

# ОГЛАВЛЕНИЕ

Предисловие . . . . .	6
Список сокращений . . . . .	7

## ЧАСТЬ I. ХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ОЦЕНКИ КАЧЕСТВА ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

<b>Глава 1.</b> Общие фармакопейные подходы к оценке качества лекарственных средств химическими методами . . . . .	11
1.1. Определение примесей — «испытания на чистоту» . . . . .	11
1.1.1. Классификация примесей в лекарственных средствах . . . . .	11
1.1.2. Способы определения примесей . . . . .	12
1.1.3. Специфические реакции в определении примесей . . . . .	16
1.1.4. Испытания на чистоту в частных фармакопейных статьях . . . . .	18
1.1.4.1. Цинка оксид. Определение примесей . . . . .	19
1.2. Общие реакции в определении подлинности . . . . .	20
1.2.1. Реакции осаждения в определении подлинности алкалоидов и других азотистых оснований . . . . .	20
1.2.2. Реакции образования окрашенных продуктов . . . . .	23
1.2.2.1. Образование окрашенных гидроксаматов железа и меди . . . . .	23
1.2.2.2. Реакции с образованием красителей . . . . .	24
1.2.2.3. Хромогенные реагенты в определении подлинности азотистых оснований . . . . .	29
1.2.2.4. Реакции подлинности анионов минеральных и карбоновых кислот . . . . .	31
1.3. Титриметрия в количественном анализе лекарственных средств . . . . .	41
<b>Глава 2.</b> Химические методы фармакопейного анализа лекарственных средств неорганической природы . . . . .	48
2.1. Фармакопейный анализ лекарственных средств s-элементов . . . . .	55
2.1.1. Роль s-элементов в организме человека . . . . .	55
2.1.2. Описание, определение подлинности и количественный анализ субстанций s-элементов . . . . .	59
2.2. Фармакопейный анализ лекарственных средств d-элементов . . . . .	70
2.2.1. Роль d-элементов в организме человека . . . . .	70
2.2.2. Описание, определение подлинности и количественный анализ субстанций d-элементов . . . . .	73
2.3. Фармакопейный анализ лекарственных средств p-элементов . . . . .	79
2.3.1. Фармакопейный анализ лекарственных средств галогенов . . . . .	79

2.3.2. Фармакопейный анализ лекарственных средств халькогенов . . . . .	83
2.3.3. Фармакопейный анализ лекарственных средств азота, фосфора и висмута . . . . .	91
2.3.4. Фармакопейный анализ лекарственных средств бора и алюминия . . . . .	95

## **ЧАСТЬ II. ФИЗИЧЕСКИЕ И ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ (ИНСТРУМЕНТАЛЬНЫЕ) МЕТОДЫ КОНТРОЛЯ КАЧЕСТВА ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ**

<b>Глава 3.</b> Валидация аналитических методик . . . . .	103
<b>Глава 4.</b> Оптические методы . . . . .	119
4.1. Рефрактометрия . . . . .	119
4.2. Поляриметрия . . . . .	124
4.3. Электронная спектрофотометрия . . . . .	140
4.3.1. Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях спектра . . . . .	140
4.3.2. Люминесцентная (флуоресцентная) спектроскопия . . . . .	145
4.4. Колебательная спектроскопия . . . . .	153
4.4.1. Инфракрасная спектроскопия в средней и ближней области спектра . . . . .	153
4.4.2. Современные виды инфракрасной спектроскопии . . . . .	159
4.4.3. Спектроскопия комбинационного рассеяния . . . . .	161
4.5. Атомная спектрометрия . . . . .	169
4.5.1. Атомно-абсорбционная спектрометрия . . . . .	169
4.5.2. Атомно-эмиссионная спектрометрия . . . . .	177
4.6. Рентгенофлуоресцентная спектрометрия . . . . .	182
<b>Глава 5.</b> Электрохимические методы в контроле качества лекарственных средств . . . . .	185
5.1. Потенциометрия . . . . .	185
5.2. Вольтамперометрия . . . . .	190
5.3. Амперометрическое титрование . . . . .	194
5.4. Кондуктометрия . . . . .	195
5.5. Электрохимические методы определения воды . . . . .	199
5.6. Электрофорез . . . . .	200
<b>Глава 6.</b> Основы хроматографии и классификация хроматографических методов, используемых в фармацевтическом анализе . . . . .	205
6.1. Планарная хроматография . . . . .	208
6.2. Газовая хроматография . . . . .	214

