле;
- 2) наличием у ядра квадрупольного момента;
- 3) степенью экранирования ядра электронами;
- 4) количеством химически эквивалентных ядер;
- 5) силой спин-спинового взаимодействия;

Правильный ответ: 1

Компетенции: ОПК-2.1

2. ПОЛОЖЕНИЕ В ПМР-СПЕКТРЕ СИГНАЛОВ ПРОТОНОВ ГРУППОН, NH, NH₂ И COOH СИЛЬНО ЗАВИСИТ ОТ:

- 1) концентрации;
- 2) температуры;
- 3) растворителя;
- 4) добавок, способных образовывать водородные связи;
- 5) шифт-реагентов;

Правильный ответ: 1

Компетенции: УК-1.4

3. В ОСНОВЕ СПЕКТРОСКОПИИ ЯДЕРНО-МАГНИТНОГО РЕЗОНАНСА ЛЕЖИТ:

- 1) оптические свойства молекул;
- 2) ионизация нейтральных молекул;
- 3) возбуждение электронов;
- 4) магнитные свойства атомного ядра;

Правильный ответ: 4

Компетенции: ОПК-2.1

4. ХИМИЧЕСКИМ СДВИГОМ НАЗЫВАЕТСЯ:

- 1) отклонение от характеристической частоты;
- 2) возрастание экранирования;
- 3) разность между резонансными частотами определенного сигнала и сигнала какого-либо стандартного вещества;

Правильный ответ: 3

Компетенции: УК-1.4

5. ПРОТОНЫ АРОМАТИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ РЕЗОНИРУЮТ В ОБЛАСТЯХ СЛАБОГО ПОЛЯ В РЕЗУЛЬТАТЕ:

- 1) взаимодействия протонов с п-электронами двойной связи;
- 2) сопряженной п-электронной системы;
- 3) кольцевого тока;

Правильный ответ: 1

Компетенции: ОПК-2.1

11. Ситуационные задачи по теме с эталонами ответов

1. В лабораторию аптечного склада поступило на анализ сырьё «Шалфея лекарственного листа» для подтверждения подлинности и измельченности сырья. Аналитик провел исследование внешних и анатомо-диагностических признаков сырья и подтвердил их соответствие стандарту. При определении измельченности листьев шалфея цельных установлено содержание кусочков, проходящих через сито с размером отверстий 0,5 мм, - 12,0 г.

Вопрос 1: Каким методом была определена измельченность сырья?;

Вопрос 2: Укажите основной компонент эфирного масла шалфея лекарственного. К какому классу соединений он относится и каким физико-химическим методом его можно количественно определить?;

1) Измельченность сырья определяют ситовым методом; размер частиц сырья указывают по диаметру отверстий используемого в анализе сита. Измельченность нормируют по верхнему пределу. Пробу сырья помещают на сито, указанное в соответствующей нормативной документации на лекарственное растительное сырьё, закрывают крышкой и осторожно, плавными вращательными движениями просеивают, не допуская дополнительного измельчения. Просеивание измельченных частей считается законченным, если количество сырья, прошедшего сквозь сито при дополнительном просеве в течение 1 мин, составляет менее 1 % сырья, оставшегося на сите. Для цельного сырья частицы, прошедшие сквозь сито, взвешивают и вычисляют их процентное содержание в массе аналитической пробы.;

2) Основным компонентом эфирного масла шалфея лекарственного является цинеол, содержание которого доходит до 15%. Он относится к моноциклическим монотерпеноидам. Количественное определение - газожидкостная хроматография.;

Компетенции: УК-1.4, ОПК-2.1

2. В контрольно-аналитическую лабораторию поступило на анализ сырьё «Подорожника большого листа» (цельные). Необходимо подтвердить подлинность сырья, влажность и содержание действующих веществ. Аналитик провел исследование внешних и анатомо-диагностических признаков сырья и подтвердил их соответствие стандарту. Для определения влажности сырья были взяты две навески: 3,53 г и 3,97 г. После высушивания их масса составила соответственно 3,09 г и 3,46 г. Качественные реакции подтвердили присутствие полисахаридов в сырье. Содержание полисахаридов составило 11,5%.

Вопрос 1: Какие методики должен использовать аналитик для обнаружения и количественной оценки полисахаридов?;

Вопрос 2: Какие физико-химические методы можно предложить для качественного и количественного определения моносахаридного состава полисахаридов.;

1) Для обнаружения полисахаридов используются следующие реакции: 1. осаждение полисахаридов 96%-ным этиловым спиртом; 2. кислотный гидролиз при нагревании на кипящей водяной бане в течение 10 минут и реакция с карбазолом на галактуроновую кислоту; наблюдается красно-фиолетовое окрашивание. Для количественной оценки полисахаридов в данном сырье используют гравиметрический метод. Проводят двукратную экстракцию полисахаридов водой очищенной при кипячении и последующее осаждение полисахаридов 96% этиловым спиртом. Осадок высушивают до постоянной массы.;

2) Метод ГЖХ после предварительного ацетилирования, а также ВЭЖХ.;

Компетенции: УК-1.4, ОПК-2.1

12. Примерная тематика НИРС по теме

1. Оптические методы анализа: рефрактометрия. Закон преломления. Применение в фарманализе.
2. Предложить студентам, подготовить обучающие программы по изучаемой теме.
3. Особенности капиллярной хроматографии
4. Достоинства и недостатки газовой адсорбционной и газожидкостной хроматографии

13. Рекомендованная литература по теме занятия

- дополнительная:

[Фармацевтическая химия](#) : учебник / ред. Г. В. Раменская. - 3-е изд., (электрон.). - Москва : Лаборатория знаний, 2019. - 470 с. - Текст : электронный.

- электронные ресурсы:

Анализ лекарственных препаратов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (<https://docs.google.com/file/d/0ByYcXpTXVG2vWU5XWm4tbVBxVVU/edit>)

Качественный анализ методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (<https://docs.google.com/file/d/0ByYcXpTXVG2vampYR2VnTkQteWs/edit>)

Анализ лекарственных препаратов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии в сочетании с хромато-масс спектрометрией (<https://docs.google.com/file/d/0ByYcXpTXVG2vZjRrQUhfbzFoOFU/edit>)

1. Тема № 13. Масс-спектрометрия. Применение для установления структуры и подлинности лекарственных веществ. (в интерактивной форме) (Компетенции: УК-1.2, УК-1.3, ОПК-2.1)

2. Разновидность занятия: дискуссия

3. Методы обучения: объяснительно-иллюстративный

4. Значение темы (актуальность изучаемой проблемы): Фармацевтическая химия занимает центральное место среди других специальных фармацевтических дисциплин – фармакогнозии, фармацевтической технологии, фармакологии, организации и экономики фармации, токсикологической химии и является своеобразным связующим звеном между ними. Задачи, стоящие перед фармацевтической химией, решаются с помощью классических химических, физических и физико-химических методов, которые используются как для синтеза, так и для анализа лекарственных веществ. Разработка нормативно-правовых документов, регламентирующих качество фармацевтической продукции, а также неукоснительное соблюдение и контроль за соответствием качества продукции данным документам является важнейшей задачей фармацевтического анализа и его составной части – фармакопейного анализа. Материал данной темы будет использоваться при изучении других тем фармацевтической химии.

5. Цели обучения

- **обучающийся должен знать** основные нормативные документы, касающиеся контроля качества лекарственных средств, биомедицинских препаратов и изделий медицинского назначения, методы, приемы и способы выполнения химического и физико-химического анализа для установления качественного состава и количественного определения, оборудование и реактивы для проведения физико-химического анализа лекарственных веществ для медицинского применения, биомедицинского клеточного продукта и медицинских изделий, **уметь** определять рН среды потенциометрически на иономере, приготовить титрованный раствор по навеске и из фиксанала и установление поправочного коэффициента, использовать технику флюорисцентного анализа, определить среднюю массу таблеток, рассчитать отклонения от средней массы, **владеть** техникой ионообменной, бумажной и тонкослойной хроматографии, техникой работы на фотоэлектроколориметре: определение концентрации, определение удельного показателя поглощения, техникой экспресс-анализа - выполнение капельных реакций

6. Место проведения и оснащение занятия:

- **место проведения занятия:** учебная комната 6-26

- **оснащение занятия:** весы аналитические, весы электронные, влагоанализатор mettler toledo, иономер, набор химических реактивов, набор химической посуды, спектрофотометр unisco, фотоколориметр leki, шкафы вытяжные, штативы лабораторные, электропечь муфельная

7. Структура содержания темы (хронокарта)

Хронокарта

п/п	Этапы практического занятия	Продолжительность (мин.)	Содержание этапа и оснащенность
1	Организация занятия	5.00	Проверка посещаемости и внешнего вида обучающихся
2	Формулировка темы и целей	5.00	Озвучивание преподавателем темы и ее актуальности, целей занятия
3	Контроль исходного уровня знаний и умений	10.00	Тестирование
4	Раскрытие учебно-целевых вопросов по теме занятия	10.00	Инструктаж обучающихся преподавателем
5	Самостоятельная работа обучающихся: а) приготовление эталонных растворов, б) подготовка к ответам на вопросы занятия.	40.00	1) выполнение практического задания, 2) подготовка к ответам на вопросы занятия по учебнику и учебному пособию.
6	Итоговый контроль знаний (письменно или устно)	15.00	Ситуационные задачи
7	Задание на дом (на следующее занятие)	5.00	Учебно-методические разработки следующего занятия и методические разработки для внеаудиторной работы по теме
	ВСЕГО	90	

8. Аннотация (краткое содержание темы)

Спектроскопия ядерного магнитного резонанса (ЯМР) – метод, основанный на регистрации переходов между ядерными магнитными энергетическими уровнями молекул вещества, помещенного в магнитное поле. Метод позволяет изучать магнитные переходы ядер со спиновыми квантовыми числами больше нуля (ядра ^1H , ^{13}C , ^{19}F , ^{31}P). Совокупность сигналов переходов между энергетическими уровнями ядер молекул составляет спектр ЯМР. Каждый спектр ЯМР регистрируется для одного типа ядер и специфичен для каждого вещества. Чаще всего используют спектроскопию на протонах (ПМР) и ЯМР ^{13}C .

Одни и те же ядра атомов в различных окружениях в молекуле показывают различные сигналы ЯМР.

Спектр ЯМР представляет собой совокупность пиков с различной шириной, площадью и интенсивностью сигналов. По характеру протонных сигналов можно сделать заключение о наличии в молекуле тех или иных групп атомов. Таким образом, с помощью метода ЯМР можно определять химическое строение веществ, конформации молекул, эффекты взаимного влияния, внутримолекулярные превращения.

Традиционный метод ЯМР-спектроскопии основан на воздействии на исследуемое вещество, помещенное в мощное магнитное поле, радиочастотного генератора. Под действием усиливающегося магнитного поля начинают резонировать ядра, на которые настроен спектрометр. Частоту увеличивают до тех пор, пока она не достигнет некоего предела, выше которого резонанс невозможен. Этот метод является затратным по времени анализа и очень чувствителен к внешним помехам, которые дают на спектрах значительные шумы. Поэтому в современных приборах ЯМР используется метод так называемой импульсной спектроскопии, при этом возбуждение ядер осуществляют не «постоянной волной», а с помощью короткого импульса, продолжительностью несколько микросекунд. В настоящее время все ЯМР-спектрометры строятся на основе мощных сверхпроводящих магнитов с постоянной величиной магнитного поля.

Разновидностью ЯМР-спектроскопии является протонный магнитный резонанс (ПМР), который осуществляют на ядрах ^1H . Поскольку протоны имеют спиновое квантовое число больше нуля, а водород присутствует почти во всех органических соединениях, протонный магнитный резонанс используется, как правило, для установления структуры органических молекул. ПМР используется также в магнитно-резонансной томографии – неинвазивном методе исследования внутренних органов человека.

9. Вопросы по теме занятия

1. Основы метода ЯМР-спектроскопии.

Компетенции: УК-1.3, ОПК-2.1

2. Перечислите основные узлы прибора.

Компетенции: УК-1.2, ОПК-2.1

3. Назовите достоинства метода.

Компетенции: УК-1.2, УК-1.3

4. Перечислите недостатки метода.

Компетенции: УК-1.3, ОПК-2.1

5. Какова область применения ЯМР-спектроскопии?

Компетенции: УК-1.2, УК-1.3

10. Тестовые задания по теме с эталонами ответов

1. СДВИГ РЕЗОНАНСНОЙ ЧАСТОТЫ ИЛИ ХИМИЧЕСКИЙ СДВИГ ОПРЕДЕЛЯЕТСЯ:

- 1) ориентацией спина ядра в магнитном поле;
- 2) наличием у ядра квадрупольного момента;
- 3) степенью экранирования ядра электронами;
- 4) количеством химически эквивалентных ядер;
- 5) силой спин-спинового взаимодействия;

Правильный ответ: 1

Компетенции: ОПК-2.1

2. ПОЛОЖЕНИЕ В ПМР-СПЕКТРЕ СИГНАЛОВ ПРОТОНОВ ГРУППОН, NH, NH₂ И COOH СИЛЬНО ЗАВИСИТ ОТ:

- 1) концентрации;
- 2) температуры;
- 3) растворителя;
- 4) добавок, способных образовывать водородные связи;
- 5) шифт-реагентов;

Правильный ответ: 1

Компетенции: УК-1.2

3. В ОСНОВЕ СПЕКТРОСКОПИИ ЯДЕРНО-МАГНИТНОГО РЕЗОНАНСА ЛЕЖИТ:

- 1) оптические свойства молекул;
- 2) ионизация нейтральных молекул;
- 3) возбуждение электронов;
- 4) магнитные свойства атомного ядра;

Правильный ответ: 4

Компетенции: ОПК-2.1

4. ХИМИЧЕСКИМ СДВИГОМ НАЗЫВАЕТСЯ:

- 1) отклонение от характеристической частоты;
- 2) возрастание экранирования;
- 3) разность между резонансными частотами определенного сигнала и сигнала какого-либо стандартного вещества;

Правильный ответ: 3

Компетенции: УК-1.2

5. ПРОТОНЫ АРОМАТИЧЕСКИХ СОЕДИНЕНИЙ РЕЗОНИРУЮТ В ОБЛАСТЯХ СЛАБОГО ПОЛЯ В РЕЗУЛЬТАТЕ:

- 1) взаимодействия протонов с п-электронами двойной связи;
- 2) сопряженной п-электронной системы;
- 3) кольцевого тока;

Правильный ответ: 1

Компетенции: ОПК-2.1

11. Ситуационные задачи по теме с эталонами ответов

1. В лабораторию аптечного склада поступило на анализ сырьё «Шалфея лекарственного листа» для подтверждения подлинности и измельченности сырья. Аналитик провел исследование внешних и анатомо-диагностических признаков сырья и подтвердил их соответствие стандарту. При определении измельченности листьев шалфея цельных установлено содержание кусочков, проходящих через сито с размером отверстий 0,5 мм, - 12,0 г.

Вопрос 1: Каким методом была определена измельченность сырья?;

Вопрос 2: Укажите основной компонент эфирного масла шалфея лекарственного. К какому классу соединений он относится и каким физико-химическим методом его можно количественно определить ?;

1) Измельченность сырья определяют ситовым методом; размер частиц сырья указывают по диаметру отверстий используемого в анализе сита. Измельченность нормируют по верхнему пределу. Пробу сырья помещают на сито, указанное в соответствующей нормативной документации на лекарственное растительное сырьё, закрывают крышкой и осторожно, плавными вращательными движениями просеивают, не допуская дополнительного измельчения. Просеивание измельченных частей считается законченным, если количество сырья, прошедшего сквозь сито при дополнительном просеве в течение 1 мин, составляет менее 1 % сырья, оставшегося на сите. Для цельного сырья частицы, прошедшие сквозь сито, взвешивают и вычисляют их процентное содержание в массе аналитической пробы.;

2) Основным компонентом эфирного масла шалфея лекарственного является цинеол, содержание которого доходит до 15%. Он относится к моноциклическим монотерпеноидам. Количественное определение - газожидкостная хроматография.;

Компетенции: УК-1.2, УК-1.3, ОПК-2.1

2. В контрольно-аналитическую лабораторию поступило на анализ сырьё «Подорожника большого листа» (цельные). Необходимо подтвердить подлинность сырья, влажность и содержание действующих веществ. Аналитик провел исследование внешних и анатомо-диагностических признаков сырья и подтвердил их соответствие стандарту. Для определения влажности сырья были взяты две навески: 3,53 г и 3,97 г. После высушивания их масса составила соответственно 3,09 г и 3,46 г. Качественные реакции подтвердили присутствие полисахаридов в сырье. Содержание полисахаридов составило 11,5%.

Вопрос 1: Какие методики должен использовать аналитик для обнаружения и количественной оценки полисахаридов?;

Вопрос 2: Какие физико-химические методы можно предложить для качественного и количественного определения моносахаридного состава полисахаридов.;

1) Для обнаружения полисахаридов используются следующие реакции: 1. осаждение полисахаридов 96%-ным этиловым спиртом; 2. кислотный гидролиз при нагревании на кипящей водяной бане в течение 10 минут и реакция с карбазолом на галактуроновую кислоту; наблюдается красно-фиолетовое окрашивание. Для количественной оценки полисахаридов в данном сырье используют гравиметрический метод. Проводят двукратную экстракцию полисахаридов водой очищенной при кипячении и последующее осаждение полисахаридов 96% этиловым спиртом. Осадок высушивают до постоянной массы.;

2) Метод ГЖХ после предварительного ацетилирования, а также ВЭЖХ.;

Компетенции: УК-1.2, УК-1.3, ОПК-2.1

12. Примерная тематика НИРС по теме

1. Оптические методы анализа: рефрактометрия. Закон преломления. Применение в фарманализе.
2. Предложить студентам, подготовить обучающие программы по изучаемой теме.
3. Особенности капиллярной хроматографии
4. Достоинства и недостатки газовой адсорбционной и газожидкостной хроматографии

13. Рекомендованная литература по теме занятия

- дополнительная:

[Фармацевтическая химия](#) : учебник / ред. Г. В. Раменская. - 3-е изд., (электрон.). - Москва : Лаборатория знаний, 2019. - 470 с. - Текст : электронный.

- электронные ресурсы:

Анализ лекарственных препаратов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (<https://docs.google.com/file/d/0ByYcXpTXVG2vWU5XWm4tbVBxVVU/edit>)

Качественный анализ методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (<https://docs.google.com/file/d/0ByYcXpTXVG2vampYR2VnTkQteWs/edit>)

Анализ лекарственных препаратов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии в сочетании с хромато-масс спектрометрией (<https://docs.google.com/file/d/0ByYcXpTXVG2vZjRrQUhfbzFoOFU/edit>)

1. Тема № 14. Спектральные методы анализа. Коллоквиум №2. (Компетенции: УК-1.1, УК-1.2, ОПК-2.1)

2. Разновидность занятия: дискуссия

3. Методы обучения: объяснительно-иллюстративный

4. Значение темы (актуальность изучаемой проблемы): Фармацевтическая химия занимает центральное место среди других специальных фармацевтических дисциплин – фармакогнозии, фармацевтической технологии, фармакологии, организации и экономики фармации, токсикологической химии и является своеобразным связующим звеном между ними. Задачи, стоящие перед фармацевтической химией, решаются с помощью классических химических, физических и физико-химических методов, которые используются как для синтеза, так и для анализа лекарственных веществ. Разработка нормативно-правовых документов, регламентирующих качество фармацевтической продукции, а также неукоснительное соблюдение и контроль за соответствием качества продукции данным документам является важнейшей задачей фармацевтического анализа и его составной части – фармакопейного анализа. Материал данной темы будет использоваться при изучении других тем фармацевтической химии.

