ОБЩИЕ ПРИНЦИПЫ ОЦЕНКИ КАЧЕСТВА ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМ

1. Классификация лекарственных форм и особенности их анализа

Для фармацевтического анализа важное значение имеет агрегатное состояние ЛФ. От него зависят отбор пробы и подготовка ее к выполнению анализа. ЛФ по агрегатному состоянию классифицируют на твердые (порошки, таблетки, суппозитории, драже, гранулы и др.); жидкие (истинные и коллоидные растворы, суспензии, эмульсии, сиропы, капли, линименты и др.); мягкие (мази, гели, кремы, капсулы и др.); газообразные (аэрозоли, газы).

Лекарственные формы могут содержать одно, два, три и более ЛВ. Поэтому различают одно-, двух-, трех-, четырех- и т.д. компонентные лекарственные смеси. Используют также термин «многокомпонентные лекарственные формы», если в них содержится несколько ЛВ.

При оценке качества выполняют испытания на подлинность и количественное определение каждого из ЛВ, входящих в состав ЛФ.

При выполнении испытания подлинности ЛФ, содержащихся в однокомпонентных ЛФ, обычно используют те же химические реакции, что и для соответствующих субстанций.

Испытанию на чистоту подвергают, как правило, только растворы для инъекций. Устанавливают прозрачность и окраску (цветность) раствора, рН среды или щелочность (кислотность) растворов, а также допустимые пределы примесей тяжелых метилов. Наиболее потенциально опасным путем поступления тяжелых металлов в организм человека являются различного рода инъекции. Поэтому необходимо устанавливать допустимые нормы содержания тяжелых металлов и вводить их; ФС (ФСП) на инъекционные ЛФ, в том числе плазмозамещающие растворы, средства для парентерального питания.

Сложность выполнения количественного анализа зависит от числа компонентов, входящих в состав ЛФ. Большинство применяемых в медицине жидких ЛФ содержит одно Л В. Но и в таких растворах возможно образование продуктов взаимодействия между ЛВ и растворителем, что нельзя не учитывать при выполнении анализа. Иногда жидкие ЛФ содержат, кроме ЛВ, различные стабилизаторы (сульфит, гидросульфит натрия), антибактериальные добавки (бензойная кислота), т. е. представляют собой растворы нескольких компонентов.

При анализе таблеток, драже, гранул, линиментов, мазей, пилюль, капсул, включающих даже одно ЛВ, как правило, его предварительно отделяют от основы или наполнителя.

Анализ многокомпонентных лекарственных форм. Характерная особенность анализа многокомпонентных ЛФ заключается в том, что способы определения индивидуальных веществ не дают положительных результатов при использовании их для анализа смесей. Поэтому вначале необходимо выбрать условия, позволяющие анализировать одно в присутствии другого, или предварительно отделить их друг от друга и от вспомогательных веществ. При этом следует иметь в виду, что каждый из компонентов смеси характеризуется определенными физическими и химическими свойствами. Они могут вызывать различные процессы взаимодействия (например, явления адсорбции, гидролиза и т.д.). Все это усложняет процесс количественного определения компонентов.

Сложной операцией является разделение ингредиентов, содержащихся в ЛФ, и выделение индивидуальных ЛВ. Для этого необходимы различные (нередко трудоемкие) методы экстракции и разделения. Поэтому там, где это возможно, стремятся использовать методики, позволяющие анализировать компоненты смеси при совместном присутствии.

Если положительных результатов получить не удается, то необходима предварительная полная экстракция ЛВ с последующим его количественным определением.

Таким образом, независимо от агрегатного состояния как однокомпонентные, так и многокомпонентные ЛФ имеют свои специфические особенности качественного и количественного анализа.

Анализ готовых лекарственных форм (ГЛФ). Приготовленные на заводах медицинской промышленности ЛФ называют готовыми лекарственными формами (ГЛФ). Контроль их качества осуществляют в соответствии с требованиями нормативной документации (ГФ, ФС, ФСП). Построение и изложение содержания ФС на ЛФ осуществляются в строгом соответствии с ОСТ 91500.05.001-00 «Стандарты качества лекарственных средств».