---

6.3. Высокoэффeктивная жидкoстная хроматография . . . . .	221
6.3.1. Критерии разделения компонентов . . . . .	228
6.3.2. Методы обработки хроматограмм . . . . .	231
6.4. Эксклюзионная хроматография . . . . .	234
6.5. Сверхкритическая флюидная хроматография . . . . .	237
<b>Глава 7.</b> Термический анализ . . . . .	240
<b>Глава 8.</b> Масс-спектрометрия . . . . .	250
8.1. Схема устройства масс-спектрометра . . . . .	250
8.2. Масс-спектры лекарственных средств . . . . .	260
<b>Глава 9.</b> Спектроскопия ядерного магнитного резонанса . . . . .	263
Ссылки на фармакопеи . . . . .	269

## Глава 1

# ОБЩИЕ ФАРМАКОПЕЙНЫЕ ПОДХОДЫ К ОЦЕНКЕ КАЧЕСТВА ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ ХИМИЧЕСКИМИ МЕТОДАМИ

### 1.1. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПРИМЕСЕЙ — «ИСПЫТАНИЯ НА ЧИСТОТУ»

Определение примесей, или испытание на чистоту фармацевтической субстанции (в англоязычных фармакопеях — *Tests*), необходимо для доказательства ограниченного содержания («допустимые содержания примеси») или полного отсутствия примесей («недопустимые примеси»).

#### 1.1.1. Классификация примесей в лекарственных средствах

Примеси в ЛС классифицируют по:

- ▶ источнику поступления;
- ▶ влиянию на фармакологические свойства;
- ▶ методам определения.

По источнику поступления примеси делят на две группы: общие технологические и специфические.

Присутствие *общих технологических примесей* в ЛС связано с процессом их производства, например с использованием тех или иных реактивов. Так, подкисление растворов обычно осуществляют серной или хлороводородной кислотой. Нейтрализацию растворов с низкими значениями рН проводят растворами щелочей (KOH, NaOH) или раствором аммиака ( $\text{NH}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$ ). Сушку экстрактов часто осуществляют безводным кальцием хлоридом ( $\text{CaCl}_2$ ) или натрия сульфатом ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ). Из оборудования, например реактора, из катализаторов, волокон тканей и фильтровальной бумаги в субстанции могут попадать различные соединения. Фармакопеи разных стран декларируют необходимость обнаружения от 8 до 31 технологических примесей, в первую очередь это хлориды, сульфаты, соли аммония, кальция, цинка, железа, тяжелые металлы и мышьяк.

*Специфическими примесями* называют такие, которые характерны только для данного лекарственного вещества (ЛВ) и не встречаются в других ЛС. Источниками специфических примесей являются сырье, полупродукты синтеза или само ЛВ, подвергаемое при хранении различным превращениям под воздействием тепла, света, кислорода воздуха, влаги и других факторов окружающей среды. Основные реакции, обуславливающие накопление примесей при хранении, — гидролиз, окисление, декарбок-силирование, внутримолекулярные перегруппировки, фотохимические процессы.

В фармацевтических субстанциях могут присутствовать нетоксичные примеси, содержание которых строго регламентировано. Они снижают долю биологически активных веществ и, соответственно, уменьшают активность ЛС.

### 1.1.2. Способы определения примесей

Примеси могут быть определены эталонными и безэталонными методами. Эталонный метод основан на сравнении со стандартным (эталонным) раствором, содержащим определенное количество открываемой примеси (**рис. 1.1**). При этом в одинаковых условиях выполнения реакции при добавлении соответствующего реактива к эталонному и испытуемому растворам наблюдают появление окраски или образование частиц дисперсной фазы, обуславливающих мутность раствора. Действительное содержание примеси в исследуемом растворе может оказаться как больше, так и меньше ожидаемого. Если степень мутности или интенсивность окраски эталонного раствора меньше, чем исследуемого, значит, содержание примеси в анализируемом препарате больше нормированного предела. Напротив, если мутность или интенсивность окраски исследуемого раствора меньше, чем у эталонного, то содержание примеси в ЛС ниже нормированного предела, т.е. находится в пределах нормы.