5. Цели обучения

- **обучающийся должен знать** принципы работы автоматизированных аналитических систем, методы, приемы и способы выполнения химического и физико-химического анализа, методы, приемы и способы выполнения химического и физико-химического анализа для установления качественного состава и количественного определения, методы, приемы и способы выполнения химического и физико-химического анализа, **уметь** определять показатель преломления на рефрактометре, расчет концентрации с использованием метода интерполяции, определять рН среды потенциометрически на иономере, приготовить титрованный раствор по навеске и из фиксанала и установление поправочного коэффициента, **владеть** техникой ионообменной, бумажной и тонкослойной хроматографии, техникой работы на фотоэлектроколориметре: определение концентрации, определение удельного показателя поглощения, техникой экспресс-анализа - выполнение капельных реакций, техникой микрориспаллоскопического анализа

6. Место проведения и оснащение занятия:

- **место проведения занятия:** учебная комната 6-26

- **оснащение занятия:** весы аналитические, весы электронные, влагоанализатор mettler toledo, иономер, набор химических реактивов, набор химической посуды, спектрофотометр uniso, фотоколориметр leki, шкафы вытяжные, штативы лабораторные, электропечь муфельная

7. Структура содержания темы (хронокарта)

Хронокарта

п/п	Этапы практического занятия	Продолжительность (мин.)	Содержание этапа и оснащенность
1	Организация занятия	5.00	Проверка посещаемости и внешнего вида обучающихся
2	Формулировка темы и целей	5.00	Озвучивание преподавателем темы и ее актуальности, целей занятия
3	Контроль исходного уровня знаний и умений	10.00	Тестирование
4	Раскрытие учебно-целевых вопросов по теме занятия	10.00	Инструктаж обучающихся преподавателем
5	Самостоятельная работа обучающихся: а) приготовление эталонных растворов, б) подготовка к ответам на вопросы занятия.	40.00	1) выполнение практического задания, 2) подготовка к ответам на вопросы занятия по учебнику и учебному пособию.
6	Итоговый контроль знаний (письменно или устно)	15.00	ситуационные задачи
7	Задание на дом (на следующее занятие)	5.00	Учебно-методические разработки следующего занятия и методические разработки для внеаудиторной работы по теме
	ВСЕГО	90	

8. Аннотация (краткое содержание темы)

Контрольное занятие для оценки уровня знаний студентов.

Фотоколориметрия отличается от спектрофотометрического анализа тем, что анализируемое вещество с помощью какого-либо реагента переводят (количественно) в окрашенное соединение. Вначале получают окрашенные растворы, используя растворы стандартных образцов (ГСО или РСО). Измерение оптической плотности производят на фотоколориметрах. Затем строят калибровочный график зависимости интенсивности поглощения окрашенных растворов от концентрации, по которому рассчитывают содержание ЛВ в испытуемых образцах ЛВ или ЛФ.

Метод дифференциальной спектрофотометрии и фотоколориметрии основан на измерении светопоглощения анализируемого раствора относительно раствора сравнения, содержащего определенное количество стандартного образца испытуемого вещества или его заменителя. Такой прием приводит к изменению рабочей области шкалы прибора и снижению относительной погрешности определения до $\pm 0,5-1\%$, т.е. сопоставимой с титриметрическими методами.

Производная УФ-спектрофотометрия является одним из вариантов дифференциальной спектрофотометрии. Если в дифференциальной спектрофотометрии используют разность оптических плотностей при одной и той же длине волны, то в производной — при двух длинах волн, разделенных небольшим интервалом. Этот вариант основан на выделении индивидуальных полос из УФ-спектра, который представляет собой сумму налагающихся полос поглощения или полос, не имеющих четко выраженного максимума. При этом на спектральных кривых в координатах: производная - длина волны появляются полосы с отчетливо выраженными максимумами и минимумами. Благодаря этому можно идентифицировать сходные по химической структуре вещества, повысить избирательность анализа и выполнять количественное определение двух-, трехкомпонентных смесей более экономично и эффективно, чем титриметрическими методами.

Одним из вариантов дифференциальной спектрофотометрии является **Е-метод**. Он основан на превращении одного из веществ, входящих в состав анализируемой пробы, в таутомерную (или иную) форму, отличающуюся по характеру и интенсивности светопоглощения. Затем намеряют светопоглощение раствора одной таутомерной формы по отношению к другой, т.е. используют в качестве стандарта раствор анализируемого вещества.

Спектрофотометрия в ИК-области. Природа полос поглощения в ИК области связана с колебательными переходами и изменением колебательных состояний ядер, входящих в молекулу поглощающего вещества. Поэтому поглощением в ИК-области обладают молекулы, дипольные моменты которых изменяются при возбуждении колебательных движений ядер. Область применения ИК-спектроскопии аналогична, но более широка, чем у УФ-метода. ИК-спектр однозначно характеризует всю структуру молекулы, включая незначительные её изменения. Важные преимущества ИК-спектроскопии — высокая специфичность, объективность полученных результатов, возможность анализа веществ в кристаллическом состоянии. Для измерения ИК-спектров на однолучевых или двухлучевых ИК-спектрофотометрах используют взвеси веществ в вазелиновом масле или помещают анализируемое вещество между пластинами из бромида калия. Каждый ИК-спектр представляет собой серию полос поглощения, максимумы которых определяются волновым числом, измеряемым в см^{-1} , и определенной интенсивностью. Для анализа ЛВ обычно используют спектральную область от 4000 до 400 см^{-1} .

ГФ XI рекомендует два способа установления подлинности по ИК-спектрам. Один из них основан на сравнении зарегистрированных в идентичных условиях ИК-спектров испытуемого ЛВ и его стандартного образца. Второй способ заключается в сравнении ИК-спектра испытуемого ЛВ с его стандартным спектром, прилагаемым к ФС и зарегистрированным в соответствии с указанными в ней требованиями.

Фототурбидиметрия - метод, основанный на измерении интенсивности света, поглощенного тонкодисперсной суспензией, и **фотонепелометрия** - метод, основанный на измерении света, рассеянного взвешенными частицами анализируемого вещества. Оба метода довольно редко применяют в фармацевтическом анализе для количественного определения ЛВ, образующих с различными реактивами тонкие суспензии. Предварительно устанавливают зависимость между интенсивностью поглощения (рассеяния) света и концентрацией вещества в анализируемом растворе. Способы расчета аналогичны фотометрическим методам.

9. Вопросы по теме занятия

1. Теоретические основы метода рефрактометрии и поляриметрии.

Компетенции: УК-1.1, ОПК-2.1

2. Какое явление лежит в основе методов?

Компетенции: УК-1.2, ОПК-2.1

3. Что такое показатель преломления, по какой формуле он рассчитывается?

Компетенции: УК-1.2, ОПК-2.1

4. Поясните физический смысл фактора прироста показателя преломления вещества.

Компетенции: УК-1.2, УК-1.1

5. Объясните влияние температуры на показатель преломления.

Компетенции: УК-1.1, ОПК-2.1

6. Устройство рефрактометра и поляриметра, правила работы на нём.

Компетенции: УК-1.2, ОПК-2.1

7. Устройство рефрактометра и поляриметра, правила работы на нём

Компетенции: УК-1.1, ОПК-2.1

8. Особенности анализа лекарственных средств оптическими методами.

Компетенции: УК-1.2, УК-1.1

9. Применение методов для анализа сложных лекарственных форм.

Компетенции: УК-1.2, ОПК-2.1

10. Применение рефрактометрии для количественного определения спирта в настойках, спирто-водных растворах.

Компетенции: УК-1.2, ОПК-2.1

11. Применение рефрактометрии для количественного определения спирта в настойках, спирто-водных растворах.

Компетенции: УК-1.2, ОПК-2.1

12. Преимущества и недостатки методов.

Компетенции: УК-1.1, ОПК-2.1

13. Преимущества и недостатки методов.

Компетенции: УК-1.1, УК-1.2

10. Тестовые задания по теме с эталонами ответов

1. С ПОМОЩЬЮ РЕФРАКТОМЕТРИИ МОЖНО ОПРЕДЕЛИТЬ:

- 1) содержание этанола однокомпонентной лекарственной форме;
- 2) содержание одного ингредиента в многокомпонентной лекарственной форме;
- 3) содержание двух и более компонентов в лекарственной форме;
- 4) содержание этанола и одного из компонентов лекарственной формы;

Правильный ответ: 2

Компетенции: ОПК-2.1

2. КОНЦЕНТРАЦИЯ СПИРТА В РАСТВОРАХ, ПРИ КОТОРОЙ НАБЛЮДАЕТСЯ ПРЯМОЛИНЕЙНАЯ ЗАВИСИМОСТЬ:

- 1) от 1 % до 55 %;
- 2) от 55 до 75 %;
- 3) от 75 до 95 %;

Правильный ответ: 1

Компетенции: УК-1.2

3. ПЕРЕД РЕФРАКТОМЕТРИЧЕСКИМ ОПРЕДЕЛЕНИЕМ СПИРТОВУЮ ЛЕКАРСТВЕННУЮ ФОРМУ, НА КОТОРОЙ ПО РЕЦЕПТУ В НЕЙ КОНЦЕНТРАЦИЯ СПИРТА ОБОЗНАЧЕНА, НУЖНО РАЗБАВИТЬ СЛУЧАЕ:

- 1) 40 %;
- 2) 70 %;
- 3) 80 %;
- 4) 95 %;

Правильный ответ: 2,3,4

Компетенции: УК-1.2

4. КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ В СПИРТОВЫХ РАСТВОРАХ ЦЕЛЕСООБРАЗНО ПРОВОДИТЬ:

- 1) титриметрическими методами;
- 2) фотоэлектроколориметрическим методом;
- 3) спектрофотометрическим методом;
- 4) рефрактометрически;

Правильный ответ: 4

Компетенции: УК-1.1

5. ПРИ РЕФРАКТОМЕТРИЧЕСКИМ ОПРЕДЕЛЕНИИ КОМПОНЕНТОВ В ВОДНО-СПИРТОВЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМАХ В КАЧЕСТВЕ КОНТРОЛЯ НЕОБХОДИМО ИСПОЛЬЗОВАТЬ ПОКАЗАТЕЛЬ ПРЕЛОМЛЕНИЯ (N_D)::

- 1) воды (при 20 °C);
- 2) этанола точно такой же концентрации, как в растворе при 20 °C;
- 3) этанола точно такой же концентрации, как в растворе при температуре измерения;

Правильный ответ: 3

Компетенции: ОПК-2.1

11. Ситуационные задачи по теме с эталонами ответов

1. На анализ в Контрольно-аналитическую лабораторию поступило сырьё «Красавки трава».

Вопрос 1: Какой нормативной документацией руководствуются при проведении анализа данного вида сырья?;

Вопрос 2: Каков химический состав? Укажите методы обнаружения и определения биологически активных веществ.;

1) ГФ XIII, ФС.2.5.0020.15.;

2) Содержатся алкалоиды - производные тропана (0,05-0,8%). Основными алкалоидами красавки являются L-гиосциамин, а также скополамин. В процессе первичной переработки сырья и выделения алкалоидов L-гиосциамин частично переходит в правовращающий изомер - D-гиосциамин. Рацемическая смесь право- и

левовращающих изомеров называется атропином. Кроме того, трава красавки содержит стероиды, фенольные кислоты и их производные, флавоноиды, оксикумарины, алифатические спирты. Обнаружение алкалоидов проводят с помощью качественных реакций с общеалкалоидными осадительными реактивами и методом тонкослойной хроматографии. Сумму алкалоидов в пересчете на гиосциамин в траве красавки определяют методом обратного водного титрования.;

Компетенции: УК-1.1, УК-1.2, ОПК-2.1

2. В контрольно-аналитическую лабораторию на анализ поступила раствор йода спиртовой 5%.

Вопрос 1: Как определить концентрацию данного ЛП с помощью рефрактометрии, используя показатель преломления?;

Вопрос 2: Какой метод количественного определения можно использовать при анализе данной ЛФ?;

1) В водных растворах этанола наблюдается линейная зависимость показателя преломления от его концентрации до 50 - 55 %. При более высокой концентрации этанола не соблюдается прямопропорциональная зависимость. В связи с этим в растворах этанола с концентрацией более 55 % необходимо его предварительное разведение водой. Следует иметь в виду, что на точность результатов рефрактометрического анализа спиртовых растворов значительное влияние оказывает температура. Поэтому, если определение показателя преломления проводится не при 20 0С, необходимо вносить поправку на температуру. Величины поправок показателя преломления на 1 0С (температурный коэффициент) приводятся в таблицах. В случае определения при температуре выше 20 0С поправку прибавляют к найденной величине показателя преломления, если анализ проведен при температуре ниже 20 0С, поправку вычитают. Для рефрактометрического определения концентрации этанола в растворах, содержащих не менее 55 % этанола, наносят на призму рефрактометра 3 - 5 капель спиртового раствора, быстро закрывают ее и определяют показатель преломления. Далее, если определение проводилось не при температуре 20 0С, вносят поправку на температуру и после приведения показателя преломления к 20 0С находят по таблице концентрацию этанола, соответствующую полученной величине показателя преломления.;

2) Метод йодиметрии. Титрант - натрия тиосульфат, индикатор - крахмал.;

Компетенции: УК-1.1, УК-1.2, ОПК-2.1

12. Примерная тематика НИРС по теме

1. Спектральные методы анализа лекарственных средств: спектрофотометрия в УФ- и видимой областях, флуориметрия, фототурбидиметрия, фотоэлектроколориметрия. Основной закон светопоглощения. Основные части фотоэлектроколориметра и принцип работы на приборах.
2. Спектральные методы анализа лекарственных средств: спектрофотометрия в ИК-области. Основные части ИК-спектрометра и принцип работы на приборах.
3. Предложить студентам, подготовить обучающие программы по изучаемой теме.
4. Сущность тонкослойной хроматографии (ТСХ). Проведение качественного и количественного анализа методом ТСХ.

13. Рекомендованная литература по теме занятия

- **дополнительная:**

[Фармацевтическая химия](#) : учебник / ред. Г. В. Раменская. - 3-е изд., (электрон.). - Москва : Лаборатория знаний, 2019. - 470 с. - Текст : электронный.

- **электронные ресурсы:**

Анализ лекарственных препаратов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (<https://docs.google.com/file/d/0ByYcXpTXVG2vWU5XWm4tbVBxVVU/edit>)

Качественный анализ методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (<https://docs.google.com/file/d/0ByYcXpTXVG2vampYR2VnTkQteWs/edit>)

Анализ лекарственных препаратов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии в сочетании с хромато-масс спектрометрией (<https://docs.google.com/file/d/0ByYcXpTXVG2vZjRrQUhfbzFoOFU/edit>)

1. Тема № 15. Бумажная хроматография. Особенности метода, применение в фарманализе. (Компетенции: УК-1.1, УК-1.2)

2. Разновидность занятия: дискуссия

3. Методы обучения: объяснительно-иллюстративный

4. Значение темы (актуальность изучаемой проблемы): Фармацевтическая химия занимает центральное место среди других специальных фармацевтических дисциплин - фармакогнозии, фармацевтической технологии, фармакологии, организации и экономики фармации, токсикологической химии и является своеобразным связующим звеном между ними. Задачи, стоящие перед фармацевтической химией, решаются с помощью классических химических, физических и физико-химических методов, которые используются как для синтеза, так и для анализа лекарственных веществ. Разработка нормативно-правовых документов, регламентирующих качество фармацевтической продукции, а также неукоснительное соблюдение и контроль за соответствием качества продукции данным документам является важнейшей задачей фармацевтического анализа и его составной части - фармакопейного анализа. Материал данной темы будет использоваться при изучении других тем фармацевтической химии.

5. Цели обучения

- **обучающийся должен знать** методы, приемы и способы выполнения химического и физико-химического анализа, методы, приемы и способы выполнения химического и физико-химического анализа для установления качественного состава и количественного определения, методы, приемы и способы выполнения химического и физико-химического анализа, принципы работы автоматизированных аналитических систем, **уметь** определять удельное вращение оптически активных препаратов, определять показатель преломления на рефрактометре, расчет концентрации с использованием метода интерполяции, определять рН среды потенциометрически на иономере, **владеть** техникой работы на фотоэлектроколориметре: определение концентрации, определение удельного показателя поглощения, техникой экспресс-анализа - выполнение капельных реакций

6. Место проведения и оснащение занятия:

- **место проведения занятия:** учебная комната 6-26

- **оснащение занятия:** весы аналитические, весы электронные, влагоанализатор mettler toledo, иономер, набор химических реактивов, набор химической посуды, спектрофотометр uniso, фотоколориметр leki, шкафы вытяжные, штативы лабораторные, электропечь муфельная

7. Структура содержания темы (хронокарта)

Хронокарта

п/п	Этапы практического занятия	Продолжительность (мин.)	Содержание этапа и оснащенность
1	Организация занятия	5.00	Проверка посещаемости и внешнего вида обучающихся
2	Формулировка темы и целей	5.00	Озвучивание преподавателем темы и ее актуальности, целей занятия
3	Контроль исходного уровня знаний и умений	10.00	Тестирование
4	Раскрытие учебно-целевых вопросов по теме занятия	10.00	Инструктаж обучающихся преподавателем
5	Самостоятельная работа обучающихся: а) приготовление эталонных растворов, б) подготовка к ответам на вопросы занятия.	40.00	1) выполнение практического задания, 2) подготовка к ответам на вопросы занятия по учебнику и учебному пособию.
6	Итоговый контроль знаний (письменно или устно)	15.00	Тесты по теме, ситуационные задачи
7	Задание на дом (на следующее занятие)	5.00	Учебно-методические разработки следующего занятия и методические разработки для внеаудиторной работы по теме
	ВСЕГО	90	

8. Аннотация (краткое содержание темы)

Хроматографические методы разделения веществ основаны на их распределении между двумя фазами: подвижной и неподвижной. Подвижная фаза - жидкость или газ; неподвижная - твердое вещество или жидкость, адсорбированная на твердом носителе. Относительная скорость перемещения частиц вдоль пути разделения зависит от их взаимодействия с неподвижной фазой). По принципу протекающих при разделении смеси веществ физико-химических процессов хроматографические методы подразделяют на три основные группы: распределительная, адсорбционная, ионообменная хроматография.

Распределительная хроматография

В распределительной хроматографии (конкурентное распределение компонентов смеси между двумя

несмешивающимися растворителями) инертный носитель пропитывают специальным растворителем (неподвижная фаза) и помещают в колонку (колоночная хроматография, газовая хроматография). Затем в колонку вводят раствор анализируемой смеси и пропускают второй растворитель, не смешивающийся с первым (подвижная фаза; при газовой хроматографии подвижной фазой является газ).

Благодаря различной растворимости компонентов смеси в обеих фазах в соответствии с коэффициентами их распределения в колонке устанавливается равновесие. При непрерывном протекании подвижной фазы наблюдается разделение анализируемой смеси на компоненты и поочередное их вымывание из колонок.

Адсорбционная хроматография

Стационарной фазой в адсорбционной хроматографии (конкурентное распределение компонентов смеси между элюентом и адсорбентом) является адсорбент (активированный уголь, силикагель, окись алюминия и др.). Пропускание подвижной фазы через адсорбент приводит к непрерывным процессам сорбции и десорбции компонентов анализируемой смеси. Разделение их обусловлено различным сродством к адсорбенту.

Ионообменная хроматография

В качестве подвижной фазы в ионообменной хроматографии (обратимый обмен между ионами анализируемого раствора и ионогенными группами носителя) используют ионообменники (иониты), представляющие собой высокомолекулярные вещества природного или синтетического происхождения.

Ионообменники бывают двух типов: аниониты (анионообменники) и катиониты (катионообменники). Аниониты являются высокомолекулярными полизарядными веществами, способными обмениваться анионами с раствором анализируемого электролита. Катиониты же способны обмениваться катионами с раствором анализируемого электролита. Метод применяется главным образом для разделения электролитов и аминокислот.

По способу разделения компонентов анализируемой смеси и аппаратного оснащения различают следующие методики: хроматография на колонке, на бумаге, в тонком слое сорбента, газовая, высокоэффективная жидкостная хроматография и др.

