**Лабораторно-практическое занятие №4.**

**Тема: Классификация количественного метода анализа ЛС. Преимущества и недостатки метода физического от физико-химического**

**Проводить анализы на лекарственный препарат кислоты ацетилсалициловой 0,25г**

**Цель работы:**изучить теоретических основ количественного метода анализа ЛС.Использование нормативной, справочной литературы для решения профессиональных задач.

**Реактивы и оборудование**:Реактивы: Кислота ацетилсалициловая 0,25г, реактив Марки, анальгин 0,3г, соляная кислота разведенная, раствор хлорамина

Оборудование: мерная колба, колба коническая, пробирки, пипетки, бюретки, воронка, капельница.

**Теоретическое обоснование работы**

Количественный анализ лекарственных средств

Количественный анализ лекарственных средств.

Заключительный этап фармацевтического анализа лекарственного вещества – количественное определение. Оно выполняется после того, как лекарственное вещество идентифицировано и установлено наличие допустимого количества примесей. Выбор оптимального метода количественного определения обуславливается прежде всего его возможностью оценивать лекарственное вещество по физиологически активной части молекулы. Практически сделать это сложно. Обычно количественное содержание препарата устанавливают по какому-либо его химическому свойству, связанному с наличием той или иной функциональной группы.

Для количественного анализа лекарственных веществ применяют четыре группы методов: химические, физические, физико-химические и биологические.

Общие требования к методам количественного определения:

1. Высокая чувствительность и специфичность основной реакции.

2. Простота и доступность методики.

3. Доступность в практике применяемых реактивов.

4. Быстрота выполнения.

5. Взаимодействие анализируемого вещества с титрантом должно протекать стехиометрически, до конца.

6. Возможность фиксации точки эквивалентности.

7. Минимальный расход реактивов и образца.

8. Точность метода.

9. Отсутствие влияния примесей, наполнителей, растворителей при анализе.

Количественное определение основывается на физико-химических и биологических свойствах лекарственных средств.

Методы анализа:

– физические

– химические

– физико- химические

– биологические

Выбор оптимального метода химического определения обуславливается прежде всего его возможностью оценивать лекарственное вещество по физиологически активной части молекулы. Тенденции, существующие сейчас в анализе лекарственных веществ несколько отличаются от концепции, приводимой в учебниках. Связано это с уклоном всех методов анализа в сторону приборного оснащения и все большей склонностью использовать физико-химические методы в количественном определении лекарственных веществ. Практически во всех готовых формах сейчас присутствует высокоэффективная жидкостная хроматография. С одной стороны это несомненный прогресс, поскольку метод достоверно позволяет идентифицировать индивидуальное вещество, с другой метод относительный, дорогой и непригоден для поточного анализа. Достаточно достоверный поточный анализ возможен при использовании одного хроматографа для одного вида анализа, да и то при соблюдении целого ряда требований.

Способ подразделения на физические и физико-химические методы анализа достаточно условный. К чисто физическим методам следует отнести методы, основанные на свойствах, связанных с агрегатным состоянием вещества:

1.Температура плавления вещества. Температура плавления, как мы уже говорили, определяет характер кристаллической решетки и иные свойства вещества. Для количественного определения метод малопригоден, хотя возможно в некоторых случаях оценить по температуре плавления количественное содержание вещества. Чаще его используют для полимерных веществ с целью определения пределом полимеризации.

2.Температура кипения. Использование такого показателя для определения количественного содержания вещества малопригодно, чаще его используют для качественного анализа и испытания на подлинность.

3.Плотность вещества. Плотность вещества, в принципе может быть использована для количественного определения, однако точность такого метода низка ив настоящее время он не применяется в фармакопее для количественного определения лекарственных веществ.

Среди физических методов определенную нишу занимают оптические методы неразрушающего контроля. К этой группе относятся методы, основанные на определении показателя преломления луча света в растворе испытуемого вещества (рефрактометрия), измерение интерференции света (интерферометрия), способности раствора вещества вращать плоскость поляризованного луча (поляриметрия).

Рефрактометрия. Метод используется преимущественно для определения подлинности жидких лекарственных веществ (диэтиламид никотиновой кислоты, токоферола ацетат, метилсалицилат), во внутриаптечном контроле лекарственных форм. В том числе анализе двойных и тройных смесей. Весьма редко используют его для количественного определения: объемно-рефрактометрический анализ и рефрактометрический анализ методом полной и неполной экстракции. К примеру, его используют тогда, когда другими методами не удается получить устойчивый результат. Метод экстракционно рефрактомет-рического анализа использован нами для количественного определения лекарственной формы Винилин-люкс.