В заглавии ФС дается наименование ЛФ на латинском и русском языках. Разделы ФС даются в такой последовательности: состав; описание; растворимость; подлинность; прозрачность и цветность; предел кислотности, щелочности или рН; сухой остаток; содержание спирта; температура кипения; плотность; показатель преломления; угол вращения; вязкость; определение воды; тяжелые металлы; количественное определение; методы контроля; упаковка; маркировка; транспортирование; хранение; срок годности. Отдельные разделы могут совмещаться, а в случае необходимости могут вводиться другие разделы (испытание на токсичность, пирогенность, стерильность и т.д.).

Большинство разделов ФС на ЛФ по своему объему и содержанию мало отличаются от соответствующих разделов ФС на ЛВ. Но есть и некоторые характерные особенности. Главная из них заключается в том, что подавляющее большинство ЛФ представляют собой многокомпонентные системы. Они либо содержат два или несколько ЛВ, либо одно ЛВ в сочетании с различными по химической структуре вспомогательными веществами. Перед приготовлением ЛФ все указанные компоненты подвергаются испытаниям в соответствии с требованиями НД. В процессе получения и хранения они могут претерпевать различные физические и химические превращения как под влиянием внешних факторов, так и в результате взаимодействия друг с другом. Вот почему разрабатываются нормативные требования к качеству ЛФ, в том числе к ГЛФ.

В ГФ приведены общие статьи на ЛФ. В них описаны основные требования к качеству Л Ф, даны указания по проведению испытаний различных характеристик и параметров, указаны допустимые нормы отклонений массы, объема, размеров частиц и др. Здесь же указаны требования к упаковке, маркировке и хранению ЛФ.

Впервые в ГФ XI включены требования к однородности дозирования сухих ЛФ, имеющих массу 0,05 г и менее (таблетки, капсулы). Это испытание позволяет установить однородность содержания ЛВ в одной таблетке (капсуле). Такие испытания необходимы, т.к. в процессе получения ЛФ фактическое его содержание в одной дозе может колебаться в зависимости от соблюдения технологии, в том числе таких процессов, как перемешивание, приготовление гранулятов, таблетирование и др. Особенно важен контроль однородности дозирования в детских ЛФ. Методики этих испытаний описаны в ГФ XI, вып. 2 (с. 136-162).

Анализ гомеопатических лекарственных средств. Трудности оценки качества гомеопатических лекарственных средств обусловлены высокими разведениями. В результате чувствительность используемых в фармацевтическом анализе химических и даже физико-химических методов оказывается недостаточной для обнаружения и определения Л В, входящих в состав ряда гомеопатических средств.

Если биологически активное вещество содержится в настойках, эссенциях, мазях, суппозиториях, опподельдоках в разведении до 2 С (2-сотенное, или 0,0001), то их анализ и стандартизация практически не отличаются от контроля качества ЛФ, используемых в аллопатической практике. ЛС в разведении 2-3 С (1(Н-10'6) анализируют после проведения специальных приемов концентрирования с помощью упаривания, сжигания содержащихся в них ЛВ, с последующим определением одним из физико-химических методов исходя из его разрешающей способности. При более чем 3 С-разведении (10~6) достаточно установить подлинность Л В, содержащегося в одной разовой или суточной дозе. При очень высоких разведениях, до 50 С (1О10°), контроль качества гомеопатического средства существующими методами выполнить невозможно. Для таких ЛС контроль качества осуществляют на стадии получения, строго контролируя технологический процесс. Качество контролируют при закладке ингредиентов и фиксируют в акте загрузки. Каждый ингредиент подвергают предварительному анализу. Во всех перечисленных случаях для анализа и стандартизации гомеопатических ЛС используют хроматографические (ГЖХ, ВЭЖХ), фотометрические, флуоресцентные и другие методы.

2. Методы анализа однокомпонентных лекарственных форм

Во всех фармакопеях мира важное место отведено анализу ЛФ. Около 30% частных ФС содержат требования к качеству инъекционных растворов, таблеток, драже, мазей, присыпок. Подавляющее большинство из них включает одно ЛВ. Систематизация сведений об испытаниях подлинности и количественном определении однокомпонентных ЛФ позволяет сделать заключение об общих принципах оценки их качества.