Хроматография на бумаге. Носителем неподвижной фазы (например, воды) служит специальная хроматографическая бумага. Распределение происходит между водой, находящейся на поверхности бумаги, и подвижной фазой, которая представляет собой систему из нескольких растворителей. Испытание выполняют согласно требованиям ГФ XI (в.1, с.98) или ФС (ФСП). Для подтверждения подлинности одновременно хроматографируют испытуемое вещество и стандартный образец. Если они идентичны, то пятна на хроматограммах будут иметь одинаковый вид и равные значения R_f . (R_f – отношение расстояния от стартовой линии до центра пятна на хроматограмме к расстоянию от линии старта до линии финиша.) Чтобы исключить влияние на ошибку определения условий хроматографирования, пользуются более объективной константой R_s , которая представляет собой отношение величин R_f испытуемого и стандартного образцов. Хроматографию используют при испытании на чистоту. О наличии примесей судят по появлению дополнительных пятен на хроматограмме. Анализируемое вещество и примесь обычно имеют разные значения R_f .

Воспроизводимость результатов анализа при хроматографии на бумаге достигается при стандартизации следующих факторов:

- 1) характеристика бумаги для хроматографии;
- 2) конструкция и размер камеры;
- 3) состав неподвижной и подвижной фаз;
- 4) объем наносимой пробы;
- 5) характеристика стандартных веществ;
- 6) способ хроматографирования (восходящий, нисходящий и др.);
- 7) степень насыщения камеры;
- 8) расстояние, пройденное подвижной фазой;
- 9) способ обнаружения веществ.

Количественное содержание вещества можно определить непосредственно на хроматограмме, используя планиметрический, денситометрический, люминесцентный и другие методы. Используют также способы, основанные на элюировании анализируемого вещества из вырезанного и измельченного участка хроматограммы с соответствующим пятном. В элюате содержание испытуемого вещества определяют фотометрическим или электрохимическим методом.

9. Вопросы по теме занятия

1. В чем сущность хроматографического процесса?

Компетенции: УК-1.1, УК-1.2

2. Как классифицируют методы хроматографии по агрегатному состоянию фаз и по методике проведения эксперимента?

Компетенции: УК-1.1, УК-1.2

3. Каким образом проводится детектирование веществ на хроматограмме?

Компетенции: УК-1.1, УК-1.2

4. Что такое: а) высота хроматографического пика; б) ширина хроматографического пика; в) общий удерживаемый объем; г) приведенный удерживаемый объем?

Компетенции: УК-1.1, УК-1.2

5. Какие достоинства и недостатки газовой адсорбционной и газоожидкостной хроматографии?

Компетенции: УК-1.1, УК-1.2

10. Тестовые задания по теме с эталонами ответов

1. ВАРИАНТ, В КОТОРОМ ПРАВИЛЬНО И ПОЛНО ПЕРЕЧИСЛЕННЫ УЗЛЫ ХРОМАТОГРАФА:

- 1) блок подготовки газа, детектор, колонка, термостат, расходомер;
- 2) блок подготовки газа, манометры, детектор, дозатор, колонка, термостаты, расходомер, блок управления, самописец;
- 3) блок подготовки газа, дозатор, трубопроводы, детектор, колонка, атомизатор, термостат, интерфейс, блок управления, самописец;

Правильный ответ: 2

Компетенции: УК-1.2

2. ПОКАЗАТЕЛИ, КОТОРЫЕ ИСПОЛЬЗУЮТСЯ ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ ВЕЩЕСТВ В ГАЗОВОЙ ХРОМАТОГРАФИИ:

- 1) площадь пика;
- 2) высота пика;
- 3) индекс Ковача;
- 4) время удерживания;
- 5) удерживаемый объем;

Правильный ответ: 4,5

Компетенции: УК-1.2

3. ВЕЛИЧИНЫ, КОТОРЫЕ ИСПОЛЬЗУЮТСЯ В РАСЧЁТЕ КОНЦЕНТРАЦИИ ВЕЩЕСТВ:

- 1) площадь пика;
- 2) высота пика;
- 3) ток детектора;
- 4) время удерживания;
- 5) удерживаемый объем;

Правильный ответ: 1,2

Компетенции: УК-1.2

4. СПОСОБ РАСЧЁТА КОНЦЕНТРАЦИЙ, КОТОРЫЙ ИСПОЛЬЗУЕТСЯ В ГАЗОВОЙ ХРОМАТОГРАФИИ:

- 1) нормировка;
- 2) абсолютная калибровка;
- 3) внутренний стандарт;
- 4) стандартная добавка;
- 5) все перечисленные способы;

Правильный ответ: 1,2,3

Компетенции: УК-1.2

5. СПОСОБ РАСЧЁТА, КОТОРЫЙ ЯВЛЯЕТСЯ НАИБОЛЕЕ ТОЧНЫМ:

- 1) абсолютная калибровка;
- 2) внутренний стандарт;
- 3) нормировка;
- 4) стандартная добавка;

Правильный ответ: 2

Компетенции: УК-1.1

11. Ситуационные задачи по теме с эталонами ответов

1. В рецептурно-производственный отдел аптеки поступил рецепт, содержащий следующую пропись: Rp.: Unguenti Zinci 20,0 Resorcini 0,5 Misce. Da. Signa. Наружное. Наносить на поврежденный участок кожи.

Вопрос 1: Какие реакции подлинности можно предложить при анализе данной ЛФ?;

Вопрос 2: Каков ход анализа данной мази?;

1) Цинка оксид - реакция с сульфидом натрия. Резорцин- реакция с диазореактивом;

2) Мази должны быть однородными. Для определения однородности мази берут 4 пробы по 0,02—0,03 г, помещая по 2 пробы на предметное стекло; Накрывают вторым предметным стеклом и плотно прижимают до образования пятен диаметром до 2 см. При рассмотрении полученных пятен невооруженным глазом (на расстоянии около 30 см от глаза) в 3-х из 4-х проб не должно обнаруживаться видимых частиц. Если частицы обнаруживаются в большем числе пятен, определение проводят повторно на 8 пробах. При этом допускается наличие видимых частиц не более чем в двух пятнах. Для мазей однородность устанавливается по отсутствию отдельных крупинок путем растирания мази между ладонями. В мазях, предназначенных для нанесения на слизистые оболочки, однородность определяется при помощи лупы с увеличением в 10 раз.;

Компетенции: УК-1.1, УК-1.2

2. В аптеку обратился мужчина с просьбой изготовить лекарственный препарат по рецепту врача: (Recipe: Infusi herbae Leonuri 70 ml Coffeini- natrii benzoatis 0,1 Natrii bromidi 0,2 Tincturae Valerianae 5 ml Misce. Da. Signa. По 1 столовой ложке 3 раза в день) Примечание: Кофеина-бензоат натрия ВРД = 0,5, ВСД = 1,5; Кв травы пустырника - 2,0.

Вопрос 1: Проведите оценку качества изготовленного лекарственного препарата;

Вопрос 2: Какие требования предъявляются к оформлению лекарственной формы к отпуску;

1) Анализ документации. Имеющийся рецепт, паспорт письменного контроля и номер лекарственной формы соответствуют. Ингредиенты совместимы, дозы не превышены, расчёты сделаны верно. Объём флакона соответствует объёму лекарственной формы. Флакон укупорен герметично. Этикетка соответствует способу применения. Органолептический контроль. Светло-коричневая жидкость с характерным запахом. Механические включения отсутствуют. Объём лекарственной формы $75 \pm 2,3$ мл, что соответствует нормам допустимых отклонений ($\pm 3\%$) по приказу МЗ РФ № 751н;

2) Флакон укупоривают плотно пластмассовой пробкой с навинчивающейся крышкой. Наклеивают номер рецепта и этикетку. На этикетках для оформления лекарственных препаратов, изготовленных для населения, должно быть указано: а) наименование аптечной организации, ФИО индивидуального предпринимателя, имеющего лицензию на фармацевтическую деятельность; б) местонахождение аптечной организации или место фармацевтической деятельности индивидуального предпринимателя; в) номер рецепта (присваивается в аптеке); г) ФИО пациента; д) «Внутреннее», Микстура»; е) подробное описание способа применения (для микстур: «по ___ ложке ___ раз в день ___ еды»); ж) дата изготовления лекарственного препарата; з) срок годности лекарственного препарата («Годен до ___»); и) цена лекарственного препарата; к) предостережение «Хранить в недоступном для детей месте». Ответы_СЗ_Фармация_2017_191 Для микстур обязательны дополнительные этикетки «Перед употреблением взбалтывать», «Хранить в прохладном и защищённом от света месте». Текст этикеток должен быть напечатан типографским способом на русском языке. Срок хранения - не более 2 суток. Оформление согласно требованиям приказа;

Компетенции: УК-1.1, УК-1.2

12. Примерная тематика НИРС по теме

1. Оптические методы анализа: рефрактометрия. Закон преломления. Применение в фарманализе.
2. Газожидкостная хроматография. Коэффициент распределения, выбор подвижной фазы. Методы определения подлинности и количественного содержания веществ в лекарственной форме.
3. Предложить студентам, подготовить обучающие программы по изучаемой теме.
4. Особенности бумажной хроматографии.

13. Рекомендованная литература по теме занятия

- **дополнительная:**

[Фармацевтическая химия](#) : учебник / ред. Г. В. Раменская. - 3-е изд., (электрон.). - Москва : Лаборатория знаний, 2019. - 470 с. - Текст : электронный.

- **электронные ресурсы:**

Анализ лекарственных препаратов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (<https://docs.google.com/file/d/0ByYcXpTXVG2vWU5XWm4tbVBxVVU/edit>)

Качественный анализ методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (<https://docs.google.com/file/d/0ByYcXpTXVG2vampYR2VnTkQteWs/edit>)

Анализ лекарственных препаратов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии в сочетании с хромато-масс спектрометрией (<https://docs.google.com/file/d/0ByYcXpTXVG2vZjRrQUhfbzFoOFU/edit>)

1. Тема № 16. Определение подлинности рутина, кверцетина методом бумажной хроматографии. (Компетенции: УК-1.1, УК-1.2)

2. Разновидность занятия: дискуссия

3. Методы обучения: объяснительно-иллюстративный

4. Значение темы (актуальность изучаемой проблемы): Фармацевтическая химия занимает центральное место среди других специальных фармацевтических дисциплин – фармакогнозии, фармацевтической технологии, фармакологии, организации и экономики фармации, токсикологической химии и является своеобразным связующим звеном между ними. Задачи, стоящие перед фармацевтической химией, решаются с помощью классических химических, физических и физико-химических методов, которые используются как для синтеза, так и для анализа лекарственных веществ. Разработка нормативно-правовых документов, регламентирующих качество фармацевтической продукции, а также неукоснительное соблюдение и контроль за соответствием качества продукции данным документам является важнейшей задачей фармацевтического анализа и его составной части – фармакопейного анализа. Материал данной темы будет использоваться при изучении других тем фармацевтической химии.

5. Цели обучения

- **обучающийся должен знать** основные нормативные документы, касающиеся контроля качества лекарственных средств, биомедицинских препаратов и изделий медицинского назначения, методы, приемы и способы выполнения химического и физико-химического анализа для установления качественного состава и количественного определения, оборудование и реактивы для проведения физико-химического анализа лекарственных веществ для медицинского применения, биомедицинского клеточного продукта и медицинских изделий, **уметь** определять удельное вращение оптически активных препаратов, приготовить титрованный раствор по навеске и из фиксанала и установление поправочного коэффициента, использовать технику флуорисцентного анализа, **владеть** техникой экспресс-анализа - выполнение капельных реакций, техникой микрокристаллоскопического анализа

6. Место проведения и оснащение занятия:

- **место проведения занятия:** учебная комната 6-26

- **оснащение занятия:** весы аналитические, весы электронные, влагоанализатор mettler toledo, иономер, набор химических реактивов, набор химической посуды, спектрофотометр uniso, фотоколориметр leki, шкафы вытяжные, штативы лабораторные, электропечь муфельная

7. Структура содержания темы (хронокарта)

Хронокарта

п/п	Этапы практического занятия	Продолжительность (мин.)	Содержание этапа и оснащенность
1	Организация занятия	5.00	Проверка посещаемости и внешнего вида обучающихся
2	Формулировка темы и целей	5.00	Озвучивание преподавателем темы и ее актуальности, целей занятия
3	Контроль исходного уровня знаний и умений	10.00	Тестирование
4	Раскрытие учебно-целевых вопросов по теме занятия	10.00	Инструктаж обучающихся преподавателем
5	Самостоятельная работа обучающихся: а) приготовление эталонных растворов, б) подготовка к ответам на вопросы занятия.	40.00	1) выполнение практического задания, 2) подготовка к ответам на вопросы занятия по учебнику и учебному пособию.
6	Итоговый контроль знаний (письменно или устно)	15.00	Тесты по теме, ситуационные задачи
7	Задание на дом (на следующее занятие)	5.00	Учебно-методические разработки следующего занятия и методические разработки для внеаудиторной работы по теме
	ВСЕГО	90	

8. Аннотация (краткое содержание темы)

Хроматографические методы разделения веществ основаны на их распределении между двумя фазами: подвижной и неподвижной. Подвижная фаза – жидкость или газ; неподвижная – твердое вещество или жидкость, адсорбированная на твердом носителе. Относительная скорость перемещения частиц вдоль пути разделения зависит от их взаимодействия с неподвижной фазой). По принципу протекающих при разделении смеси веществ физико-химических процессов хроматографические методы подразделяют на три основные группы: распределительная, адсорбционная, ионообменная хроматография.

Распределительная хроматография

В распределительной хроматографии (конкурентное распределение компонентов смеси между двумя

несмешивающимися растворителями) инертный носитель пропитывают специальным растворителем (неподвижная фаза) и помещают в колонку (колоночная хроматография, газовая хроматография). Затем в колонку вводят раствор анализируемой смеси и пропускают второй растворитель, не смешивающийся с первым (подвижная фаза; при газовой хроматографии подвижной фазой является газ).

Благодаря различной растворимости компонентов смеси в обеих фазах в соответствии с коэффициентами их распределения в колонке устанавливается равновесие. При непрерывном протекании подвижной фазы наблюдается разделение анализируемой смеси на компоненты и поочередное их вымывание из колонок.

Адсорбционная хроматография

Стационарной фазой в адсорбционной хроматографии (конкурентное распределение компонентов смеси между элюентом и адсорбентом) является адсорбент (активированный уголь, силикагель, окись алюминия и др.). Пропускание подвижной фазы через адсорбент приводит к непрерывным процессам сорбции и десорбции компонентов анализируемой смеси. Разделение их обусловлено различным сродством к адсорбенту.

Ионообменная хроматография

В качестве подвижной фазы в ионообменной хроматографии (обратимый обмен между ионами анализируемого раствора и ионогенными группами носителя) используют ионообменники (иониты), представляющие собой высокомолекулярные вещества природного или синтетического происхождения.

Ионообменники бывают двух типов: аниониты (анионообменники) и катиониты (катионообменники). Аниониты являются высокомолекулярными полизарядными веществами, способными обмениваться анионами с раствором анализируемого электролита. Катиониты же способны обмениваться катионами с раствором анализируемого электролита. Метод применяется главным образом для разделения электролитов и аминокислот.

По способу разделения компонентов анализируемой смеси и аппаратного оснащения различают следующие методики: хроматография на колонке, на бумаге, в тонком слое сорбента, газовая, высокоэффективная жидкостная хроматография и др.

Хроматография на бумаге. Носителем неподвижной фазы (например, воды) служит специальная хроматографическая бумага. Распределение происходит между водой, находящейся на поверхности бумаги, и подвижной фазой, которая представляет собой систему из нескольких растворителей. Испытание выполняют согласно требованиям ГФ XI (в.1, с.98) или ФС (ФСП). Для подтверждения подлинности одновременно хроматографируют испытуемое вещество и стандартный образец. Если они идентичны, то пятна на хроматограммах будут иметь одинаковый вид и равные значения R_f . (R_f - отношение расстояния от стартовой линии до центра пятна на хроматограмме к расстоянию от линии старта до линии финиша.) Чтобы исключить влияние на ошибку определения условий хроматографирования, пользуются более объективной константой R_s , которая представляет собой отношение величин R_f испытуемого и стандартного образцов. Хроматографию используют при испытании на чистоту. О наличии примесей судят по появлению дополнительных пятен на хроматограмме. Анализируемое вещество и примесь обычно имеют разные значения R_f .

Воспроизводимость результатов анализа при хроматографии на бумаге достигается при стандартизации следующих факторов:

- 1) характеристика бумаги для хроматографии;
- 2) конструкция и размер камеры;
- 3) состав неподвижной и подвижной фаз;
- 4) объем наносимой пробы;
- 5) характеристика стандартных веществ;
- 6) способ хроматографирования (восходящий, нисходящий и др.);
- 7) степень насыщения камеры;
- 8) расстояние, пройденное подвижной фазой;
- 9) способ обнаружения веществ.

Количественное содержание вещества можно определить непосредственно на хроматограмме, используя планиметрический, денситометрический, люминесцентный и другие методы. Используют также способы, основанные на элюировании анализируемого вещества из вырезанного и измельченного участка хроматограммы с соответствующим пятном. В элюате содержание испытуемого вещества определяют фотометрическим или электрохимическим методом.

9. Вопросы по теме занятия

1. В чем сущность хроматографического процесса?

Компетенции: УК-1.1, УК-1.2

2. Как классифицируют методы хроматографии по агрегатному состоянию фаз и по методике проведения эксперимента?

Компетенции: УК-1.1, УК-1.2

3. Каким образом проводится детектирование веществ на хроматограмме?

Компетенции: УК-1.1, УК-1.2

4. Что такое: а) высота хроматографического пика; б) ширина хроматографического пика; в) общий удерживаемый объем; г) приведенный удерживаемый объем?

Компетенции: УК-1.1, УК-1.2

5. Какие достоинства и недостатки газовой адсорбционной и газоожидкостной хроматографии?

Компетенции: УК-1.1, УК-1.2

10. Тестовые задания по теме с эталонами ответов

1. ВАРИАНТ, В КОТОРОМ ПРАВИЛЬНО И ПОЛНО ПЕРЕЧИСЛЕННЫ УЗЛЫ ХРОМАТОГРАФА:

- 1) блок подготовки газа, детектор, колонка, термостат, расходомер;
- 2) блок подготовки газа, манометры, детектор, дозатор, колонка, термостаты, расходомер, блок управления, самописец;
- 3) блок подготовки газа, дозатор, трубопроводы, детектор, колонка, атомизатор, термостат, интерфейс, блок управления, самописец;

Правильный ответ: 2

Компетенции: УК-1.2

2. ПОКАЗАТЕЛИ, КОТОРЫЕ ИСПОЛЬЗУЮТСЯ ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ ВЕЩЕСТВ В ГАЗОВОЙ ХРОМАТОГРАФИИ:

- 1) площадь пика;
- 2) высота пика;
- 3) индекс Ковача;
- 4) время удерживания;
- 5) удерживаемый объем;

Правильный ответ: 4,5

Компетенции: УК-1.2

3. ВЕЛИЧИНЫ, КОТОРЫЕ ИСПОЛЬЗУЮТСЯ В РАСЧЁТЕ КОНЦЕНТРАЦИИ ВЕЩЕСТВ:

- 1) площадь пика;
- 2) высота пика;
- 3) ток детектора;
- 4) время удерживания;
- 5) удерживаемый объем;

Правильный ответ: 1,2

Компетенции: УК-1.2

4. СПОСОБ РАСЧЁТА КОНЦЕНТРАЦИЙ, КОТОРЫЙ ИСПОЛЬЗУЕТСЯ В ГАЗОВОЙ ХРОМАТОГРАФИИ:

- 1) нормировка;
- 2) абсолютная калибровка;
- 3) внутренний стандарт;
- 4) стандартная добавка;
- 5) все перечисленные способы;

Правильный ответ: 1,2,3

Компетенции: УК-1.1

5. СПОСОБ РАСЧЁТА, КОТОРЫЙ ЯВЛЯЕТСЯ НАИБОЛЕЕ ТОЧНЫМ:

- 1) абсолютная калибровка;
- 2) внутренний стандарт;
- 3) нормировка;
- 4) стандартная добавка;

Правильный ответ: 2

Компетенции: УК-1.2

11. Ситуационные задачи по теме с эталонами ответов

1. В рецептурно-производственный отдел аптеки поступил рецепт, содержащий следующую пропись: Rp.: Unguenti Zinci 20,0 Resorcini 0,5 Misce. Da. Signa. Наружное. Наносить на поврежденный участок кожи.