Интерферометрия метод экзотический и применяется крайне редко.

Поляриметрия. Применяют для испытания подлинности лекарственных веществ, в молекулах которых имеется ассиметрический атом углерода. В фармацевтической химии имеется небольшое количество примеров использования поляриметрии в количественном анализе и то, только когда регламентируется соотношение оптических изомеров.

Рентгеноспектральные методы анализа. Могут достаточно успешно использоваться при наличии в молекуле тяжелых элементов (кобальт, золото, платина и др.). На практике в фармацевтическом анализе такие методы не встречаются, правда, пока. Вероятно в перспективе возможно создание компактных и дешевых приборов, пригодных для фармацевтического анализа.

Физико-химические методы анализа.

1.Методы, основанные на поглощении излучения (абсорбционные методы).

Абсорбционные методы основаны на свойствах молекул или атомов, поглощать излучения определенной частоты.

Атомно-абсорбционнаяспектрофотометрия основана на использовании ультрафиолетового или видимого излучения резонансной частоты. Поглощение связано с переходом электронов внешней оболочки на возбужденный уровень, что характеризуется для каждого конкретного атома или молекулы определенной частотой. Объектами, поглощающими излучение являются атомы в газообразном состоянии (реже молекулы). Сущность метода заключается в пропускании света через облако, содержащее атомы или ионы испытуемого вещества. Это облако создается или путем введения раствора вещества в пламя горелки с высокотемпера-турным пламенем (ацетилен с кислородом, закись азота с водородом и т.д.), либо через специальное устройство, переводящее раствор в парообразное состояние. Фотометрическим методом измеряют уменьшение интенсивности полосы резонансного поглощения данного вещества. Расчет количества осуществляется по формуле, отражающей зависимость от ослабления интенсивности излучения источника света за счет дины поглощающего слоя, коэффициента поглощения и т.д. метод отличается высокой чувствительностью и точностью, предел обнаружения составляет 0.001-0,0001 мкг/мл.чаще всего метод используют для количественного определения элементосодер-жащих лекарственных веществ и для количественного определения мышьяка в качестве контролируемой примеси.

Ультрафиолетовая и видимая спектрофотометрия. Наиболее простой и широко применяемый в фармации метод анализа. Его используют на всех этапах фармацевтического анализа (испытания чистоты, подлинности, количественного определения), однако наиболее достоверные данные получаются при исполь-зовании метода для количественного определения лекарственных веществ. Процесс поглощения обусловлен электронными переходами электронов, участвующих в валентных связях молекул и отражает в конечном итоге свойства всей молекулы в целом. В реальности в диапазоне измерений от 220 нм, а при частоте свыше 200 нм расположена область вакуумного ультрафиолета, поглощающими фрагментами молекул являются двойные связи, а еще лучше их комплекс, называемые хромофорной группировкой. Хорошими объектами для спектрофотометрии являются ароматические и гетероароматические соединения. В случае монохроматического излучения и разбавленных растворов (концентрация вещества обычно меньше 0,01 М) оптическая плотность прямо пропорциональна концентрации вещества в соответствии с законом Бугера-Ламберта-Бера:

I=Ioexp(-εlC),

Где I интенсивность прошедшего светового потока, l= 1 см, а С выражено в моль/л, то ε называют молярным коэффициентов поглощения.

Объективный выбор оптимальных условий количественного спектрофотометрического анализа можно осуществить только предварительным исследованием констант ионизации, влияния природы растворителей, рН среды и других факторов на характер спектра поглощения.

В НТД приведены различные способы использования УФ спектроскопии для количественного определения лекарственных веществ- витаминов, антибиотиков, других препаратов. В качестве растворителей для УФ спектрофотометрии используют воду, этанол, растворы кислот или щелочей. Расчет концентрации проводят различными способами: по стандарту, удельному показателю поглощения или калибровочному графику. Для уменьшения относительной погрешности и влияния других факторов, снижающих точность анализа, в том числе примесей используют стандартные образцы или, что применяется чаще эталоны. В качестве эталонов выступают иногда растворы неорганических веществ (хромат калия, дихромат калия и т.д.), в настоящее время широко применяют РСО – рабочие стандартные образцы, приготавливаемые из заведомых субстанций или стандартных образцов.