Испытания на подлинность выполняют, как правило, с помощью химических реакций, указанных в ФС на индивидуальные вещества, входящие в состав жидких и сухих ЛФ. Некоторые ЛВ предварительно извлекают из ЛФ органическими растворителями, а затем выполняют испытания. Иногда раствор жидкой ЛФ выпаривают досуха, а затем с остатком выполняют одно или несколько испытаний на подлинность. Растворы солей органических оснований, как правило, предварительно нейтрализуют щелочами, а затем основания извлекают органическими растворителями.

Таблетки и драже перед испытанием на подлинность растирают в порошок, взбалтывают с водой или другим растворителем (этанолом, эфиром, хлороформом, ацетоном, бензолом, раствором хлороводородной или уксусной кислоты, раствором аммиака или гидроксида натрия) и фильтруют. Затем с фильтратом выполняют испытания на подлинность, используя реакции, рекомендуемые ГФ (ФС) для данного ЛФ. При плохой растворимости процесс экстракции выполняют при нагревании до определенной температуры. Иногда реактив добавляют непосредственно к порошку растертых таблеток или извлекают ЛВ и выполняют испытания с остатком (после удаления органического экстрагента).

Из мазей ЛВ предварительно экстрагируют эфиром, кислотой или другим растворителем. Для этого мазь обрабатывают разведенной серной, хлороводородной или уксусной кислотой при перемешивании и нагревании на водяной бане, затем охлаждают и фильтруют. Фильтрат испытывают с помощью химических реакций на соответствующие ионы или функциональные группы.

Масляные растворы перед выполнением испытаний растворяют в бензоле, петролейном эфире, хлороформе или ЛВ извлекают смесью растворителей. Подлинность извлеченного ЛВ подтверждают либо по температуре плавления (самого ЛВ или его производного), либо цветными или осадочными реакциями, либо с помощью тонкослойной хроматографии.

Для испытания подлинности таблеток ГФ (ФС) рекомендует использовать спектрофотометрию в ИК- или УФ-области. Из порошка растертых таблеток или драже извлекают ЛВ (водой или другим растворителем). Затем измеряют УФ-спектр и устанавливают наличие максимума светопоглощения при определенной длине волны или оптическую плотность в максимуме светопоглощения либо рассчитывают значения отношений оптических плотностей при различных максимумах. Более объективна идентификация ЛВ путем сравнения с ИК-спектрами стандартных образцов.

Количественный анализ однокомпонентных ЛФ выполняют в несколько этапов.

Отбор пробы и взятие навески. При анализе твердых (таблетки, драже, гранулы) и жидких (растворы, сиропы) ЛФ обычно руководствуются общими правилами отбора проб. Вначале отбирается необходимое количество таблеток (драже) или жидкости. Оно должно быть достаточным для того, чтобы результаты анализа были точными для всей ЛФ. Затем после перемешивания или растирания отвешивают навеску. Процесс растирания необходим для получения гомогенной массы, в которой ЛВ было бы равномерно распределено во всем объеме пробы. Не подвергают растиранию только таблетки, покрытые оболочкой, и драже. ЛВ в них распределено неравномерно, и колебания в массе отдельных таблеток будут значительно влиять на результаты определения. Количественный анализ таких лекарственных форм проводят из определенного числа таблеток (драже).

Подготовка лекарственной формы к анализу. На этом этапе проводят растворение (иногда с нагреванием). Растворяют навеску в мерной колбе, доводят растворителем до метки и отбирают аликвотную часть для выполнения измерения. Выбор растворителя осуществляется с учетом растворимости ЛВ и других компонентов ЛФ, а также используемого метода количественного определения. Так, например, при использовании кислотно-основного титрования в неводной среде органических оснований в качестве растворителя используют безводную уксусную кислоту. Для растворения жидких ЛФ чаще всего применяют воду, а масляных растворов - этиловый и метиловый спирты, бензол, петролейный эфир.