Вопрос 1: Какие реакции подлинности можно предложить при анализе данной ЛФ?;

Вопрос 2: Каков ход анализа данной мази?;

1) Цинка оксид - реакция с сульфидом натрия. Резорцин- реакция с диазореактивом;

2) Мази должны быть однородными. Для определения однородности мази берут 4 пробы по 0,02—0,03 г, помещая по 2 пробы на предметное стекло; Накрывают вторым предметным стеклом и плотно прижимают до образования пятен диаметром до 2 см. При рассмотрении полученных пятен невооруженным глазом (на расстоянии около 30 см от глаза) в 3-х из 4-х проб не должно обнаруживаться видимых частиц. Если частицы обнаруживаются в большем числе пятен, определение проводят повторно на 8 пробах. При этом допускается наличие видимых частиц не более чем в двух пятнах. Для мазей однородность устанавливается по отсутствию отдельных крупинок путем растирания мази между ладонями. В мазях, предназначенных для нанесения на слизистые оболочки, однородность определяется при помощи лупы с увеличением в 10 раз.;

Компетенции: УК-1.1, УК-1.2

2. В аптеку обратился мужчина с просьбой изготовить лекарственный препарат по рецепту врача: (Recipe: Infusi herbae Leonuri 70 ml Coffeini- natrii benzoatis 0,1 Natrii bromidi 0,2 Tincturae Valerianae 5 ml Misce. Da. Signa. По 1 столовой ложке 3 раза в день) Примечание: Кофеина-бензоат натрия ВРД = 0,5, ВСД = 1,5; Кв травы пустырника - 2,0.

Вопрос 1: Проведите оценку качества изготовленного лекарственного препарата;

Вопрос 2: Какие требования предъявляются к оформлению лекарственной формы к отпуску;

1) Анализ документации. Имеющийся рецепт, паспорт письменного контроля и номер лекарственной формы соответствуют. Ингредиенты совместимы, дозы не превышены, расчёты сделаны верно. Объём флакона соответствует объёму лекарственной формы. Флакон укупорен герметично. Этикетка соответствует способу применения. Органолептический контроль. Светло-коричневая жидкость с характерным запахом. Механические включения отсутствуют. Объём лекарственной формы $75 \pm 2,3$ мл, что соответствует нормам допустимых отклонений ($\pm 3\%$) по приказу МЗ РФ № 751н;

2) Флакон укупоривают плотно пластмассовой пробкой с навинчивающейся крышкой. Наклеивают номер рецепта и этикетку. На этикетках для оформления лекарственных препаратов, изготовленных для населения, должно быть указано: а) наименование аптечной организации, ФИО индивидуального предпринимателя, имеющего лицензию на фармацевтическую деятельность; б) местонахождение аптечной организации или место фармацевтической деятельности индивидуального предпринимателя; в) номер рецепта (присваивается в аптеке); г) ФИО пациента; д) «Внутреннее», Микстура»; е) подробное описание способа применения (для микстур: «по ___ ложке ___ раз в день ___ еды»); ж) дата изготовления лекарственного препарата; з) срок годности лекарственного препарата («Годен до ___»); и) цена лекарственного препарата; к) предостережение «Хранить в недоступном для детей месте». Ответы_СЗ_Фармация_2017_191 Для микстур обязательны дополнительные этикетки «Перед употреблением взбалтывать», «Хранить в прохладном и защищённом от света месте». Текст этикеток должен быть напечатан типографским способом на русском языке. Срок хранения - не более 2 суток. Оформление согласно требованиям приказа;

Компетенции: УК-1.1, УК-1.2

12. Примерная тематика НИРС по теме

1. Оптические методы анализа: рефрактометрия. Закон преломления. Применение в фарманализе.
2. Газожидкостная хроматография. Коэффициент распределения, выбор подвижной фазы. Методы определения подлинности и количественного содержания веществ в лекарственной форме.
3. Предложить студентам, подготовить обучающие программы по изучаемой теме.
4. Особенности бумажной хроматографии.

13. Рекомендованная литература по теме занятия

- **дополнительная:**

[Фармацевтическая химия](#) : учебник / ред. Г. В. Раменская. - 3-е изд., (электрон.). - Москва : Лаборатория знаний, 2019. - 470 с. - Текст : электронный.

- **электронные ресурсы:**

Анализ лекарственных препаратов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (<https://docs.google.com/file/d/0ByYcXpTXVG2vWU5XWm4tbVBxVVU/edit>)

Качественный анализ методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (<https://docs.google.com/file/d/0ByYcXpTXVG2vampYR2VnTkQteWs/edit>)

Анализ лекарственных препаратов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии в сочетании с хромато-масс спектрометрией (<https://docs.google.com/file/d/0ByYcXpTXVG2vZjRrQUhfbzFoOFU/edit>)

1. Тема № 17. Хроматография в тонком слое сорбента. Применение метода в фарманализе. (Компетенции: УК-1.3, УК-1.4, ОПК-2.1)

2. Разновидность занятия: дискуссия

3. Методы обучения: объяснительно-иллюстративный

4. Значение темы (актуальность изучаемой проблемы): Фармацевтическая химия занимает центральное место среди других специальных фармацевтических дисциплин – фармакогнозии, фармацевтической технологии, фармакологии, организации и экономики фармации, токсикологической химии и является своеобразным связующим звеном между ними. Задачи, стоящие перед фармацевтической химией, решаются с помощью классических химических, физических и физико-химических методов, которые используются как для синтеза, так и для анализа лекарственных веществ. Разработка нормативно-правовых документов, регламентирующих качество фармацевтической продукции, а также неукоснительное соблюдение и контроль за соответствием качества продукции данным документам является важнейшей задачей фармацевтического анализа и его составной части – фармакопейного анализа. Материал данной темы будет использоваться при изучении других тем фармацевтической химии.

5. Цели обучения

- **обучающийся должен знать** принципы, положенные в основу физико-химических методов анализа лекарственных средств для медицинского применения, биомедицинского клеточного продукта и медицинских изделий, принципы работы автоматизированных аналитических систем, принципы работы автоматизированных аналитических систем, **уметь** приготовить титрованный раствор по навеске и из фиксаля и установление поправочного коэффициента, использовать технику флюорисцентного анализа, определить среднюю массу таблеток, рассчитать отклонения от средней массы, **владеть** техникой ионообменной, бумажной и тонкослойной хроматографии, техникой экспресс-анализа - выполнение капельных реакций

6. Место проведения и оснащение занятия:

- **место проведения занятия:** учебная комната 6-26

- **оснащение занятия:** весы аналитические, весы электронные, влагоанализатор mettler toledo, иономер, набор химических реактивов, набор химической посуды, спектрофотометр unisco, фотоколориметр leki, шкафы вытяжные, штативы лабораторные, электропечь муфельная

7. Структура содержания темы (хронокарта)

Хронокарта

п/п	Этапы практического занятия	Продолжительность (мин.)	Содержание этапа и оснащенность
1	Организация занятия	5.00	Проверка посещаемости и внешнего вида обучающихся
2	Формулировка темы и целей	5.00	Озвучивание преподавателем темы и ее актуальности, целей занятия
3	Контроль исходного уровня знаний и умений	10.00	Тестирование
4	Раскрытие учебно-целевых вопросов по теме занятия	10.00	Инструктаж обучающихся преподавателем
5	Самостоятельная работа обучающихся: а) приготовление эталонных растворов, б) подготовка к ответам на вопросы занятия.	40.00	1) выполнение практического задания, 2) подготовка к ответам на вопросы занятия по учебнику и учебному пособию.
6	Итоговый контроль знаний (письменно или устно)	15.00	Тесты по теме, ситуационные задачи
7	Задание на дом (на следующее занятие)	5.00	Учебно-методические разработки следующего занятия и методические разработки для внеаудиторной работы по теме
	ВСЕГО	90	

8. Аннотация (краткое содержание темы)

Хроматографические методы разделения веществ основаны на их распределении между двумя фазами: подвижной и неподвижной. Подвижная фаза – жидкость или газ; неподвижная – твердое вещество или жидкость, адсорбированная на твердом носителе. Относительная скорость перемещения частиц вдоль пути разделения зависит от их взаимодействия с неподвижной фазой). По принципу протекающих при разделении смеси веществ физико-химических процессов хроматографические методы подразделяют на три основные группы: распределительная, адсорбционная, ионообменная хроматография.

Распределительная хроматография

В распределительной хроматографии (конкурентное распределение компонентов смеси между двумя несмешивающимися растворителями) инертный носитель пропитывают специальным растворителем (неподвижная

фаза) и помещают в колонку (колоночная хроматография, газовая хроматография). Затем в колонку вводят раствор анализируемой смеси и пропускают второй растворитель, не смешивающийся с первым (подвижная фаза; при газовой хроматографии подвижной фазой является газ).

Благодаря различной растворимости компонентов смеси в обеих фазах в соответствии с коэффициентами их распределения в колонке устанавливается равновесие. При непрерывном протекании подвижной фазы наблюдается разделение анализируемой смеси на компоненты и поочередное их вымывание из колонок.

Адсорбционная хроматография

Стационарной фазой в адсорбционной хроматографии (конкурентное распределение компонентов смеси между элюентом и адсорбентом) является адсорбент (активированный уголь, силикагель, окись алюминия и др.). Пропускание подвижной фазы через адсорбент приводит к непрерывным процессам сорбции и десорбции компонентов анализируемой смеси. Разделение их обусловлено различным сродством к адсорбенту.

Ионообменная хроматография

В качестве подвижной фазы в ионообменной хроматографии (обратимый обмен между ионами анализируемого раствора и ионогенными группами носителя) используют ионообменники (иониты), представляющие собой высокомолекулярные вещества природного или синтетического происхождения.

Ионообменники бывают двух типов: аниониты (анионообменники) и катиониты (катионообменники). Аниониты являются высокомолекулярными полизарядными веществами, способными обмениваться анионами с раствором анализируемого электролита. Катиониты же способны обмениваться катионами с раствором анализируемого электролита. Метод применяется главным образом для разделения электролитов и аминокислот.

По способу разделения компонентов анализируемой смеси и аппаратного оснащения различают следующие методики: хроматография на колонке, на бумаге, в тонком слое сорбента, газовая, высокоэффективная жидкостная хроматография и др.

Хроматография на бумаге. Носителем неподвижной фазы (например, воды) служит специальная хроматографическая бумага. Распределение происходит между водой, находящейся на поверхности бумаги, и подвижной фазой, которая представляет собой систему из нескольких растворителей. Испытание выполняют согласно требованиям ГФ XI (в.1, с.98) или ФС (ФСП). Для подтверждения подлинности одновременно хроматографируют испытуемое вещество и стандартный образец. Если они идентичны, то пятна на хроматограммах будут иметь одинаковый вид и равные значения R_f . (R_f - отношение расстояния от стартовой линии до центра пятна на хроматограмме к расстоянию от линии старта до линии финиша.) Чтобы исключить влияние на ошибку определения условий хроматографирования, пользуются более объективной константой R_s , которая представляет собой отношение величин R_f испытуемого и стандартного образцов. Хроматографию используют при испытании на чистоту. О наличии примесей судят по появлению дополнительных пятен на хроматограмме. Анализируемое вещество и примесь обычно имеют разные значения R_f .

Воспроизводимость результатов анализа при хроматографии на бумаге достигается при стандартизации следующих факторов:

- 1) характеристика бумаги для хроматографии;
- 2) конструкция и размер камеры;
- 3) состав неподвижной и подвижной фаз;
- 4) объем наносимой пробы;
- 5) характеристика стандартных веществ;
- 6) способ хроматографирования (восходящий, нисходящий и др.);
- 7) степень насыщения камеры;
- 8) расстояние, пройденное подвижной фазой;
- 9) способ обнаружения веществ.

Количественное содержание вещества можно определить непосредственно на хроматограмме, используя

планиметрический, денситометрический, люминесцентный и другие методы. Используют также способы, основанные на элюировании анализируемого вещества из вырезанного и измельченного участка хроматограммы с соответствующим пятном. В элюате содержание испытуемого вещества определяют фотометрическим или электрохимическим методом.

9. Вопросы по теме занятия

1. В чем сущность хроматографического процесса?

Компетенции: УК-1.4, ОПК-2.1

2. Как классифицируют методы хроматографии по агрегатному состоянию фаз и по методике проведения эксперимента?

Компетенции: УК-1.3, УК-1.4

3. Каким образом проводится детектирование веществ на хроматограмме?

Компетенции: УК-1.3, ОПК-2.1

4. Что такое: а) высота хроматографического пика; б) ширина хроматографического пика; в) общий удерживаемый объем; г) приведенный удерживаемый объем?

Компетенции: УК-1.4, ОПК-2.1

5. Какие достоинства и недостатки газовой адсорбционной и газожидкостной хроматографии?

Компетенции: УК-1.3, УК-1.4

10. Тестовые задания по теме с эталонами ответов

1. ВАРИАНТ, В КОТОРОМ ПРАВИЛЬНО И ПОЛНО ПЕРЕЧИСЛЕННЫ УЗЛЫ ХРОМАТОГРАФА:

- 1) блок подготовки газа, детектор, колонка, термостат, расходомер;
- 2) блок подготовки газа, манометры, детектор, дозатор, колонка, термостаты, расходомер, блок управления, самописец;
- 3) блок подготовки газа, дозатор, трубопроводы, детектор, колонка, атомизатор, термостат, интерфейс, блок управления, самописец;

Правильный ответ: 2

Компетенции: ОПК-2.1

2. ПОКАЗАТЕЛИ, КОТОРЫЕ ИСПОЛЬЗУЮТСЯ ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ ВЕЩЕСТВ В ГАЗОВОЙ ХРОМАТОГРАФИИ:

- 1) площадь пика;
- 2) высота пика;
- 3) индекс Ковача;
- 4) время удерживания;
- 5) удерживаемый объем;

Правильный ответ: 4,5

Компетенции: УК-1.3

3. ВЕЛИЧИНЫ, КОТОРЫЕ ИСПОЛЬЗУЮТСЯ В РАСЧЁТЕ КОНЦЕНТРАЦИИ ВЕЩЕСТВ:

- 1) площадь пика;
- 2) высота пика;
- 3) ток детектора;
- 4) время удерживания;
- 5) удерживаемый объем;

Правильный ответ: 1,2

Компетенции: ОПК-2.1

4. СПОСОБ РАСЧЁТА КОНЦЕНТРАЦИЙ, КОТОРЫЙ ИСПОЛЬЗУЕТСЯ В ГАЗОВОЙ ХРОМАТОГРАФИИ:

- 1) нормировка;
- 2) абсолютная калибровка;
- 3) внутренний стандарт;
- 4) стандартная добавка;
- 5) все перечисленные способы;

Правильный ответ: 1,2,3

Компетенции: УК-1.3

5. СПОСОБ РАСЧЁТА, КОТОРЫЙ ЯВЛЯЕТСЯ НАИБОЛЕЕ ТОЧНЫМ:

- 1) абсолютная калибровка;
- 2) внутренний стандарт;
- 3) нормировка;
- 4) стандартная добавка;

Правильный ответ: 2

Компетенции: ОПК-2.1

11. Ситуационные задачи по теме с эталонами ответов

1. В рецептурно-производственный отдел аптеки поступил рецепт, содержащий следующую пропись: Rp.: Unguenti Zinci 20,0 Resorcini 0,5 Misce. Da. Signa. Наружное. Наносить на поврежденный участок кожи.

Вопрос 1: Какие реакции подлинности можно предложить при анализе данной ЛФ?;

Вопрос 2: Каков ход анализа данной мази?;

1) Цинка оксид - реакция с сульфидом натрия. Резорцин- реакция с диазореактивом;

2) Мази должны быть однородными. Для определения однородности мази берут 4 пробы по 0,02—0,03 г, помещая по 2 пробы на предметное стекло; Накрывают вторым предметным стеклом и плотно прижимают до образования пятен диаметром до 2 см. При рассмотрении полученных пятен невооруженным глазом (на расстоянии около 30 см от глаза) в 3-х из 4-х проб не должно обнаруживаться видимых частиц. Если частицы обнаруживаются в большем числе пятен, определение проводят повторно на 8 пробах. При этом допускается наличие видимых частиц не более чем в двух пятнах. Для мазей однородность устанавливается по отсутствию отдельных крупинок путем растирания мази между ладонями. В мазях, предназначенных для нанесения на слизистые оболочки, однородность определяется при помощи лупы с увеличением в 10 раз.;

Компетенции: УК-1.3, УК-1.4, ОПК-2.1

2. В аптеку обратился мужчина с просьбой изготовить лекарственный препарат по рецепту врача: (Recipe: Infusi herbae Leonuri 70 ml Coffeini- natrii benzoatis 0,1 Natrii bromidi 0,2 Tincturae Valerianae 5 ml Misce. Da. Signa. По 1 столовой ложке 3 раза в день) Примечание: Кофеина-бензоат натрия ВРД = 0,5, ВСД = 1,5; Кв травы пустырника - 2,0.

Вопрос 1: Проведите оценку качества изготовленного лекарственного препарата;

Вопрос 2: Какие требования предъявляются к оформлению лекарственной формы к отпуску;

1) Анализ документации. Имеющийся рецепт, паспорт письменного контроля и номер лекарственной формы соответствуют. Ингредиенты совместимы, дозы не превышены, расчёты сделаны верно. Объём флакона соответствует объёму лекарственной формы. Флакон укупорен герметично. Этикетка соответствует способу применения. Органолептический контроль. Светло-коричневая жидкость с характерным запахом. Механические включения отсутствуют. Объём лекарственной формы $75 \pm 2,3$ мл, что соответствует нормам допустимых отклонений ($\pm 3\%$) по приказу МЗ РФ № 751н;

2) Флакон укупоривают плотно пластмассовой пробкой с навинчивающейся крышкой. Наклеивают номер рецепта и этикетку. На этикетках для оформления лекарственных препаратов, изготовленных для населения, должно быть указано: а) наименование аптечной организации, ФИО индивидуального предпринимателя, имеющего лицензию на фармацевтическую деятельность; б) местонахождение аптечной организации или место фармацевтической деятельности индивидуального предпринимателя; в) номер рецепта (присваивается в аптеке); г) ФИО пациента; д) «Внутреннее», Микстура»; е) подробное описание способа применения (для микстур: «по ___ ложке ___ раз в день ___ еды»); ж) дата изготовления лекарственного препарата; з) срок годности лекарственного препарата («Годен до ___»); и) цена лекарственного препарата; к) предостережение «Хранить в недоступном для детей месте». Ответы_СЗ_Фармация_2017_191 Для микстур обязательны дополнительные этикетки «Перед употреблением взбалтывать», «Хранить в прохладном и защищённом от света месте». Текст этикеток должен быть напечатан типографским способом на русском языке. Срок хранения - не более 2 суток. Оформление согласно требованиям приказа;

Компетенции: УК-1.3, УК-1.4, ОПК-2.1

12. Примерная тематика НИРС по теме

1. Оптические методы анализа: рефрактометрия. Закон преломления. Применение в фарманализе.
2. Газожидкостная хроматография. Коэффициент распределения, выбор подвижной фазы. Методы определения подлинности и количественного содержания веществ в лекарственной форме.
3. Предложить студентам, подготовить обучающие программы по изучаемой теме.
4. Особенности бумажной хроматографии.

13. Рекомендованная литература по теме занятия

- **дополнительная:**

[Фармацевтическая химия](#) : учебник / ред. Г. В. Раменская. - 3-е изд., (электрон.). - Москва : Лаборатория знаний, 2019. - 470 с. - Текст : электронный.