Эталонный метод применяют, например, для определения допустимого содержания ионов тяжелых металлов. Эталоном служит коллоидный раствор свинца сульфида (PbS), образующийся при использовании в качестве реагентов растворов натрия сульфида (Na<sub>2</sub>S) или тиоацетамида (CH<sub>3</sub>CSNH<sub>2</sub>). Тиоацетамид рассматривают как прореагент («возникающий реагент»), являющийся источником сероводорода:



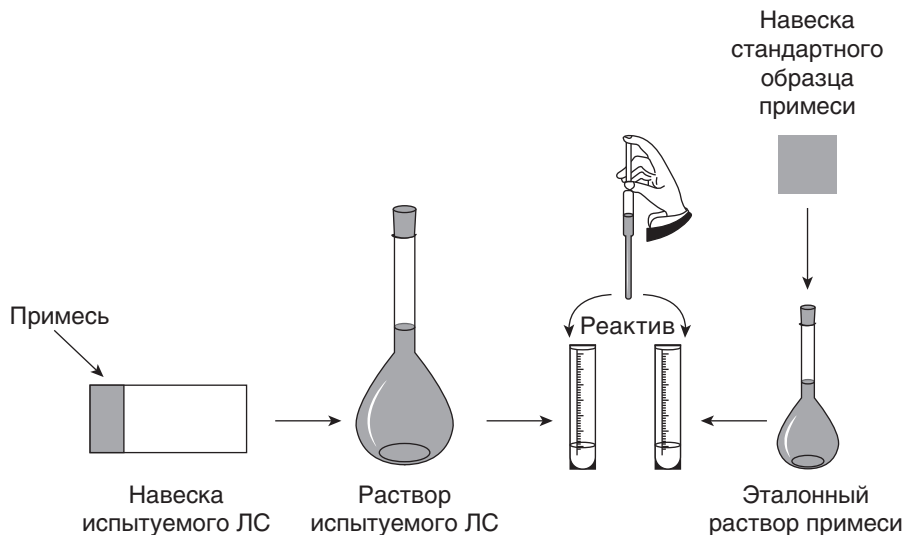
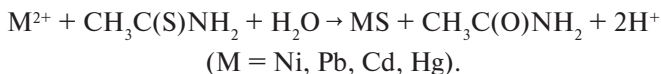


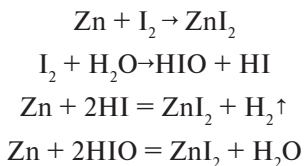
Рис. 1.1. Схема определения примеси эталонным методом

Таким образом, ионы тяжелых металлов, присутствующие в растворе ЛС, вступают в реакцию с образованием малорастворимых сульфидов:

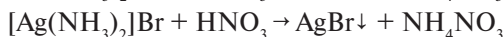


Другие «мягкие кислоты» — ионы  $As^{3+}$ ,  $Sb^{3+}$ ,  $Bi^{3+}$ ,  $Zn^{2+}$ ,  $Ag^+$  — также образуют осадки сульфидов. Поскольку окраска некоторых из перечисленных сульфидов отличается от эталонного  $PbS$  (например, осадок  $CdS$  желтого цвета,  $ZnS$  — белого), фармакопеи проводят замену химического теста «тяжелые металлы» на элементный анализ примесей инструментальными методами.

В качестве другого примера эталонного метода может служить определение содержания бромидов и хлоридов (не более 250 мкг/г) в препарате йод. Для этого растирают 3,0 г субстанции с 20 мл воды и смесь фильтруют. Фильтрат доводят водой до 30 мл. К раствору добавляют 1 г цинкового порошка. При этом протекают реакции:



Когда раствор обесцветится, его фильтруют, отделяя избыток цинка от раствора. В фильтрате йодид-ионы осаждают в виде малорастворимого  $\text{AgI}$ , добавляя раствор аммиака и раствор серебра нитрата. Осадок  $\text{AgI}$  отфильтровывают. К фильтрату, содержащему комплексы  $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]\text{Cl}$  и  $[\text{Ag}(\text{NH}_3)_2]\text{Br}$ , добавляют 1,5 мл азотной кислоты:



Интенсивность опалесценции раствора не должна быть выше эталонного раствора, приготовленного смешиванием 10,75 мл  $\text{H}_2\text{O}$ , 0,25 мл 0,01 моль/л раствора  $\text{HCl}$ , 0,2 мл разбавленной  $\text{HNO}_3$  и 0,3 мл 0,16 моль/л раствора  $\text{AgNO}_3$ .



Рассчитайте содержание (в мкмоль и мкг/мл) серебра хлорида в эталонном растворе.