Извлечение лекарственного вещества из лекарственной формы. Извлечение Л В осуществляют для более правильной и точной оценки его содержания в ЛФ. Данный этап является неизбежным, когда в ЛФ присутствуют ингредиенты, мешающие количественному определению ЛВ. Поэтому необходимо либо выделять индивидуальное Л В, либо отделять мешающие компоненты. Для разделения компонентов ЛФ используют различные способы: фильтрование, центрифугирование, экстракцию, а также экстракцию в сочетании с отгонкой. Наиболее часто для отделения ЛВ применяют фильтрование. К экстракционным методам можно отнести извлечение ЛВ или продуктов его превращения (органического основания, комплекса или ионного ассоциата). Для разделения используют также экстракцию в сочетании с бумажной хроматографией или ТСХ.

Создание условий, необходимых для выполнения определения. После проведения предыдущих операций возможно определение ЛВ с помощью титриметрических или физико-химических методов. Однако чаще всего необходимо дополнительное создание специальных условий. Они диктуются прежде всего методом, с помощью которого проводят количественную оценку ЛВ в данной ЛФ. Для комплексонометрии — это создание необходимого рН среды; для метода нейтрализации в не водных средах — добавление ацетата ртути (II) при определении галогеноводородных солей органических основании: при использовании броматометрии или нитритометрии — добавление в реакционную смесь бромида калия и сознание клелой среды и т.д.

Выполнение измерений по определению содержания лекарственного вещества. Количественный анализ может быть осуществлен гравиметрическим, титриметрическими, физико-химическими и биологическими методами.

Гравиметрический метод в анализе лекарственных форм применяют редко, поскольку он весьма трудоемок и длителен во времени.

Титриметрические методы используют наиболее часто для количественной оценки ЛВ в ЛФ. Возможность применения титриметрических методов определяется следующими основными факторами: доступностью способов установления точки эквивалентности; дозировкой Л В в ЛФ (при малых дозах из-за низкой чувствительности метода необходимы слишком большие навески); влиянием растворителей, наполнителей, стабилизаторов, консервантов и т.д. Эти ограничения послужили главной причиной того, что нередко для количественного определения ЛВ в ЛФ используют не тот метод, который рекомендует ФС для той же субстанции.

Иногда титриметрические методы нецелесообразно применять из-за их низкой чувствительности. Так, для получения достаточно точных результатов (при условии расхода 20 мл 0,1 М раствора титранта) необходимо брать на анализ очень большие количества ЛФ: около 500 мл раствора платифиллина гидротартрата для инъекций 0,2%; 670 мл раствора атропина сульфата для инъекций 0,1%; 1500 мл раствора скополамина гидробромида для инъекций 0,05%; 40 таблеток резерпина (по 0,1 мг). В этих случаях титриметрические методы заменены более чувствительными физико-химическими методами определения ЛВ в ЛФ.

Фотометрические (спектрофотометрия, фотоколориметрия) методы чаще всего применяют для определения малых количеств Л В в ЛФ. Наибольшее число методик приходится на долю ЛФ, содержащих такие группы биологически активных веществ и их синтетических аналогов, как антибиотики, гормоны, витамины и др.

Экстракционно-фотометрическим методом анализируют ЛФ, содержащие ЛВ, представляющие собой органические основания и их соли. В качестве реактивов используют пикриновую кислоту, тропеолииовые и другие красители, Образующиеся окрашенные продукты извлекают органическим растворителем (чаще всего хлороформом) и измеряют оптическую плотность полученного экстракта.

Для количественной оценки содержания некоторых алкалоидов в растворах для инъекций используют турбидиметрю. для определения кордиамина и глюкозы в растворах, а также ЛФ, изготовленных в аптеке, — рефрактометрию.

Биологические методы используют для количественной оценки в ЛФ некоторых сердечных гликозидов. Микробиологически определяют активность ряда антибиотиков.

3. Методы анализа многокомпонентных лекарственных форм

3.1 Качественный анализ

Трудности в идентификации многокомпонентных Л Ф состоят в том, что один ингредиент может мешать обнаружению другого или реактив одновременно реагирует с двумя или несколькими компонентами смеси. Это происходит в случае отсутствия специфических реакций на каждый из компонентов. Вместе с тем одни компоненты смеси могут способствовать открытию других. Поэтому в отличие от анализа однокомпонентных ЛФ возможны следующие варианты идентификации ЛВ при совместном присутствии.