- **электронные ресурсы:**

Анализ лекарственных препаратов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (<https://docs.google.com/file/d/0ByYcXpTXVG2vWU5XWm4tbVBxVVU/edit>)

Качественный анализ методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (<https://docs.google.com/file/d/0ByYcXpTXVG2vampYR2VnTkQteWs/edit>)

Анализ лекарственных препаратов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии в сочетании с хромато-масс спектрометрией (<https://docs.google.com/file/d/0ByYcXpTXVG2vZjRrQUhfbzFoOFU/edit>)

1. Тема № 18. Газожидкостная хроматография. Особенности метода, применение в фармакоанализе. (Компетенции: УК-1.2, УК-1.3, ОПК-2.1)

2. Разновидность занятия: дискуссия

3. Методы обучения: объяснительно-иллюстративный

4. Значение темы (актуальность изучаемой проблемы): Фармацевтическая химия занимает центральное место среди других специальных фармацевтических дисциплин – фармакогнозии, фармацевтической технологии, фармакологии, организации и экономики фармации, токсикологической химии и является своеобразным связующим звеном между ними. Задачи, стоящие перед фармацевтической химией, решаются с помощью классических химических, физических и физико-химических методов, которые используются как для синтеза, так и для анализа лекарственных веществ. Разработка нормативно-правовых документов, регламентирующих качество фармацевтической продукции, а также неукоснительное соблюдение и контроль за соответствием качества продукции данным документам является важнейшей задачей фармацевтического анализа и его составной части – фармакопейного анализа. Материал данной темы будет использоваться при изучении других тем фармацевтической химии.

5. Цели обучения

- **обучающийся должен знать** оборудование и реактивы для проведения физико-химического анализа лекарственных веществ для медицинского применения, биомедицинского клеточного продукта и медицинских изделий, принципы работы автоматизированных аналитических систем, методы, приемы и способы выполнения химического и физико-химического анализа, **уметь** приготовить титрованный раствор по навеске и из фиксанала и установление поправочного коэффициента, использовать технику флюорисцентного анализа, определить среднюю массу таблеток, рассчитать отклонения от средней массы, **владеть** техникой экспресс-анализа - выполнение капельных реакций, техникой микрокристаллоскопического анализа

6. Место проведения и оснащение занятия:

- **место проведения занятия:** учебная комната 6-26

- **оснащение занятия:** весы аналитические, весы электронные, влагоанализатор mettler toledo, иономер, набор химических реактивов, набор химической посуды, спектрофотометр unisco, фотоколориметр leki, шкафы вытяжные, штативы лабораторные, электропечь муфельная

7. Структура содержания темы (хронокарта)

Хронокарта

п/п	Этапы практического занятия	Продолжительность (мин.)	Содержание этапа и оснащенность
1	Организация занятия	5.00	Проверка посещаемости и внешнего вида обучающихся
2	Формулировка темы и целей	5.00	Озвучивание преподавателем темы и ее актуальности, целей занятия
3	Контроль исходного уровня знаний и умений	10.00	Тестирование
4	Раскрытие учебно-целевых вопросов по теме занятия	10.00	Инструктаж обучающихся преподавателем
5	Самостоятельная работа обучающихся: а) приготовление эталонных растворов, б) подготовка к ответам на вопросы занятия.	40.00	1) выполнение практического задания, 2) подготовка к ответам на вопросы занятия по учебнику и учебному пособию.
6	Итоговый контроль знаний (письменно или устно)	15.00	Ситуационные задачи
7	Задание на дом (на следующее занятие)	5.00	Учебно-методические разработки следующего занятия и методические разработки для внеаудиторной работы по теме
	ВСЕГО	90	

8. Аннотация (краткое содержание темы)

Газожидкостная хроматография (ГЖХ) основана на распределении компонентов смеси между газовой и жидкой фазами. Распределение происходит в результате многократных актов сорбции и десорбции анализируемых веществ, которые вводятся в поток газа-носителя, испаряются и в парообразном состоянии проходят через колонку с сорбентом. Поэтому метод ГЖХ применим для анализа летучих веществ или веществ, которые могут быть переведены в газообразное состояние. Разделенные вещества элюируются из колонки потоком газа-носителя, регистрируются детектором и фиксируются на хроматограмме в виде пиков, по которым можно идентифицировать или определять содержание каждого компонента смеси.

Газовый хроматограф включает в себя систему измерения и регулирования скорости потока газа-носителя, систему ввода пробы испытуемого образца, газохроматографическую колонку, систему термостатирования и контроля

температуры в различных узлах прибора и систему детектирования, регистрации и обработки информации, полученной на приборе.

Подлинность лекарственных веществ (ЛВ) методом ГЖХ можно подтвердить либо с помощью свидетелей, либо методом относительных удерживаний. В первом случае доказательством идентичности служит совпадение времени удерживания вещества-свидетеля и одного из компонентов смеси ЛВ при хроматографировании каждого в отдельности в одинаковых условиях. Во втором случае вещество-свидетель добавляют к пробе, затем анализируют по рекомендуемой методике. Рассчитывают по формуле величину относительного удерживания, которая является постоянной для ЛВ в конкретных условиях. Количественный анализ выполняют в тех же условиях, используя для расчетов такие параметры, как площадь или высота пиков ЛВ. Площадь пиков устанавливают на хроматограмме с помощью планиметра, интегратора или умножением высоты пика на его полуширину.

К стерильным растворам аптечного изготовления относятся: растворы для инъекций и инфузий, глазные капли, офтальмологические растворы для орошений, все растворы для новорожденных детей, растворы для наружного применения (растворы для лечения ожоговых поверхностей и открытых ран и др.).

Особые требования к изготовлению и контролю качества стерильных растворов (пр. № 214)

1. Изготовление и контроль качества стерильных растворов в аптеках осуществляется в соответствии с требованиями действующих Государственной Фармакопеи, «Методических указаний по изготовлению стерильных растворов в аптеках», действующих нормативных документов, приказов, инструкций.
2. Результаты постадийного контроля изготовления растворов для инъекций и инфузий регистрируются в журнале.
3. Изготовление стерильных растворов запрещается при отсутствии данных о химической совместимости входящих в них лекарственных веществ, технологии и режиме стерилизации, а также при отсутствии методик анализа для их полного химического контроля.
4. Подготовка вспомогательных, укупорочных материалов, посуды, средств малой механизации должна осуществляться в соответствии с требованиями действующих нормативных документов, приказов.
5. Категорически запрещается одновременное изготовление на одном рабочем месте нескольких стерильных растворов, содержащих лекарственные вещества с различными наименованиями или одного наименования, но в разных концентрациях.
6. Вода очищенная, вода для инъекций, лекарственные вещества, стабилизаторы, буферные растворы, применяемые при изготовлении стерильных растворов и глазных капель должны соответствовать требованиям действующих Государственной фармакопеи и нормативных документов.
7. Каждая серия лекарственных форм, требующих стерилизации, после расфасовки в количестве не менее пяти флаконов (бутылок) подвергается физическому контролю.
8. До стерилизации обязательному полному химическому контролю (качественному и количественному) подвергаются все стерильные лекарственные формы для инъекций, инфузий, растворы для орошений и лечения ожоговых поверхностей, открытых ран, для новорожденных детей, глазные капли, мази, включая определение величины рН, изотонирующих и стабилизирующих веществ.
9. После стерилизации проверяются растворы (один флакон от каждой серии) на величину рН, подлинность и количественное содержание действующих веществ.

Стабилизаторы в этих растворах после стерилизации проверяются в случаях, предусмотренных действующими нормативными документами.

10. Инъекционные, офтальмологические растворы и глазные капли, изготовленные в аптеках, должны

выдерживать испытание на отсутствие механических включений (Приложение № 8, Приказ № 214).

Под механическими включениями подразумеваются посторонние подвижные нерастворимые вещества, кроме пузырьков газа, случайно присутствующие в растворах.

В процессе изготовления растворы подвергаются первичному и вторичному контролю.

Первичный контроль осуществляется после фильтрования и расфасовки раствора. При этом просматривается каждая бутылка или флакон с раствором. При обнаружении механических включений раствор повторно фильтруют, вновь просматривают, укупоривают, маркируют и стерилизуют. Растворы, изготовленные асептически, просматривают один раз после разлива или стерилизующего фильтрования.

Вторичному контролю подлежат также 100 % бутылок и флаконов с растворами, прошедших стадию стерилизации перед их оформлением и упаковкой.

Контроль растворов на отсутствие механических включений осуществляется провизором-технологом на специально оборудованном рабочем месте, защищенном от попадания прямых солнечных лучей, где устанавливается «Устройство для контроля растворов на отсутствие механических загрязнений».

11. Обязательное соблюдение сроков годности и условий хранения лекарственных средств, изготовленных в аптеках (Приложение № 8, Приказ № 214).

Стерильные растворы необходимо хранить во флаконах и бутылках, герметично укупоренных резиновыми пробками под обкатку, в защищенном от света месте. Срок годности в сутках при температуре не выше 25 °С определен в зависимости от вида и состава лекарственного препарата. Согласно инструкции срок хранения для большинства препаратов составляет 30 суток, однако, есть препараты, у которых иные сроки хранения.

9. Вопросы по теме занятия

1. В чем сущность хроматографического процесса?

Компетенции: УК-1.3, ОПК-2.1

2. Как классифицируют методы хроматографии по агрегатному состоянию фаз и по методике проведения эксперимента?

Компетенции: УК-1.3, ОПК-2.1

3. Каким образом проводится детектирование веществ на хроматограмме?

Компетенции: УК-1.2, ОПК-2.1

4. Что такое: а) высота хроматографического пика; б) ширина хроматографического пика; в) общий удерживаемый объем; г) приведенный удерживаемый объем?

Компетенции: УК-1.3, ОПК-2.1

5. Какие достоинства и недостатки газовой адсорбционной и газожидкостной хроматографии?

Компетенции: УК-1.2, УК-1.3

10. Тестовые задания по теме с эталонами ответов

1. ПРИ РАСЧЁТАХ КОЛИЧЕСТВЕННОГО СОДЕРЖАНИЯ ВЫСОТА ПИКОВ ИСПОЛЬЗУЕТСЯ:

- 1) в способе абсолютной калибровки;
- 2) в способе стандартной добавки;
- 3) при наличии узких симметричных пиков;
- 4) при широких асимметричных пиках;

Правильный ответ: 3

Компетенции: ОПК-2.1

2. ПРАВИЛЬНАЯ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ ВЫХОДА ИЗ КОЛОНКИ С НЕПОЛЯРНОЙ ПОДВИЖНОЙ ФАЗОЙ РЯДА ВЕЩЕСТВ:

- 1) этанол, ацетон, хлороформ, бензол;
- 2) бензол, хлороформ, ацетон, этанол;
- 3) этанол, бензол, ацетон, хлороформ;

Правильный ответ: 3

Компетенции: ОПК-2.1

3. КАПИЛЛЯРНАЯ ГАЗОВАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ ПО АГРЕГАТНОМУ СОСТОЯНИЮ ФАЗ ЯВЛЯЕТСЯ:

- 1) газо-жидкостной;
- 2) газо-адсорбционной;
- 3) жидкостной;
- 4) газовой;

Правильный ответ: 1

Компетенции: УК-1.3

4. СОРБЕНТ, КОТОРЫЙ ЯВЛЯЕТСЯ СОВЕРШЕННО НЕПОЛЯРНЫМ:

- 1) силикагель;
- 2) окись алюминия;
- 3) полиамид;
- 4) уголь активированный;

Правильный ответ: 4

Компетенции: УК-1.3

5. ТРЕБОВАНИЕ К ЖИДКОЙ НЕПОДВИЖНОЙ ФАЗЕ В ГЖХ, КОТОРЫЙ ЯВЛЯЕТСЯ РЕАЛЬНО НЕОБХОДИМЫМ:

- 1) быть селективной к разделяемым веществам;
- 2) быть полярной;
- 3) быть неполярной;
- 4) быть термически устойчивой;

Правильный ответ: 1,4

Компетенции: ОПК-2.1

11. Ситуационные задачи по теме с эталонами ответов

1. В аптеку обратился мужчина с просьбой изготовить лекарственный препарат по рецепту врача: (Rp.: Infusi radices Althaeae 180 ml Natrii benzoatis 4,0 Misce. Da. Signa. По 1 столовой ложке 3 раза в день. Примечание: КУО натрия бензоата = 0,6 мл/г; допустимые отклонения для объема от 150 до 200 мл = 3%.

Вопрос 1: Как оформить лекарственный препарат к отпуску;

Вопрос 2: Проведите оценку качества изготовленного лекарственного препарата;

- 1) Флакон оранжевого стекла укупоривают плотно пластмассовой пробкой с навинчивающейся крышкой. Наклеивают отдельный рецептурный номер и этикетку. На этикетках для оформления лекарственных препаратов, изготовленных для населения, должно быть указано: а) наименование аптечной организации, ФИО индивидуального предпринимателя, имеющего лицензию на фармацевтическую деятельность; б) местонахождение аптечной организации или место фармацевтической деятельности индивидуального предпринимателя; в) номер рецепта (присваивается в аптеке); г) ФИО пациента; д) наименование или состав лекарственного препарата; е) способ применения лекарственного препарата («Внутреннее»), вид лекарственной формы («Микстура»); ж) подробное описание способа применения (для микстур: «по ___ ложке ___ раз в день ___ еды»); з) дата изготовления лекарственного препарата; и) срок годности лекарственного препарата («Годен до ___»); к) цена лекарственного препарата; л) предостережение «Хранить в недоступном для детей месте». Для микстур обязательны дополнительные этикетки «Перед употреблением взбалтывать», «Хранить в прохладном и защищенном от света месте». Текст этикеток должен быть напечатан типографским способом на русском языке. Состав лекарственного препарата пишется от руки или наносится штампом. Срок хранения - не более 2 суток. Оформление согласно требованиям приказа № 751н от 26.10.2015;
- 2) Анализ документации. Имеющийся рецепт, паспорт письменного контроля и номер лекарственной формы соответствуют. Ингредиенты совместимы, расчёты сделаны верно. Правильность упаковки и оформления. Объем флакона оранжевого стекла соответствует объему лекарственной формы, пробка нужного качества обеспечивает герметичность укупорки. Органолептический контроль. Молочно-белая жидкость со слабым запахом. Объем лекарственной формы $180 \pm 3,6$ мл, что соответствует нормам допустимых отклонений ($\pm 2\%$) по приказу МЗ РФ № 751н;

Компетенции: УК-1.2, УК-1.3, ОПК-2.1

2. В аптеку обратился мужчина с просьбой изготовить лекарственный препарат по рецепту врача: (Rp.: Solutionis Furacilini 1:5000 - 200 ml Da. Signa. Полоскание.)

Вопрос 1: Проведите оценку качества изготовленного лекарственного препарата;

Вопрос 2: Как проводятся испытания на отсутствие механических включений?;

- 1) Анализ документации. Имеющийся рецепт, паспорт письменного контроля и номер лекарственной формы соответствуют, расчёты сделаны верно, ППК выписан верно. Правильность упаковки и оформления. Объем флакона оранжевого стекла соответствует объему лекарственной формы. Раствор укупорен плотно. Органолептический контроль. Прозрачный желтый раствор, без запаха горького вкуса. Механические включения отсутствуют. Объем раствора 200 ± 2 мл, что соответствует нормам допустимых отклонений ($\pm 1\%$) по приказу МЗ РФ № 751н;
- 2) Смотрят флакон с ЛП при дневном отраженном свете на черном фоне;

Компетенции: УК-1.2, УК-1.3, ОПК-2.1

12. Примерная тематика НИРС по теме

1. Газожидкостная хроматография. Коэффициент распределения, выбор подвижной фазы. Методы определения подлинности и количественного содержания веществ в лекарственной форме.

2. Сущность тонкослойной хроматографии (ТСХ). Проведение качественного и количественного анализа методом ТСХ.

3. Достоинства и недостатки газовой адсорбционной и газожидкостной хроматографии

4. Практическое значение газовой хроматографии

13. Рекомендованная литература по теме занятия

- **дополнительная:**

[Фармацевтическая химия](#) : учебник / ред. Г. В. Раменская. - 3-е изд., (электрон.). - Москва : Лаборатория знаний, 2019. - 470 с. - Текст : электронный.

- **электронные ресурсы:**

Анализ лекарственных препаратов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (<https://docs.google.com/file/d/0ByYcXpTXVG2vWU5XWm4tbVBxVVU/edit>)

Качественный анализ методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (<https://docs.google.com/file/d/0ByYcXpTXVG2vampYR2VnTkQteWs/edit>)

Анализ лекарственных препаратов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии в сочетании с хромато-масс спектрометрией (<https://docs.google.com/file/d/0ByYcXpTXVG2vZjRrQUhfbzFoOFU/edit>)

1. Тема № 19. Высокоэффективная жидкостная хроматография. Особенности метода, применение в фармакологии. (Компетенции: УК-1.3, УК-1.4)

2. Разновидность занятия: дискуссия

3. Методы обучения: объяснительно-иллюстративный

4. Значение темы (актуальность изучаемой проблемы): Фармацевтическая химия занимает центральное место среди других специальных фармацевтических дисциплин - фармакогнозии, фармацевтической технологии, фармакологии, организации и экономики фармации, токсикологической химии и является своеобразным связующим звеном между ними. Задачи, стоящие перед фармацевтической химией, решаются с помощью классических химических, физических и физико-химических методов, которые используются как для синтеза, так и для анализа лекарственных веществ. Разработка нормативно-правовых документов, регламентирующих качество фармацевтической продукции, а также неукоснительное соблюдение и контроль за соответствием качества продукции данным документам является важнейшей задачей фармацевтического анализа и его составной части - фармакопейного анализа. Материал данной темы будет использоваться при изучении других тем фармацевтической химии.

5. Цели обучения

- **обучающийся должен знать** методы, приемы и способы выполнения химического и физико-химического анализа, методы, приемы и способы выполнения химического и физико-химического анализа для установления качественного состава и количественного определения, методы, приемы и способы выполнения химического и физико-химического анализа, **уметь** определять показатель преломления на рефрактометре, расчет концентрации с использованием метода интерполяции, определять рН среды потенциометрически на иономере, приготовить титрованный раствор по навеске и из фиксаля и установление поправочного коэффициента, **владеть** техникой работы на фотоэлектроколориметре: определение концентрации, определение удельного показателя поглощения, техникой экспресс-анализа - выполнение капельных реакций, техникой микрокристаллокопического анализа

6. Место проведения и оснащение занятия:

- **место проведения занятия:** учебная комната 6-26

- **оснащение занятия:** весы аналитические, весы электронные, влагоанализатор mettler toledo, иономер, набор химических реактивов, набор химической посуды, спектрофотометр unisco, фотоколориметр leki, шкафы вытяжные, штативы лабораторные, электропечь муфельная

7. Структура содержания темы (хронокарта)

Хронокарта

п/п	Этапы практического занятия	Продолжительность (мин.)	Содержание этапа и оснащенность
1	Организация занятия	5.00	Проверка посещаемости и внешнего вида обучающихся
2	Формулировка темы и целей	5.00	Озвучивание преподавателем темы и ее актуальности, целей занятия
3	Контроль исходного уровня знаний и умений	10.00	Тестирование
4	Раскрытие учебно-целевых вопросов по теме занятия	10.00	Инструктаж обучающихся преподавателем
5	Самостоятельная работа обучающихся: а) приготовление эталонных растворов, б) подготовка к ответам на вопросы занятия.	40.00	1) выполнение практического задания, 2) подготовка к ответам на вопросы занятия по учебнику и учебному пособию.
6	Итоговый контроль знаний (письменно или устно)	15.00	Ситуационные задачи
7	Задание на дом (на следующее занятие)	5.00	Учебно-методические разработки следующего занятия и методические разработки для внеаудиторной работы по теме
	ВСЕГО	90	

8. Аннотация (краткое содержание темы)

Высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) отличается от ГЖХ тем, что подвижной фазой служит не газ, а жидкость, причем она проходит через колонку, наполненную сорбентом, с большой скоростью за счет значительного давления. Поэтому ВЭЖХ позволяет разделять многокомпонентные смеси на индивидуальные вещества высокой степени чистоты. **ВЭЖХ** отличается высокой чувствительностью (до 10⁻⁶ Г). На разделение 10 - 15 компонентов затрачивается 20-30 мин.

Жидкостный хроматограф включает такие узлы, как дозатор, насос высокого давления, высокоэффективная колонка, детектор с регистрирующим устройством. Колонки изготавливают из нержавеющей стали, они имеют длину 10 - 25 см. внутренний диаметр 0,3~0,8 см и плотно набиваются адсорбентом с размером частиц 5 - 10 мкм. В

качестве элюента используют различные углеводороды в сочетании с этанолом. Детектором обычно служит спектрофотометр с переменной длиной волны (190 - 900 нм), но существуют также флуориметрические, электрохимические и другие детекторы.