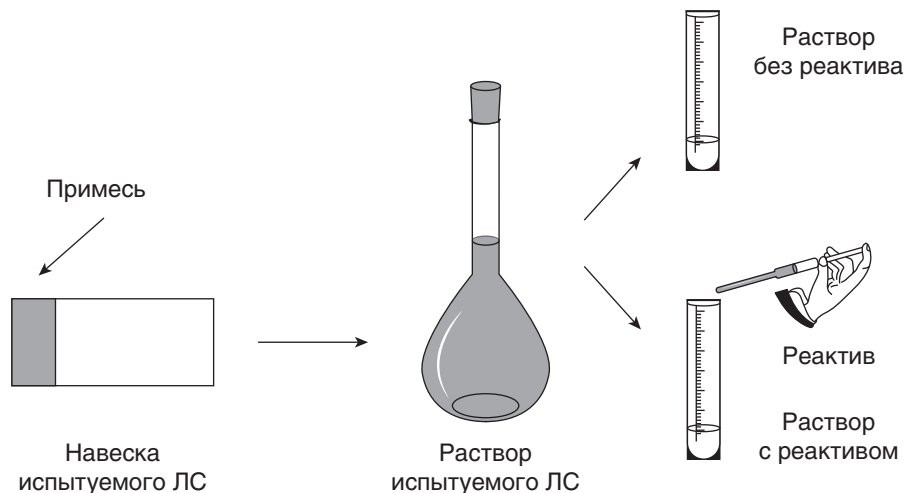
Рекомендуемые фармакопеей концентрации эталонных растворов в несколько раз превышают значения предела количественного определения (ПКО) соответствующих примесей (табл. 1.1), что гарантирует правильность и прецизионность результатов.

По аналогии с ПКО пределы обнаружения (ПО) допустимых примесей численно должны быть всегда ниже, чем ПО тех же соединений в реакциях подлинности. В некоторых случаях методика определения подлинности субстанции совпадает с методикой определения его примеси.

*Безэталонный метод* — установление содержания примеси по отсутствию положительной реакции. В этом случае содержание примеси не превышает ее ПО. Положительная реакция на примесь указывает на то, что содержание ее в исследуемом растворе больше, чем ПО (рис. 1.2).

**Таблица 1.1.** Сравнение значений нижнего предела количественного определения примесей и концентраций эталонных растворов технологических примесей

Примесь	Нижний предел количественного определения примеси, %	Концентрация эталонного раствора примеси, %
$\text{Cl}^-$	0,00005	0,0002
$\text{SO}_4^{2-}$	0,0003	0,001
$\text{Ca}^{2+}$	0,00035	0,003
$\text{Zn}^{2+}$	0,0001	0,0005
$\text{Pb}^{2+}$	0,00005	0,0005



**Рис. 1.2.** Схема определения примеси безэталоным методом

Если в фармакопейной статье (ФС) говорится о том, что испытуемый раствор не должен давать реакции на данную примесь, это не значит, что она полностью отсутствует в субстанции. В этом случае также нормируется предел содержания примеси в ЛС, но не в виде численного значения, а как результат реакции в определенных условиях испытания.

При выполнении испытаний на чистоту необходимо строго соблюдать общие фармакопейные требования: достаточная степень чистоты воды и растворов реактивов, точность навесок, одинаковые диаметры и цвет стекла посуды, объемы реактивов, последовательность и скорость их добавления, единообразные условия наблюдения результатов испытаний (например, наблюдения помутнения и опалесценции растворов проводят в проходящем свете на темном фоне, а окраски — по оси пробирок при дневном отраженном свете на матово-белом фоне).

Тесты разделов «Прозрачность и степень мутности растворов» и «Цветность раствора» также позволяют оценить чистоту субстанции. Данные испытания обязательны для субстанций, используемых для приготовления парентеральных, глазных, назальных и ушных ЛС. Эти тесты позволяют установить общую чистоту субстанции. Обычно испытание проводят в водных растворах субстанции, концентрация которых должна быть приближена к концентрации лекарственной формы (ЛФ), изготавливаемой из этой субстанции.

Определение цветности раствора особенно важно для оценки качества белых субстанций, так как этот показатель характеризует их чистоту. Рас-



твор субстанции сравнивают с эталонами цветности, указанными в Фармакопее.

Если субстанция окрашена, например субстанция доксорубицина или цианокобаламина, то показатель «Цветность раствора» в нормативной документации отсутствует. Для окрашенных растворов это испытание заменяют фотоколориметрическим исследованием.