Дифференциальные методы позволяют расширить область применения спектрофотометрии в фармацевтическом анализе. Они позволяют повысить ее объективность и точность, а также анализировать высокие концентрации веществ. Кроме того этими методами можно анализировать многокомпонентные системы без их предварительного разделения. Метод дифференциальной спектрофотометрии включен в ГФ Х1, вып.1 (с.40).сущность его заключается в измерении светопоглощения анализируемого раствора относительно раствора сравнения, содержащего определенное количество испытуемого вещества. Это приводит к снижению относительной погрешности анализа до 0,5-1,0%.

Новые возможности в области идентификации и количественного определения открывает использование производной УФ-спектрофотометрии. Метод основан на выделении математическими методами индивидуальных полос из УФ-спектра, представляющего собой сумму налагающихся полос поглощения или полос, не имеющих четко выраженного максимума. Основано это на том факте, что в идеальном случае кривая поглощения представляет собой кривую Гаусса – вероятностного распределения и при наличии нескольких максимумов поглощения на общей кривой будут образовываться плечи, которые дают во второй и четвертой производных четкие максимумы, позволяющие выделить каждую из этих полос. Точность такого метода, правда, существенно ниже, но он позволяет без больших затрат и сложных экстракций производить анализ смесей. Правда, сейчас, при наличии хроматографии значимость такого метода снижается и метод производной УФ-спектрофотометрии почти не используется на практике.

Разновидностью спектрофотометрии является фотоколори-метрия – метод количественного определения веществ в видимой области. Метод основан на исследовании или окрашенных соединений или анализе производных, например, комплексов в которые переводится испытуемое соединение. Метод до сих пор используют для количественного определения (фурацилин, фурадонин), используют его и для определения веществ в лекарственных формах.

Инфракрасная (ИК) спектроскопия. Сущность метода заключается в поглощении излучения в ИК области (от 200 до 4000 см-1) молекулой вещества. ИК спектры возникают в результате переходов между колебательными уровнями основного электронного состояния изучаемой системы. В зависимости от этого имеются деформационные, валентные колебания. Область деформационных колебаний называют область отпечатков пальцев именно по ней идентифицируются вещества. ИК спектроскопию используют почти исключительно для качественного анализа и идентификации подлинности веществ. Связано это с тем, что как правило, спектры ИК снимают для веществ находящихся в кристаллическом состоянии или в виде взвеси в перфторвазели-новом масле или в таблетке с КВr. ИК спектроскопия в растворе ограничена несколькими растворителями и используется крайне редко. На современном этапе начала достаточно успешно применяться ИК спектроскопия с Фурье преобразованием, позволяющая практически без пробоподготовки определять ряд параметров, в том числе концентрацию воды, содержание основного вещества, а при наличии стандартного образца и определять концентрации примесей. Этот метод является одним из наиболее перспективных методов неразрушающего контроля. В современных фармакопеях. В том числе отечественной ИК метод используется для контроля подлинности почти всех субстанций лекарственных препаратов. А на некоторых предприятиях и для количественного определения субстанций и воды в ней.

**Порядок выполнения лабораторной работы**

**Проводить анализы на лекарственный препарат кислоты ацетилсалициловой 0,25г**

**Испытание на подлинность.**

А) *Кислота ацетилсалициловая.*К 0,05-0,1г порошка прибавляют 1-2 капли реактива Марки. При слабом нагревании на водяной бане появляется розовое окрашивание и запах уксусной кислоты.

**Количественное определение.**

А) *Кислота ацетилсалициловая.*Около 0,2г порошка (точная навеска) растворяют в 10мл спирта, прибавляют 3-5 капель фенолфталеина и титруют раствором едкого натра. 1мл 0,1 н раствора едкого натра соответствует 0,0180 г салициловой кислоты

**Контрольные вопросы для самоподготовки:**

1.Классификация количественных методов анализа.

2. Методы физико-химические.

3. Преимущества и недостатки методов.

4.Перечислите что осносится к физическим методам .

5.Перечислите что относится к химическим методам .

**Домашняя задания:**

Общие принципы оценки качества лекарственных форм.

Нормативные требования к качеству лекарственных форм

**СРС:**Методы анализа многокомпонентных лекарственных форм.