Подлинность испытуемых ЛВ подтверждают по времени выхода каждого компонента смеси из колонки, которое будет стабильно при одинаковых условиях проведения эксперимента. Количественное содержание рассчитывается по площади пика, которая пропорциональна количеству ЛВ в пробе.

9. Вопросы по теме занятия

1. В чем сущность хроматографического процесса?

Компетенции: УК-1.3, УК-1.4

2. Как классифицируют методы хроматографии по агрегатному состоянию фаз и по методике проведения эксперимента?

Компетенции: УК-1.3, УК-1.4

3. Каким образом проводится детектирование веществ на хроматограмме?

Компетенции: УК-1.3, УК-1.4

4. Какие достоинства и недостатки газовой адсорбционной и газожидкостной хроматографии?

Компетенции: УК-1.3, УК-1.4

5. Что такое: а) высота хроматографического пика; б) ширина хроматографического пика; в) общий удерживаемый объем; г) приведенный удерживаемый объем?

Компетенции: УК-1.3, УК-1.4

10. Тестовые задания по теме с эталонами ответов

1. ВАРИАНТ, В КОТОРОМ ПРАВИЛЬНО И ПОЛНО ПЕРЕЧИСЛЕННЫ УЗЛЫ ХРОМАТОГРАФА:

- 1) блок подготовки газа, детектор, колонка, термостат, расходомер;
- 2) блок подготовки газа, манометры, детектор, дозатор, колонка, термостаты, расходомер, блок управления, самописец;
- 3) блок подготовки газа, дозатор, трубопроводы, детектор, колонка, атомизатор, термостат, интерфейс, блок управления, самописец;

Правильный ответ: 1

Компетенции: УК-1.4

2. ПОКАЗАТЕЛИ, КОТОРЫЕ ИСПОЛЬЗУЮТСЯ ДЛЯ ИДЕНТИФИКАЦИИ ВЕЩЕСТВ В ГАЗОВОЙ ХРОМАТОГРАФИИ:

- 1) площадь пика;
- 2) высота пика;
- 3) индекс Ковача;
- 4) время удерживания;
- 5) удерживаемый объем;

Правильный ответ: 4,5

Компетенции: УК-1.4

3. ВЕЛИЧИНЫ, КОТОРЫЕ ИСПОЛЬЗУЮТСЯ В РАСЧЁТЕ КОНЦЕНТРАЦИИ ВЕЩЕСТВ:

- 1) площадь пика;
- 2) высота пика;
- 3) ток детектора;
- 4) время удерживания;
- 5) удерживаемый объем;

Правильный ответ: 1,2

Компетенции: УК-1.4

4. СПОСОБ РАСЧЁТА КОНЦЕНТРАЦИЙ, КОТОРЫЙ ИСПОЛЬЗУЕТСЯ В ГАЗОВОЙ ХРОМАТОГРАФИИ:

- 1) нормировка;
- 2) абсолютная калибровка;
- 3) внутренний стандарт;
- 4) стандартная добавка;
- 5) все перечисленные способы;

Правильный ответ: 5

Компетенции: УК-1.3

5. СПОСОБ РАСЧЁТА, КОТОРЫЙ ЯВЛЯЕТСЯ НАИБОЛЕЕ ТОЧНЫМ:

- 1) абсолютная калибровка;
- 2) внутренний стандарт;
- 3) нормировка;
- 4) стандартная добавка;

Правильный ответ: 1
Компетенции: УК-1.4

11. Ситуационные задачи по теме с эталонами ответов

1. В аптеку обратился пациент с рецептом, выписанным на рецептурном бланке формы №107-1/у, следующего состава: Rp.: Ephedrini hydrochloridi 0,6 Sol. Procaini (Novocaini) 1%-100 ml Dimedroli 1,0 Acidi ascorbinici 2,0 Misce. Da. Signa: по 10 мл на ингаляцию.

Вопрос 1: Каким свойством обладает эфедрин гидрохлорид как ароматическое соединение?;

Вопрос 2: Подвергается ли гидролизу эфедрин гидрохлорид и как это используется в фармакологии?;

1) Наиболее характерным свойством ароматических соединений является их способность к электрофильному замещению. Заместители оказывают значительное влияние на реакционную способность бензольного ядра. Электронодонорные заместители увеличивают скорость электрофильного замещения;

2) В результате гидролиза образуются продукты, которые могут быть легко охарактеризованы по особенностям химического строения. Это имеет важное значение для характеристики качества ЛС. Следует подчеркнуть, что гидролитическое разложение легче происходит в кислой среде;

Компетенции: УК-1.3, УК-1.4

2. Студенту, проходящему производственную практику в аптеке города N, было предложено изготовить препарат по прописи: Возьми: Ментола 0,3 Эфедрин гидрохлорида 0,05 Ланолина 5,0 Вазелина 10,0 Смешай, пусть будет сделана мазь. Дай. Обозначь. Мазь для носа.

Вопрос 1: К какой группе биологически активных веществ (БАВ) относится эфедрин?;

Вопрос 2: Какой ход анализа данной мази?;

1) Относится к группе алкалоидов с атомом азота в боковой цепи;

2) Доброкачественность мазей устанавливается путем их качественного и количественного анализа. Мазевые основы, за немногим исключением (глицерино-крахмальные и пр.), более или менее легко растворяются в органических растворителях. Характер прибавленных веществ может быть очень разнообразен. Соединения тяжелых металлов, нерастворимые в мазевых основах и в воде, но растворимые в разведенных кислотах (окись цинка, ртуть амидохлорная, основной нит-висмута и т. д.). Нерастворимые в воде, в мазевых основах и в кислотах (каолин, тальк и др.). Нерастворимые в мазевых основах, но растворимые в воде (ихтиол, борная кислота, йодид калия и др.). Растворимые в мазевых основах и спирте, но не растворимые в воде ментол, камфора и др.). Нерастворимые в воде, в мазевых основах и кислотах веществ можно обнаружить качественно и определить качественно, извлекая мазевые основы органическими растворителями. Вещества, нерастворимые в мазевых основах и в воде растворимые в кислотах, для качественных испытаний отделяют органическими растворителями, извлекая яммазевую основу. Для количественного определения можно пользоваться разведенными кислотами. Навеску и обрабатывают разведенной кислотой при нагревании в водяной бане, при этом жировое вещество расплавляется и всплывает на поверхность кислой жидкости, в которой растворяются составные части мази. Кислую жидкость после охлаждения отделяют и исследуют. Нерастворимые в мазевых основах, но растворимые в веществах извлекают многократно горячей водой. Вещества, растворимые в мазевых основах и в воде, также можно извлекать водой; летучие с водяным паром, например, фенол или хлоралгидрат, можно, кроме того, отгонять с водяным паром и определять в отгоне. Растворимые в мазевых основах, но не растворимые в воде вещества можно, если они не летучи с водяным паром, отгонять и определять в отгоне или извлекать слабым спиртом. При анализе мазей, содержащих твердое вещество обращают внимание на степень измельчения, т. к. более мелкое распределение твердого вещества повышает его действие. Если твердая фаза примешена к мази в виде крупного порошка, то при намазывании и особенно при растирании ощущается присутствие грубого порошка, который может вызвать раздражение, а иногда и механическое повреждение кожи. Особенно это недопустимо для мазей, предназначенных для глаз или раневых поверхностей;

Компетенции: УК-1.3, УК-1.4

12. Примерная тематика НИРС по теме

1. Оптические методы анализа: рефрактометрия. Закон преломления. Применение в фармакологии.

2. Газожидкостная хроматография. Коэффициент распределения, выбор подвижной фазы. Методы определения подлинности и количественного содержания веществ в лекарственной форме.

3. Предложить студентам, подготовить обучающие программы по изучаемой теме.

4. Достоинства и недостатки газовой адсорбционной и газожидкостной хроматографии

13. Рекомендованная литература по теме занятия

- дополнительная:

[Фармацевтическая химия](#) : учебник / ред. Г. В. Раменская. - 3-е изд., (электрон.). - Москва : Лаборатория знаний, 2019. - 470 с. - Текст : электронный.

- электронные ресурсы:

Анализ лекарственных препаратов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (<https://docs.google.com/file/d/0ByYcXpTXVG2vWU5XWm4tbVBxVVU/edit>)

Качественный анализ методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (<https://docs.google.com/file/d/0ByYcXpTXVG2vampYR2VnTkQteWs/edit>)

Анализ лекарственных препаратов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии в сочетании с хромато-

масс спектрометрией (<https://docs.google.com/file/d/0ByYcXpTXVG2vZjRrQUhfbzFoOFU/edit>)

1. Тема № 20. Хроматографические методы анализа лекарственных средств. Коллоквиум № 3. (Компетенции: УК-1.1, УК-1.2, ОПК-2.1)

2. Разновидность занятия: дискуссия

3. Методы обучения: объяснительно-иллюстративный

4. Значение темы (актуальность изучаемой проблемы): Фармацевтическая химия занимает центральное место среди других специальных фармацевтических дисциплин – фармакогнозии, фармацевтической технологии, фармакологии, организации и экономики фармации, токсикологической химии и является своеобразным связующим звеном между ними. Задачи, стоящие перед фармацевтической химией, решаются с помощью классических химических, физических и физико-химических методов, которые используются как для синтеза, так и для анализа лекарственных веществ. Разработка нормативно-правовых документов, регламентирующих качество фармацевтической продукции, а также неукоснительное соблюдение и контроль за соответствием качества продукции данным документам является важнейшей задачей фармацевтического анализа и его составной части – фармакопейного анализа. Материал данной темы будет использоваться при изучении других тем фармацевтической химии.

5. Цели обучения

- **обучающийся должен знать** методы, приемы и способы выполнения химического и физико-химического анализа, методы, приемы и способы выполнения химического и физико-химического анализа для установления качественного состава и количественного определения, методы, приемы и способы выполнения химического и физико-химического анализа, **уметь** определять показатель преломления на рефрактометре, расчет концентрации с использованием метода интерполяции, определять рН среды потенциометрически на иономере, приготовить титрованный раствор по навеске и из фиксанала и установление поправочного коэффициента, использовать технику флюорисцентного анализа, **владеть** техникой экспресс-анализа - выполнение капельных реакций, техникой микрокристаллоскопического анализа

6. Место проведения и оснащение занятия:

- **место проведения занятия:** учебная комната 6-26

- **оснащение занятия:** весы аналитические, весы электронные, влагоанализатор mettler toledo, иономер, набор химических реактивов, набор химической посуды, спектрофотометр uniso, фотоколориметр leki, шкафы вытяжные, штативы лабораторные, электропечь муфельная

7. Структура содержания темы (хронокарта)

Хронокарта

п/п	Этапы практического занятия	Продолжительность (мин.)	Содержание этапа и оснащенность
1	Организация занятия	5.00	Проверка посещаемости и внешнего вида обучающихся
2	Формулировка темы и целей	5.00	Озвучивание преподавателем темы и ее актуальности, целей занятия
3	Контроль исходного уровня знаний и умений	10.00	Тестирование
4	Раскрытие учебно-целевых вопросов по теме занятия	10.00	Инструктаж обучающихся преподавателем
5	Самостоятельная работа обучающихся: а) приготовление эталонных растворов, б) подготовка к ответам на вопросы занятия	40.00	1) выполнение практического задания, 2) подготовка к ответам на вопросы занятия по учебнику и учебному пособию.
6	Итоговый контроль знаний (письменно или устно)	15.00	Ситуационные задачи
7	Задание на дом (на следующее занятие)	5.00	Учебно-методические разработки следующего занятия и методические разработки для внеаудиторной работы по теме
	ВСЕГО	90	

8. Аннотация (краткое содержание темы)

Хроматографические методы разделения веществ основаны на их распределении между двумя фазами: подвижной и неподвижной. Подвижная фаза – жидкость или газ; неподвижная – твердое вещество или жидкость, адсорбированная на твердом носителе. Относительная скорость перемещения частиц вдоль пути разделения зависит от их взаимодействия с неподвижной фазой). По принципу протекающих при разделении смеси веществ физико-химических процессов хроматографические методы подразделяют на три основные группы: распределительная, адсорбционная, ионообменная хроматография.

Распределительная хроматография

В распределительной хроматографии (конкурентное распределение компонентов смеси между двумя

несмешивающимися растворителями) инертный носитель пропитывают специальным растворителем (неподвижная фаза) и помещают в колонку (колоночная хроматография, газовая хроматография). Затем в колонку вводят раствор анализируемой смеси и пропускают второй растворитель, не смешивающийся с первым (подвижная фаза; при газовой хроматографии подвижной фазой является газ).

Благодаря различной растворимости компонентов смеси в обеих фазах в соответствии с коэффициентами их распределения в колонке устанавливается равновесие. При непрерывном протекании подвижной фазы наблюдается разделение анализируемой смеси на компоненты и поочередное их вымывание из колонок.

Адсорбционная хроматография

Стационарной фазой в адсорбционной хроматографии (конкурентное распределение компонентов смеси между элюентом и адсорбентом) является адсорбент (активированный уголь, силикагель, окись алюминия и др.). Пропускание подвижной фазы через адсорбент приводит к непрерывным процессам сорбции и десорбции компонентов анализируемой смеси. Разделение их обусловлено различным сродством к адсорбенту.

Ионообменная хроматография

В качестве подвижной фазы в ионообменной хроматографии (обратимый обмен между ионами анализируемого раствора и ионогенными группами носителя) используют ионообменники (иониты), представляющие собой высокомолекулярные вещества природного или синтетического происхождения.

Ионообменники бывают двух типов: аниониты (анионообменники) и катиониты (катионообменники). Аниониты являются высокомолекулярными полизарядными веществами, способными обмениваться анионами с раствором анализируемого электролита. Катиониты же способны обмениваться катионами с раствором анализируемого электролита. Метод применяется главным образом для разделения электролитов и аминокислот.

По способу разделения компонентов анализируемой смеси и аппаратного оснащения различают следующие методики: хроматография на колонке, на бумаге, в тонком слое сорбента, газовая, высокоэффективная жидкостная хроматография и др.

9. Вопросы по теме занятия

1. В чем сущность хроматографического процесса?

Компетенции: УК-1.2, ОПК-2.1

2. Как классифицируют методы хроматографии по агрегатному состоянию фаз и по методике проведения эксперимента?

Компетенции: УК-1.2, ОПК-2.1

3. Каким образом проводится детектирование веществ на хроматограмме?

Компетенции: УК-1.1, ОПК-2.1

4. Что такое: а) высота хроматографического пика; б) ширина хроматографического пика; в) общий удерживаемый объем; г) приведенный удерживаемый объем?

Компетенции: УК-1.2, ОПК-2.1

5. Какие достоинства и недостатки газовой адсорбционной и газо-жидкостной хроматографии?

Компетенции: УК-1.1, УК-1.2

10. Тестовые задания по теме с эталонами ответов

1. ДЕТЕКТОР, КОТОРЫЙ НЕ ЯВЛЯЕТСЯ ДЕТЕКТОРОМ ОБЩЕГО НАЗНАЧЕНИЯ:

- 1) катарометр;
- 2) термоионный;
- 3) пламенно-ионизационный;
- 4) аргонный;

Правильный ответ: 1

Компетенции: ОПК-2.1

2. СВЯЗЫВАЮЩИЕ ВЕЩЕСТВА, КОТОРЫЙ ИСПОЛЬЗУЮТСЯ ДЛЯ ИЗГОТОВЛЕНИЯ ПЛАСТИН С ЗАКРЕПЛЕННЫМ СЛОЕМ В ОБЫЧНЫХ ЛАБОРАТОРНЫХ УСЛОВИЯХ:

- 1) клей ПВА;
- 2) эпоксидная смола;
- 3) натрия силикат;
- 4) крахмал;
- 5) гипс;

Правильный ответ: 4

Компетенции: ОПК-2.1

3. СДЕРЖИВАЮЩИМ ФАКТОРОМ ДЛЯ ШИРОКОГО ВНЕДРЕНИЯ В ПРАКТИКУ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА В НАШЕЙ СТРАНЕ МЕТОДА ВЭЖХ ЯВЛЯЕТСЯ:

- 1) трудность подбора подходящей подвижной фазы;
- 2) нестабильность показаний хроматографа;
- 3) высокая цена хроматографа;
- 4) низкая чувствительность метода;
- 5) нелинейность отклика большинства используемых детекторов;

Правильный ответ: 2

Компетенции: УК-1.2

4. ТРЕБОВАНИЕ К ЖИДКОЙ НЕПОДВИЖНОЙ ФАЗЕ В ГЖХ, КОТОРОЕ ЯВЛЯЕТСЯ РЕАЛЬНО НЕОБХОДИМЫМ:

- 1) быть селективной к разделяемым веществам;
- 2) быть полярной;
- 3) быть неполярной;
- 4) быть термически устойчивой;

Правильный ответ: 3

Компетенции: ОПК-2.1

5. СОРБЕНТ, КОТОРЫЙ ЯВЛЯЕТСЯ СОВЕРШЕННО НЕПОЛЯРНЫМ:

- 1) силикагель;
- 2) окись алюминия;
- 3) полиамид;
- 4) уголь активированный;

Правильный ответ: 2

Компетенции: УК-1.1

11. Ситуационные задачи по теме с эталонами ответов

1. В аптеку обратился пациент «Фитоцентра» с рецептом:Rp.: Foliorum Sennae 3,0Corticis Frangulae 6,0Aquaе purificatae ad 250 mlExtrahe. Misce. Da. Signa: Принимать по 1 ст. л. 3 раза в день.Провизор-технолог протаксировал рецепт по выше приведенной прописи, выдал пациенту квитанцию и передал рецепт на изготовление.

Вопрос 1: Назовите сырьевые источники листьев сенны и коры крушины (латинские и русские названия).

Какие биологически активные вещества содержатся в данных видах сырья? Укажите их фармакологическое действие;

Вопрос 2: соответствии с требованиями ОФС ГФ 13 хранение настоев и отваров осуществляется при температуре от 2 до 8 °С, в защищённом от света месте;

1) Cassia acutifolia – кассия остролистная, антраценпроизводные – сеннозиды А и В. Frangula alnus – крушина ольховидная, антраценпроизводные – франгуларозид, франгулин, франгулаэмодин. Оказывают слабительное действие;

2) Опишите условия хранения изготовленного препарата;

Компетенции: УК-1.1, УК-1.2, ОПК-2.1

2. В аптеку поступили следующие лекарственные препараты: Морфина гидрохлорид 1 % - 1,0 № 5, Калия перманганат пор. 3,0, Теофедрин-Н табл.

Вопрос 1: Какими физико-химическими методами можно определить подлинность данного ЛП?;

Вопрос 2: Какой специфической реакцией можно определить подлинность морфина гидрохлорида;

1) Метод ВЭЖХ, спектрофотометрия, тонкослойная хроматография;

2) Реакция с концентрированной серной кислотой. Красное окрашивание;

Компетенции: УК-1.1, УК-1.2, ОПК-2.1

12. Примерная тематика НИРС по теме

1. Газожидкостная хроматография. Коэффициент распределения, выбор подвижной фазы. Методы определения подлинности и количественного содержания веществ в лекарственной форме.

2. Сущность тонкослойной хроматографии (ТСХ). Проведение качественного и количественного анализа методом ТСХ.

3. Особенности бумажной хроматографии.

4. Особенности капиллярной хроматографии

5. Достоинства и недостатки газовой адсорбционной и газожидкостной хроматографии

6. Практическое значение газовой хроматографии

13. Рекомендованная литература по теме занятия

- **дополнительная:**

[Фармацевтическая химия](#) : учебник / ред. Г. В. Раменская. - 3-е изд., (электрон.). - Москва : Лаборатория знаний, 2019. - 470 с. - Текст : электронный.