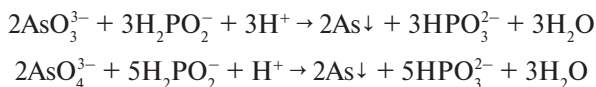
В связи с тем, что относительная ошибка эталонного метода составляет  $\pm 10\%$ , а безэталонного — гораздо больше ( $\pm 25\%$ ), многие национальные фармакопеи стремятся использовать иные методы контроля, позволяющие нормировать предел содержания примеси численным значением. Так, для определения таких высокотоксичных примесей, как тяжелые металлы и мышьяк, используют метод атомно-абсорбционной спектроскопии (ААС), атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно-связанной плазмой (АЭС-ИСП) и масс-спектрометрии с АЭС-ИСП. При использовании инфракрасной (ИК) и ультрафиолетовой (УФ) спектроскопии о присутствии примесей можно судить по дополнительным полосам поглощения/пропускания в спектрах и их относительной интенсивности.

### 1.1.3. Специфические реакции в определении примесей

Химические методы определения применяют, как правило, для контроля технологических примесей. В этом случае используют специфические реакции. Следует подчеркнуть, что во многих случаях химические реакции определения допустимых примесей совпадают с реакциями подлинности. Например, для определения примесей соединений *мышьяка* (арсенидов и арсенатов) фармакопея в качестве одного из тестов рекомендует следующее испытание.

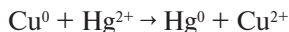
Испытуемый раствор объемом 5 мл нагревают на водяной бане с равным объемом реактива гипофосфита (раствор натрия гипофосфита в концентрированной HCl) — образуется осадок коричневого цвета.

Методика основана на использовании восстановительных свойств натриевой соли фосфорноватистой кислоты (натрия гипофосфита). Восстановление как мышьяка(III), так и мышьяка(V) происходит до элементного мышьяка (As). При подкислении раствора фосфорноватистая кислота окисляется до фосфористой, и в зависимости от содержания мышьяка появляется бурое окрашивание (коллоидный раствор) или бурый осадок:

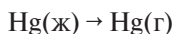


Для определения примесей соединений ртути проводят следующие испытания.

А. Около 0,1 мл раствора испытуемой субстанции помещают на тщательно очищенную поверхность медной фольги — появляется пятно элементной ртути:

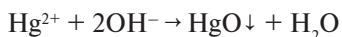


Фольгу высушивают и нагревают в пробирке — пятно исчезает, так как ртуть переходит в газовую фазу:



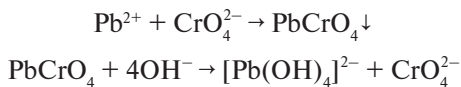
Медь ( $E_{\text{Cu}^{2+}/\text{Cu}^0}^0 = +0,34 \text{ В}$ ) как более активный металл восстанавливает ионы ртути ( $E_{\text{Hg}^{2+}/\text{Hg}^0}^0 = +0,85 \text{ В}$ ) из ее солей.

В. К раствору, указанному в частной статье, добавляют раствор NaOH (8,5%) до сильнощелочной среды ( $\text{pH} > 10,0$ ) — образуется осадок оксида ртути(II) желтого цвета:

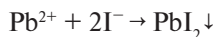


Для определения примесей соединений свинца возможны следующие испытания.

А. 0,1 г испытуемой субстанции растворяют в 1 мл ледяной уксусной кислоты. К полученному раствору или к 1 мл раствора, указанного в частной статье, добавляют 2 мл раствора  $\text{K}_2\text{CrO}_4$  — образуется осадок желтого цвета, растворяющийся при прибавлении 2 мл раствора натрия гидроксида концентрированного:



В. 50 мг испытуемой субстанции растворяют в 1 мл ледяной уксусной кислоты. К полученному раствору или к 1 мл раствора, указанного в частной статье, добавляют 10 мл воды и 0,2 мл раствора калия йодида — образуется осадок желтого цвета:



Смесь кипятят в течение 1–2 мин — осадок растворяется. Раствор охлаждают — вновь образуется осадок в виде блестящих желтых пластинок.

Ион серебра также может давать желтый осадок  $\text{AgI}$ , который, в отличие от  $\text{PbI}_2$ , не растворяется при нагревании раствора.

Для определения примесей соединений *сурьмы* фармакопея рекомендует следующие испытания.