- **электронные ресурсы:**

Анализ лекарственных препаратов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии

(<https://docs.google.com/file/d/0ByYcXpTXVG2vWU5XWm4tbVBxVVU/edit>)

Качественный анализ методом высокоэффективной жидкостной хроматографии
(<https://docs.google.com/file/d/0ByYcXpTXVG2vampYR2VnTkQteWs/edit>)

Анализ лекарственных препаратов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии в сочетании с хромато-масс спектрометрией (<https://docs.google.com/file/d/0ByYcXpTXVG2vZjRrQUhfbzFoOFU/edit>)

1. Тема № 21. Электрохимические методы анализа: потенциометрия, полярография, кулонометрия. Особенности метода, применение в фарманализе. (Компетенции: УК-1.1, УК-1.2)

2. Разновидность занятия: дискуссия

3. Методы обучения: объяснительно-иллюстративный

4. Значение темы (актуальность изучаемой проблемы): Фармацевтическая химия занимает центральное место среди других специальных фармацевтических дисциплин – фармакогнозии, фармацевтической технологии, фармакологии, организации и экономики фармации, токсикологической химии и является своеобразным связующим звеном между ними. Задачи, стоящие перед фармацевтической химией, решаются с помощью классических химических, физических и физико-химических методов, которые используются как для синтеза, так и для анализа лекарственных веществ. Разработка нормативно-правовых документов, регламентирующих качество фармацевтической продукции, а также неукоснительное соблюдение и контроль за соответствием качества продукции данным документам является важнейшей задачей фармацевтического анализа и его составной части – фармакопейного анализа. Материал данной темы будет использоваться при изучении других тем фармацевтической химии.

5. Цели обучения

- **обучающийся должен знать** основные нормативные документы, касающиеся контроля качества лекарственных средств, биомедицинских препаратов и изделий медицинского назначения, методы, приемы и способы выполнения химического и физико-химического анализа для установления качественного состава и количественного определения, оборудование и реактивы для проведения физико-химического анализа лекарственных веществ для медицинского применения, биомедицинского клеточного продукта и медицинских изделий, принципы работы автоматизированных аналитических систем, **уметь** приготовить титрованный раствор по навеске и из фиксанала и установление поправочного коэффициента, использовать технику флюорисцентного анализа, определить среднюю массу таблеток, рассчитать отклонения от средней массы, **владеть** техникой ионообменной, бумажной и тонкослойной хроматографии, техникой работы на фотоэлектроколориметре: определение концентрации, определение удельного показателя поглощения, техникой экспресс-анализа - выполнение капельных реакций

6. Место проведения и оснащение занятия:

- **место проведения занятия:** учебная комната 6-26

- **оснащение занятия:** весы аналитические, весы электронные, влагоанализатор mettler toledo, иономер, набор химических реактивов, набор химической посуды, спектрофотометр unisco, фотоколориметр leki, шкафы вытяжные, штативы лабораторные, электропечь муфельная

7. Структура содержания темы (хронокарта)

Хронокарта

п/п	Этапы практического занятия	Продолжительность (мин.)	Содержание этапа и оснащенность
1	Организация занятия	5.00	Проверка посещаемости и внешнего вида обучающихся
2	Формулировка темы и целей	5.00	Озвучивание преподавателем темы и ее актуальности, целей занятия
3	Контроль исходного уровня знаний и умений	10.00	Тестирование
4	Раскрытие учебно-целевых вопросов по теме занятия	10.00	Инструктаж обучающихся преподавателем
5	Самостоятельная работа обучающихся: а) приготовление эталонных растворов, б) подготовка к ответам на вопросы занятия.	40.00	1) выполнение практического задания, 2) подготовка к ответам на вопросы занятия по учебнику и учебному пособию.
6	Итоговый контроль знаний (письменно или устно)	15.00	Ситуационные задачи
7	Задание на дом (на следующее занятие)	5.00	Учебно-методические разработки следующего занятия и методические разработки для внеаудиторной работы по теме
	ВСЕГО	90	

8. Аннотация (краткое содержание темы)

Потенциометрия – метод, основанный на измерении разности электрических потенциалов, возникающих между разнородными электродами, опущенными в раствор с определяемым веществом.

Потенциометрическое измерение проводят, опуская в раствор 2 электрода – индикаторный, реагирующий на концентрацию определяемых ионов, и стандартный электрод или электрод сравнения, относительно которого измеряется потенциал индикаторного. Наиболее часто потенциометры применяют для прямых измерений рН и показателей концентраций других ионов. Измерения проводят, используя соответствующие ионселективные

электроды. Для измерения рН применяют стеклянный электрод и электрод сравнения – хлорсеребряный.

В фармацевтическом анализе широко используют потенциометрическое титрование. Оно основано на установлении эквивалентного объема титранта путем измерения ЭДС, возникающей при титровании за счет разности потенциалов индикаторного электрода и электрода сравнения, погруженных в анализируемый раствор.

Преимущества потенциометрического метода определения по сравнению с индикаторным состоят в возможности титрования окрашенных, коллоидных, мутных растворов, смеси нескольких компонентов в водных и неводных средах. Метод применим в различных видах титриметрии, основанных на реакциях нейтрализации, осаждения, окисления-восстановления. Электродом сравнения служит каломельный электрод, индикаторным – стеклянный. Измерение ЭДС между индикаторным электродом и электродом сравнения производят с помощью высокоомных потенциометров. Титрант прибавляют равными объемами, причем вблизи точки эквивалентности по 0,1-0,05 мл. Около точки эквивалентности изменение ЭДС происходит наиболее сильно. Результаты титрования представляют либо графически, обозначая точку эквивалентности на кривой титрования, либо расчетным методом.

Порошки – твердая лекарственная форма для внутреннего и наружного применения, обладающая свойством сыпучести.

Различают порошки простые, состоящие из одного твердого вещества; сложные, состоящие из двух и более ингредиентов; разделенные на отдельные дозы и неразделенные.

Анализ порошков слагается из следующих стадий.

1. Проверка оформления отпущенной лекарственной формы (правильность написания этикетки, наличие сопровождающих указаний: сигнатура, предупредительные этикетки и т. д.).
2. Соответствие упаковки порошков. Порошки, не разделенные на дозы, отпускаются в склянках, пакетах, коробках; при наличии в них летучих, гигроскопичных или выветривающихся веществ, порошки отпускают в склянках или пробирках с пробками.

Разделенные на дозы порошки отпускаются в капсулах из писчей бумаги, с летучими веществами (камфора, ментол, тимол и др.) – в капсулах из пергамента, с гигроскопичными и выветривающимися веществами – в капсулах из парафинированной или воценой бумаги. Порошки могут быть отпущены в желатиновых и крахмальных капсулах.

3. Внешний вид порошков.

Проверяется соответствие цвета, запаха, вкуса. Цвет сложных порошков зависит от входящих в него ингредиентов и должен точно соответствовать цвету правильно приготовленных порошков такого же состава.

4. Степень измельчения и однородность смешения.

Сложные порошки для внутреннего применения просеиваются сквозь сита лишь в том случае, если просеивание способствует более однородному, смешению, например, когда в смесь входят растительные порошки. Степень измельчения таких порошков проверяется просеиванием сквозь соответствующее сито.

Разделенные сложные порошки проверяют на степень измельчения, высыпая на бумагу и прижимая шпателем; при этом не должно обнаруживаться плохо измельченных выступающих частиц. Одновременно проверяют равномерность смешения, наблюдая однородность окраски гладкой поверхности.

К микроскопическому исследованию сложных порошков прибегают в случаях, когда требуется обнаружить входящие в их состав растительные порошки по характерным для них клеточным элементам.

5. Проверка общей массы порошков.

Для проверки общей массы производят взвешивание порошков на ручных весочках с точностью до второго знака.

6. Определение подлинности входящих ингредиентов.

При анализе многокомпонентных лекарственных смесей наиболее ценными являются методы, позволяющие проводить определение подлинности и количественного содержания отдельных компонентов без их предварительного разделения. Однако не всегда такой прием доступен. В этом случае проводят разделение ингредиентов с последующим их определением. Чаще всего для разделения используются различия в растворимости веществ.

7. Количественный анализ входящих ингредиентов.

Количественный анализ сложных порошков также проводится с разделением или без разделения смеси на отдельные, ингредиенты.

После проведения количественного анализа каждого вещества производят расчет содержания его по формулам прямого или обратного титрования.

После определения относительного отклонения в процентах для ингредиента сравнивают с нормами допустимых отклонений и выясняют, укладывается ли процент относительного отклонения в установленную норму.

Для определения характера неудовлетворительности порошков устанавливают следующую дифференциацию их:

- неудовлетворительность по физическим свойствам; плохое смешение и растирание входящих в лекарство ингредиентов, несоответствие внешнего вида;
- неудовлетворительность по общей массе или массе отдельных доз в случае сложных разделенных порошков.
- неудовлетворительность по подлинности, ошибочная замена одного препарата другим; отсутствие прописанного и наличие непрописанного ингредиента; применение родственных препаратов без обозначения этого на рецепте (этикетке, сигнатуре);
- неудовлетворительность по массе отдельных ингредиентов.

8. Заключение.

В заключении делается вывод: лекарственная форма приготовлена (не) удовлетворительно.

9. Вопросы по теме занятия

1. Что называют редокс-системой? Приведите примеры двух разных редокс-систем, в состав которых входят: а) Fe^{2+} ; б) NO ; в) H_2O_2 .

Компетенции: УК-1.1, УК-1.2

2. Что называют стандартным и формальным редокс-потенциалом?

Компетенции: УК-1.1, УК-1.2

3. Какие факторы влияют на величину редокс-потенциала?

Компетенции: УК-1.1, УК-1.2

4. Объясните, почему нитрат-ион не окисляет ион $Fe(II)$ в растворе с $pH=7$, но окисляет в растворе с $pH=1$.

Компетенции: УК-1.1, УК-1.2

5. Приведите примеры редокс-процессов в живых системах, сопровождающихся изменением степени окисления d-элементов.

Компетенции: УК-1.1, УК-1.2

10. Тестовые задания по теме с эталонами ответов

1. ПОТЕНЦИОМЕТРИЧЕСКИЙ МЕТОД ОСНОВАН:

- 1) на измерении разности равновесных потенциалов практически в отсутствие тока между индикаторным электродом и электродом сравнения;
- 2) на измерении разности равновесных потенциалов в присутствии тока между индикаторным электродом и электродом сравнения;
- 3) на измерении тока между индикаторным электродом и электродом сравнения;
- 4) на измерении потенциала индикаторного электрода;

Правильный ответ: 1

Компетенции: УК-1.2

2. ТИПЫ ИНДИКАТОРНЫХ ЭЛЕКТРОДОВ, ИСПОЛЬЗУЕМЫХ В ПОТЕНЦИОМЕТРИИ:

- 1) стеклянный;
- 2) платиновый;
- 3) хлорсеребряный;
- 4) углеродный;

Правильный ответ: 1

Компетенции: УК-1.2

3. БЛОК ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКОЙ ЯЧЕЙКИ СОСТОИТ ИЗ:

- 1) индикаторного электрода;
- 2) электрода сравнения;
- 3) потенциометра;
- 4) стаканчика с анализируемым раствором;

Правильный ответ: 2
Компетенции: УК-1.2

4. ПОТЕНЦИАЛ ИНДИКАТОРНОГО ЭЛЕКТРОДА ЗАВИСИТ ОТ:

- 1) природы растворителя;
- 2) окраски раствора;
- 3) прозрачности раствора;
- 4) активности потенциалопределяющих ионов по уравнению Нернста;

Правильный ответ: 1
Компетенции: УК-1.1

5. СТЕКЛЯННЫЙ ЭЛЕКТРОД ЯВЛЯЕТСЯ ПРИМЕРОМ:

- 1) мембранного электрода;
- 2) разновидности металлического электрода;
- 3) ионоселективного электрода;
- 4) стеклоуглеродного электрода;

Правильный ответ: 1
Компетенции: УК-1.2

11. Ситуационные задачи по теме с эталонами ответов

1. В аптеку поступила партия товара: настойка травы полыни горькой 50,0 – 100 флаконов; Корвалол – 50 флаконов; капсулы «Амоксициллин» 0,5 № 16 – 30 упаковок.

Вопрос 1: Каковы физико-химические свойства компонентов, входящих в состав поступивших лекарственных средств, которые необходимо учитывать при организации хранения лекарственных средств?;

Вопрос 2: Каков порядок хранения лекарственного растительного сырья?;

1) Настойка травы полыни горькой – жидкая лекарственная форма, изготовленная на 70% спирте, содержащая горькие гликозиды, требует хранения в прохладном, защищённом от света месте. Корвалол – жидкая лекарственная форма, изготовленная на 95% спирте, содержит ароматическое вещество эфир альфа-бромизовалериановой кислоты, требует хранения в защищённом от света месте при температуре 10-25 °С. Амоксициллин хранится при комнатной температуре;

2) В соответствии с пунктом 48 приказа Минздравсоцразвития РФ от 23.08.2010 г. № 706н «Правила хранения лекарственных средств» (в ред. от 28.12.2010 г.) расфасованное лекарственное растительное сырьё хранится на стеллажах или в шкафах. Помещения для хранения лекарственных средств должны быть оснащены приборами для регистрации параметров воздуха. Измерительные части этих приборов должны размещаться на расстоянии не менее 3 м от дверей, окон и отопительных приборов. Приборы и (или) части приборов, с которых производится визуальное считывание показаний, должны располагаться в доступном для персонала месте на высоте 1,5-1,7 м от пола. Показания этих приборов должны ежедневно регистрироваться в специальном журнале ответственным лицом. При размещении лекарственных средств допускается использование компьютерных технологий (по алфавитному принципу, по кодам);

Компетенции: УК-1.1, УК-1.2

2. В аптеку поступил рецепт на изготовление лекарственной формы по прописи: Recipe: DibazoliPapaverini hydrochloridi ana 0,02 Sacchari 0,3 Misce, fiat pulvis. Da tales doses № 10 Signa. По 1 порошку 3 раза в день внутрь.

Вопрос 1: Приведите нормативно-правовые акты по изготовлению лекарственной формы и оценку качества изготовленного порошка;

Вопрос 2: Укажите физико-химические методы для анализа данной ЛФ?;

1) Клонидин – лекарственное средство, подлежащее предметно-количественному учёту (Постановление Правительства РФ от 29.12.2007 г. № 964 (ред. от 07.11.2013 г.), относится к сильнодействующим веществам, предметно-количественный учёт ведут в журнале по форме, утверждённой приказом Минздрава России от 17.06.2013 г. № 378н «Об утверждении правил регистрации операций, связанных с обращением лекарственных средств для медицинского применения, включённых в перечень лекарственных средств для медицинского применения, подлежащих предметно-количественному учёту»;

2) Спектрофотометрия, ВЭЖХ, ТСХ;

Компетенции: УК-1.1, УК-1.2

12. Примерная тематика НИРС по теме

1. Спектральные методы анализа лекарственных средств: спектрофотометрия в УФ- и видимой областях, флуориметрия, фототурбидиметрия, фотоэлектроколориметрия. Основной закон светопоглощения. Основные части фотоэлектроколориметра и принцип работы на приборах.

2. Спектральные методы анализа лекарственных средств: спектрофотометрия в ИК-области. Основные части ИК-спектрометра и принцип работы на приборах.

3. Предложить студентам, подготовить обучающие программы по изучаемой теме.

4. Сущность тонкослойной хроматографии (ТСХ). Проведение качественного и количественного анализа методом ТСХ.

13. Рекомендованная литература по теме занятия

- дополнительная:

[Фармацевтическая химия](#) : учебник / ред. Г. В. Раменская. - 3-е изд., (электрон.). - Москва : Лаборатория знаний, 2019. - 470 с. - Текст : электронный.

- электронные ресурсы:

Анализ лекарственных препаратов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (<https://docs.google.com/file/d/0ByYcXpTXVG2vWU5XWm4tbVBxVVU/edit>)

Качественный анализ методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (<https://docs.google.com/file/d/0ByYcXpTXVG2vampYR2VnTkQteWs/edit>)

Анализ лекарственных препаратов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии в сочетании с хромато-масс спектрометрией (<https://docs.google.com/file/d/0ByYcXpTXVG2vZjRrQUhfbzFoOFU/edit>)

1. Тема № 22. Зачет с оценкой (Компетенции: УК-1.1, УК-1.2, УК-1.3, ОПК-2.1)

2. Разновидность занятия: дискуссия

3. Методы обучения: объяснительно-иллюстративный

4. Значение темы (актуальность изучаемой проблемы): Фармацевтическая химия занимает центральное место среди других специальных фармацевтических дисциплин – фармакогнозии, фармацевтической технологии, фармакологии, организации и экономики фармации, токсикологической химии и является своеобразным связующим звеном между ними. Задачи, стоящие перед фармацевтической химией, решаются с помощью классических химических, физических и физико-химических методов, которые используются как для синтеза, так и для анализа лекарственных веществ. Разработка нормативно-правовых документов, регламентирующих качество фармацевтической продукции, а также неукоснительное соблюдение и контроль за соответствием качества продукции данным документам является важнейшей задачей фармацевтического анализа и его составной части – фармакопейного анализа. Материал данной темы будет использоваться при изучении других тем фармацевтической химии.

5. Цели обучения

- **обучающийся должен знать** методы, приемы и способы выполнения химического и физико-химического анализа, методы, приемы и способы выполнения химического и физико-химического анализа для установления качественного состава и количественного определения, методы, приемы и способы выполнения химического и физико-химического анализа, принципы работы автоматизированных аналитических систем, **уметь** определять рН среды потенциометрически на иономере, приготовить титрованный раствор по навеске и из фиксанала и установление поправочного коэффициента, использовать технику флуорисцентного анализа, **владеть** техникой ионообменной, бумажной и тонкослойной хроматографии, техникой работы на фотоэлектроколориметре: определение концентрации, определение удельного показателя поглощения

6. Место проведения и оснащение занятия:

- **место проведения занятия:** учебная комната 6-26

- **оснащение занятия:** весы аналитические, весы электронные, влагоанализатор mettler toledo, иономер, набор химических реактивов, набор химической посуды, спектрофотометр unisco, фотоколориметр leki, шкафы вытяжные, штативы лабораторные, электропечь муфельная

7. Структура содержания темы (хронокарта)

Хронокарта

п/п	Этапы практического занятия	Продолжительность (мин.)	Содержание этапа и оснащенность
1	Организация занятия	5.00	Проверка посещаемости и внешнего вида обучающихся
2	Формулировка темы и целей	5.00	Озвучивание преподавателем темы и ее актуальности, целей занятия
3	Контроль исходного уровня знаний и умений	10.00	Тестирование
4	Раскрытие учебно-целевых вопросов по теме занятия	10.00	Инструктаж обучающихся преподавателем
5	Самостоятельная работа обучающихся: а) приготовление эталонных растворов, б) подготовка к ответам на вопросы занятия.	40.00	1) выполнение практического задания, 2) подготовка к ответам на вопросы занятия по учебнику и учебному пособию.
6	Итоговый контроль знаний (письменно или устно)	15.00	Ситуационные задачи
7	Задание на дом (на следующее занятие)	5.00	Учебно-методические разработки следующего занятия и методические разработки для внеаудиторной работы по теме
	ВСЕГО	90	

8. Аннотация (краткое содержание темы)

Итоговое занятие для оценки уровня знаний студентов.

Физико-химические методы основаны на использовании зависимости физических свойств от химического состава веществ. В большинстве случаев физико-химические методы отличаются быстротой выполнения, избирательностью, высокой чувствительностью, возможностью унификации и автоматизации. Поэтому данная группа методов приобрела большее значение для объективной оценки качества ЛС, в т.ч. для испытания на подлинность, чистоту и для количественного определения.

Классификация физико-химических методов.

- оптические методы,
- методы, основанные на поглощении электромагнитного излучения,
- методы, основанные на испускании излучения,
- методы, основанные на использовании магнитного поля,
- электрохимические методы,
- термические методы,
- методы разделения.

Развитие физико-химических методов тесно связано с историей фармации. В период Возрождения (16 - 17 вв.) на смену алхимии пришла иатрохимия (от греч. «иатрос» - врач).

Иатрохимия - направление в химии и медицине, считавшее главной причиной болезней нарушение химических процессов в организме и признававшее основной задачей химии приготовление лекарств. Её основатель - Теофраст Парацельс (1493-1541). Сущность учения Парацельса основывалась на том, что организм человека представляет совокупность химических веществ и недостаток какого-либо из них может вызвать заболевание, поэтому для исцеления Парацельс применял химические соединения различных металлов (ртути, свинца, меди, железа, сурьмы, мышьяка и др.), а также растительные лекарственные средства. Парацельс провёл исследование действия на организм многих веществ минерального и растительного происхождения. Его по праву считают одним из основоположников фармацевтического анализа. Аптеки в 16-17 вв. были центрами по изучению химических веществ, и за 100 лет развития иатрохимии наука обогатилась большим количеством фактов, чем алхимия за 1000 лет.

В период 17 - 19 вв. расширились рамки химических исследований за пределы иатрохимии, что привело к созданию первых химических заводов и к формированию химической науки. Шведский учёный фармацевт К. Шееле впервые выделил кислород, открыл хлор, глицерин, ряд органических кислот и др. вещества. Французский фармацевт Л. Воклен открыл хром и бериллий. Фармацевт Б. Куртуа обнаружил йод в морских водорослях. Многие сделал для развития фармацевтического анализа аптекарь Мор. Он впервые применил бюретки, пипетки, аптечные весы, которые носят его имя.

Возникновение фармации в России связано с развитием народной медицины и знахарства. Идеи алхимиков были чужды России, здесь сразу начало развиваться подлинное ремесло по изготовлению лекарств. Первыми ячейками аптечного дела на Руси были зелёные лавки (13 - 15 вв.). К этому же периоду относится возникновение фармацевтического анализа, так как возникла необходимость в проверке качества лекарств. В 1706 г. в Москве открылась первая медицинская школа, в которой одной из специальных дисциплин была фармацевтическая химия.

Подлинное развитие химической и фармацевтической науки в России связано с именем М.В. Ломоносова. По инициативе М.В. Ломоносова в 1748 г. была создана первая научная химическая лаборатория, а в 1755 г. открыт первый русский университет.

Достойным преемником М.В. Ломоносова был учёный-химик В.М. Севергин (1765-1826). Наибольшее значение для фармации имеют две его книги, изданные в 1800 г.: «Способ испытывать чистоту и неподложность химических произведений лекарственных» и «Способ испытывать минеральные воды». Обе книги являются первыми отечественными руководствами в области исследования и анализа лекарственных веществ. Развитию фармацевтической химии способствовали также работы А.А. Воскресенского, Н.Н. Зинина, Д.И. Менделеева, А.М. Бутлерова.

На рубеже 20 вв. связи с бурным развитием медицины, биологии и химии возникла химиотерапия. Один из создателей химиотерапии - русский врач Д.Л. Романовский. Он сформулировал в 1891 г. и подтвердил экспериментально основы этой науки, указав, что нужно искать «вещество», которое при введении в заболевший организм окажет наименьший вред последнему и вызовет наибольшее деструктивное действие в патогенном агенте.

Начало новой эры в развитии химиотерапии связано с созданием сульфаниламидных препаратов. Амид сульфаниловой кислоты (сульфаниламид или белый стрептоцид) был впервые синтезирован в 1908 г. Гельмо. Но только спустя 27 лет, в 1935 г. венгерский учёный Домагк обнаружил его уникальные лечебные свойства.

Домагк исследовал на мышях действие пронтозила, представляющего собой 4-сульфамидо-2,4-диаминоазобензол (краситель, полученный из амида сульфаниловой кислоты). Было установлено, что «действующим началом» красного стрептоцида является образующийся при метаболизме сульфаниламид или белый стрептоцид (белый кристаллический порошок без запаха).

Красный стрептоцид вышел из употребления, а на основе молекулы сульфаниламида было синтезировано большое количество производных. В 1935 г. русские ученые О.Ю. Магидсон, М.В. Рубцов и И.Я. Постовский синтезировали более 80 соединений сульфаниламидного ряда, провели их изучение и установили связь между химической структурой и противомикробным действием.

Сульфаниламидные препараты обладают химиотерапевтической активностью при инфекциях, вызванных грамположительными и грамотрицательными бактериями, некоторыми простейшими (возбудителями малярии и токсоплазмоза), хламидиями (при трахоме, паратрахоме). Их действие связано с нарушением образования микроорганизмами необходимых для их развития ростовых факторов – фолиевой и дигидрофолиевой кислот и др. веществ, в молекулу которых входит пара-аминобензойная кислота. Сульфаниламиды близки по строению к пара-аминобензойной кислоте, они захватываются микробной клеткой вместо пара-аминобензойной кислоты и тем самым нарушают течение в ней обменных процессов.

Современная химиотерапия располагает огромным арсеналом лекарственных средств, среди которых важнейшее место занимают антибиотики. Впервые открытый в 1928 г. англичанином А. Флемингом антибиотик пенициллин явился родоначальником новых химиотерапевтических средств. Создание антибиотиков совершило революцию в области лекарственной терапии многих заболеваний.

Антибиотики – вещества, продуцируемые микроорганизмами, высшими растениями, животными тканями в процессе их жизнедеятельности и обладающие способностью оказывать на микроорганизмы, простейшие, некоторые вирусы избирательное действие.

В основе действия антибиотиков лежит антибиоз, то есть явление антагонизма микроорганизмов, открытое Л. Пастером в 80-х годах XIX в. Сущность этого явления заключается в том, что одни микроорганизмы выделяют в окружающую среду различные вещества, способные подавлять рост и размножение других микроорганизмов. Открытый А. Флемингом пенициллин был выделен в чистом виде из культуральной жидкости Х.Флори и Дж.Чейн в 1940г. С этого времени началось бурное развитие исследований в области антибиотиков: в 1942г получен грамицидин, в 1944 г. – стрептомицин, в 1951 – 1954 гг. – канамицины, неомицины и др.

Методы исследования качества лекарственных средств (физические, физико-химические и химические).

В соответствии с ГФ XI методы исследования лекарственных средств подразделяются на физические, физико-химические и химические.

Физические методы включают методы: определение температуры плавления, затвердевания, плотности (для жидких веществ), показателя преломления (рефрактометрия), оптического вращения (поляриметрия) и др.

Физико-химические методы. Их можно разделить на 3 основные группы: электрохимические (полярография, потенциометрия), хроматографические и спектральные (УФ- и ИК-спектрофотометрия и фотоколориметрия).

Полярография – метод изучения электрохимических процессов, основанный на установлении зависимости силы тока от напряжения, которое прикладывается к исследуемой системе. Электролиз исследуемых растворов проводится в электролизере, одним из электродов которой служит капельный ртутный электрод, а вспомогательным – ртутный электрод с большой поверхностью, потенциал которого практически не изменяется при прохождении тока небольшой плотности. Полученная полярографическая кривая (полярограмма) имеет вид волны. Высота волны связана с концентрацией реагирующих веществ. Метод применяется для количественного определения многих органических соединений.

Потенциометрия – метод определения рН и потенциометрическое титрование.

Хроматография – процесс разделения смесей веществ, происходящий при их перемещении в потоке подвижной фазы вдоль неподвижного сорбента. Разделение происходит благодаря различию тех или иных физико-химических свойств разделяемых веществ, приводящему к неодинаковому взаимодействию их с веществом неподвижной фазы, следовательно, к различию во времени удерживания слоя сорбента.

По механизму, лежащему в основе разделения, различают адсорбционную, распределительную и ионообменную хроматографию. По способу разделения и применяемой аппаратуре различают хроматографию на колонках, на бумаге в тонком слое сорбента, газовую и жидкостную хроматографию, высокоэффективную жидкостную хроматографию (ВЭЖХ) и др.

Спектральные методы основаны на избирательном поглощении электромагнитного излучения анализируемым веществом. Различают спектрофотометрические методы, основанные на поглощении веществом монохроматического излучения УФ- и ИК-диапазонов, колориметрические и фотоколориметрические методы, основанные на поглощении веществом монохроматического излучения видимой части спектра.

Химические методы. Основаны на использовании химических реакций для идентификации лекарственных средств. Для неорганических лекарственных средств используют реакции на катионы и анионы, для органических – на функциональные группы, при этом применяются только такие реакции которые сопровождаются наглядным внешним эффектом: изменением окраски раствора, выделением газов, выпадением осадков и т.д.

С помощью химических методов проводят определение численных показателей масел и эфиров (кислотное число, йодное число, число омыления), характеризующих их доброкачественность.

К химическим методам количественного анализа лекарственных веществ относятся гравиметрический (весовой) метод, титриметрические (объёмные) методы, включающие кислотно-основное титрование в водных и неводных средах, газометрический анализ и количественный элементный анализ.

Гравиметрический метод. Из неорганических лекарственных веществ этим методом можно определять сульфаты, переводя их в нерастворимые соли бария, и силикаты, предварительно прокаливая их до диоксида кремния. Возможно применение гравиметрии для анализа препаратов солей хинина, алкалоидов, некоторых витаминов и др.

Титриметрические методы. Это наиболее распространенные в фармацевтическом анализе методы, отличающиеся небольшой трудоемкостью и достаточно высокой точностью. Титриметрические методы можно подразделить на осадительное титрование, кислотно-основное, окислительно-восстановительное, комплексиметрию и нитритометрию. С их помощью количественную оценку производят, проводя определение отдельных элементов или функциональных групп, содержащихся в молекуле лекарственного вещества.

Осадительное титрование (аргентометрия, меркуриметрия, меркуро-метрия и др.).

Кислотно-основное титрование (титрование в водной среде, ацидиметрия – использование в качестве титранта кислоты, алкалометрия – использование для титрования щелочи, титрование в смешанных растворителях, неводное титрование и др.).

Окислительно-восстановительное титрование (иодометрия, иодхлорометрия, броматометрия, перманганатометрия и др.).

Комплексиметрия. Метод основан на образовании прочных . растворимых в воде комплексов катионов металлов с трилоном Б или др. комплексоном. Взаимодействие происходит в стехиометрическом соотношении 1:1 независимо от заряда катиона.

Нитритометрия. Метод основан на реакциях первичных и вторичных ароматических аминов с нитритом натрия, который используют в качестве титранта. Первичные ароматические амины образуют с нитритом натрия в кислой среде диазосоединение, а вторичные ароматические амины в этих условиях образуют N-нитрозосоединения

Газометрический анализ. Имеет ограниченное применение в фармацевтическом анализе. Объектами этого анализа являются два газообразных препарата: кислород и циклопропан. Сущность газометрического определения заключается во взаимодействии газов с поглотительными растворами.

Количественный элементный анализ. Этот анализ используют для количественного определения органических и элементарноорганических соединений, содержащих азот, галогены, серу, а также мышьяк, висмут, ртуть, сурьму и др. элементы.

Испытание на чистоту и допустимые пределы примесей

Для определения примесей в препаратах и приблизительной оценки их количества вводятся сравнения (колориметрические и нефелометрические) с эталонными растворами, устанавливающими предел содержания данной примеси.

Наблюдение мути и опалесценции растворов проводят в проходящем свете на тёмном фоне, а окраски-при дневном отраженном свете на матово-белом фоне.

Проводят испытания на хлориды, сульфаты, соли аммония, кальция, железа, цинка, тяжелых металлов в соответствии с методиками и требованиями ГФ XI, том 1.

9. Вопросы по теме занятия

1. Теоретические основы оптических методов. Особенности спектрофотометрии в видимой области.

Компетенции: УК-1.3, ОПК-2.1

2. Аппаратурное оформление спектрофотометров различных моделей.

Компетенции: УК-1.2, ОПК-2.1

3. Аналитические возможности спектрофотометрического метода в видимой области для целей установления подлинности, чистоты и количественного содержания лекарственных средств.

Компетенции: УК-1.2, УК-1.3

4. Возможности использования спектрофотометрического метода в видимой области для анализа лекарственных веществ на примере нескольких фармакопейных статей (цианокобаламин, ретинола ацетат, левомецетин и др.).

Компетенции: УК-1.2, ОПК-2.1

5. В чем сущность хроматографического процесса?

Компетенции: УК-1.2, ОПК-2.1

10. Тестовые задания по теме с эталонами ответов

1. СВЯЗЫВАЮЩИЕ ВЕЩЕСТВА, КОТОРЫЕ ИСПОЛЬЗУЮТСЯ ДЛЯ ИЗГОТОВЛЕНИЯ ПЛАСТИН С ЗАКРЕПЛЕННЫМ СЛОЕМ В ОБЫЧНЫХ ЛАБОРАТОРНЫХ УСЛОВИЯХ:

- 1) клей ПВА;
- 2) эпоксидная смола;
- 3) натрия силикат;
- 4) крахмал;
- 5) гипс;

Правильный ответ: 1

Компетенции: ОПК-2.1

2. НЕСВЯЗЫВАЮЩИЕ ВЕЩЕСТВА, КОТОРЫЕ ИСПОЛЬЗУЮТСЯ ДЛЯ ИЗГОТОВЛЕНИЯ ПЛАСТИН С ЗАКРЕПЛЕННЫМ СЛОЕМ В ОБЫЧНЫХ ЛАБОРАТОРНЫХ УСЛОВИЯХ:

- 1) клей ПВА;
- 2) эпоксидная смола;
- 3) натрия силикат;
- 4) крахмал;
- 5) гипс;

Правильный ответ: 2

Компетенции: УК-1.1

3. СДЕРЖИВАЮЩИМ ФАКТОРОМ ДЛЯ ШИРОКОГО ВНЕДРЕНИЯ В ПРАКТИКУ ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОГО АНАЛИЗА В НАШЕЙ СТРАНЕ МЕТОДА ВЭЖХ ЯВЛЯЕТСЯ:

- 1) трудность подбора подходящей подвижной фазы;
- 2) нестабильность показаний хроматографа;
- 3) высокая цена хроматографа;
- 4) низкая чувствительность метода;
- 5) нелинейность отклика большинства используемых детекторов;

Правильный ответ: 1

Компетенции: УК-1.2

4. СОРБЕНТ, КОТОРЫЙ ЯВЛЯЕТСЯ СОВЕРШЕННО НЕПОЛЯРНЫМ:

- 1) силикагель;
- 2) окись алюминия;
- 3) полиамид;
- 4) уголь активированный;

Правильный ответ: 1

Компетенции: УК-1.1

5. ПРАВИЛЬНАЯ ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТЬ ВЫХОДА ИЗ КОЛОНКИ С НЕПОЛЯРНОЙ ПОДВИЖНОЙ ФАЗОЙ РЯДА ВЕЩЕСТВ:

- 1) этанол, ацетон, хлороформ, бензол;
- 2) бензол, хлороформ, ацетон, этанол;
- 3) этанол, бензол, ацетон, хлороформ;

Правильный ответ: 1

Компетенции: ОПК-2.1

11. Ситуационные задачи по теме с эталонами ответов

1. В рецептурно-производственный отдел аптеки поступил рецепт, содержащий следующую пропись: Rp.: Dibazoli 0,004Paraverini hydrochloridi 0,02Theobromini 0,2Misce fiat pulvisDa tales doses N. 10Signa. По 1 порошку 2 раза в день.

Вопрос 1: Какой физико-химический метод можно использовать при анализе данной ЛФ? Основа метода;

Вопрос 2: Какие расчетные формулы используют в количественном фотоколориметрическом анализе данной ЛФ?;

- 1) Высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ) отличается от ГЖХ тем, что подвижной фазой служит не газ, а жидкость, причем она проходит через колонку, наполненную сорбентом, с большой скоростью

за счет значительного давления, Поэтому ВЭЖХ позволяет разделять многокомпонентные смеси на индивидуальные вещества высокой степени чистоты. ВЭЖХ отличается высокой чувствительностью (до 10-6 Г). На разделение 10 – 15 компонентов затрачивается 20-30 мин. Жидкостный хроматограф включает такие узлы, как дозатор, насос высокого давления, высокоэффективная колонка, детектор с регистрирующим устройством. Колонки изготавливают из нержавеющей стали, они имеют длину 10 – 25 см. внутренний диаметр 0,3~0,8 см и плотно набиваются адсорбентом с размером частиц 5 – 10 мкм. В качестве элюента используют различные углеводороды в сочетании с этанолом. Детектором обычно служит спектрофотометр с переменной длиной волны (190 – 900 нм), но существуют также флуориметрические, электрохимические и другие детекторы. Подлинность испытуемых ЛВ подтверждают по времени выхода каждого компонента смеси из колонки, которое будет стабильно при одинаковых условиях проведения эксперимента. Количественное содержание рассчитывается по площади пика, которая пропорциональна количеству ЛВ в пробе;

2) Спектрофотометрической константой является удельный показатель поглощения (Е). Удельный показатель поглощения Е представляет собой величину оптической плотности раствора, содержащего 1,0 г вещества в 100 мл раствора, измеренную в кювете с рабочей длиной 1 см. Установив по стандартному образцу величину Е и преобразовав эту формулу, можно рассчитать концентрацию анализируемого вещества с относительной погрешностью до $\pm 2\%$;

Компетенции: УК-1.1, УК-1.2, ОПК-2.1

2. В рецептурно-производственный отдел аптеки поступил рецепт, содержащий следующую пропись:Rp.: Laevomysetini 2,5Acidi salicylici 1,0Spiritus aethylici 70 % 50 млM. D. S. При гнойничковых заболеваниях кожи.

Вопрос 1: Дайте характеристику лекарственной форме, приведенной в рецептурной прописи. С чем связаны особенности ее изготовления и оформления к отпуску?;

Вопрос 2: Какой физико-химический метод можно предложить для анализа данной ЛФ?Основа метода;

1) В рецепте прописана жидкая лекарственная форма для наружного применения - спиртовой раствор сложного состава, не выпускаемый промышленностью. Особенности изготовления связаны с наличием в прописи антибиотика, неводного летучего растворителя, а также явления контракции, сопровождающего разбавление этанола. Оформление к отпуску обусловлено предметно-количественным учетом спирта этилового;

2) Производная УФ-спектрофотометрия. Данный метод является одним из вариантов дифференциальной спектрофотометрии. Если в дифференциальной спектрофотометрии используют разность оптических плотностей при одной и той же длине волны, то в производной — при двух длинах волн, разделенных небольшим интервалом. Этот вариант основан на выделении индивидуальных полос из УФ-спектра, который представляет собой сумму налагающихся полос поглощения или полос, не имеющих четко выраженного максимума. При этом на спектральных кривых в координатах: производная - длина волны появляются полосы отчетливо выраженными максимумами и минимумами. Благодаря этому можно идентифицировать сходные по химической структуре вещества, повысить избирательность анализа и выполнять количественное определение двух-, трехкомпонентных смесей более экономично и эффективно, чем титриметрическими методами;

Компетенции: УК-1.1, УК-1.2, УК-1.3

12. Примерная тематика НИРС по теме

1. Спектральные методы анализа лекарственных средств: спектрофотометрия в УФ- и видимой областях, флуориметрия, фототурбидиметрия, фотоэлектроколориметрия. Основной закон светопоглощения. Основные части фотоэлектроколориметра и принцип работы на приборах.
2. Спектральные методы анализа лекарственных средств: спектрофотометрия в ИК-области. Основные части ИК-спектрометра и принцип работы на приборах.
3. Предложить студентам, подготовить обучающие программы по изучаемой теме.
4. Сущность тонкослойной хроматографии (ТСХ). Проведение качественного и количественного анализа методом ТСХ.

13. Рекомендованная литература по теме занятия

- **дополнительная:**

[Фармацевтическая химия](#) : учебник / ред. Г. В. Раменская. - 3-е изд., (электрон.). - Москва : Лаборатория знаний, 2019. - 470 с. - Текст : электронный.

- **электронные ресурсы:**

Анализ лекарственных препаратов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (<https://docs.google.com/file/d/0ByYcXpTXVG2vWU5XWm4tbVBxVVU/edit>)

Качественный анализ методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (<https://docs.google.com/file/d/0ByYcXpTXVG2vampYR2VnTkQteWs/edit>)

Анализ лекарственных препаратов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии в сочетании с хромато-масс спектрометрией (<https://docs.google.com/file/d/0ByYcXpTXVG2vZjRrQUhfbzFoOFU/edit>)