1. Для идентификации подобраны специфические реакции (на ионы или функциональные группы), при выполнении которых обнаружению одного компонента не мешает присутствие другого.
2. Использован реактив, который последовательно реагирует вначале с одним компонентом, затем с другим. Например, раствор формальдегида в концентрированной серной кислоте при обнаружении кодеина в смеси с кислотой ацетилсалициловой вначале образует сине-фиолетовое (кодеин), а затем красное окрашивание (кислота ацетилсалициловая).
3. Реактив взаимодействует с обоими компонентами, но продукты взаимодействия легко можно разделить. Примером чожет служить анализ смеси натрия бензоата и натрия салицилата при воздействии раствором сульфата меди в присутствии хлороформа. Хлороформный слой приобретает голубое окрашивание (бензоат-ион), водный — зеленое (салицилат-ион).
4. Один из компонентов ЛФ в присутствии реактива дает цветную реакцию на другой компонент. Так можно обнаружить первичные ароматические амины реакцией азосочетания, если в смеси присутствует резорцин (отпадает необходимость в добавлении р-нафтола).
5. При добавлении реактивов вначале обнаруживают один компонент, а затем последовательно открывают остальные. Примером может служить обнаружение бензокаина в смеси с натрия гидрокарбонатом и метамизолом-натрия реакцией образования азокрасителя. После прибавления хлороводородной кислоты выделяются пузырьки газа (гидрокарбонат-ион), при последующем добавлении раствора нитрита натрия появляется быстро исчезающее сине-фиолетовое окрашивание (метамизол-натрий) и, наконец, от добавления щелочного раствора р-нафтола смесь приобретает красный цвет (бензокаин).
6. Обнаружить один компонент в присутствии других не представляется возможным без предварительного их разделения. Для этой цели используют воду, растворы кислот или щелочей, органические растворители (этанол, эфир, хлороформ). Затем в полученных экстрактах идентифицируют каждый из компонентов.
7. Использование различных видов хроматографии (ВЭЖХ, ГЖХ, ТСХ) для разделения и идентификации компонентов твердых ЛФ. Например, в ТСХ-анализе использование пластинок «Силуфол УФ-254». На них наносят раствор или хлороформное извлечение из ЛФ и раствор стандартного образца. После хроматографирования пятна на хроматограмме проявляют с помощью цветных реакций или УФ-света. Такие методики применимы в анализе многокомпонентных мазей и аэрозолей.
8. При анализе жидких многокомпонентных ЛФ присутствие в них галеновых препаратов (настоек, экстрактов), а также настоев и отваров нередко мешает обнаружению других ингредиентов. Поэтому идентификации должна предшествовать экстракция или разделение компонентов с помощью бумажной, тонкослойной или других видов хроматографии.

3.2 Количественный анализ

Применение титриметрических методов основано на особенностях физических и химических свойств ингредиентов, входящих в состав ЛФ, причем чем больше сходства в этих свойствах, тем труднее с достаточной точностью осуществить определение каждого из компонентов. При анализе ЛФ, содержащих три ингредиента и более, редко удается найти единый метод, позволяющий определить все компоненты. Поэтому используют сочетание нескольких методов, основываясь на особенностях таких физических и химических свойств ингредиентов, как растворимость, кислотно-основные, окислительно-восстановительные свойства, возможность взаимодействия с различными титрантами и реактивами.

Количественный химический анализ лекарственных веществ в многокомпонентных смесях может быть выполнен без разделения компонентов смеси или после предварительного разделения смеси на отдельные компоненты.

3.2.1 Количественный анализ без разделения компонентов смеси

Титриметрический анализ лекарственной смеси, включающей два ингредиента и более, можно выполнить без разделения компонентов. Для этого подбирают условия, при которых определение одного компонента не мешает определению других. При этом используют титриметрические методы, основанные на различии свойств веществ, содержащихся в смеси (кислотно-основных свойств, констант комплексообразования, произведений растворимости и др.).

Чаще всего применяют методы, основанные на одновременном титровании суммы двух компонентов. Затем количественно определяют содержание одного из этих компонентов, используя методы, основанные на свойствах, присущих только данному веществу. Расчет производят по разности между количеством миллилитров титрантов (одинаковой молярности), затраченных на первое и второе титрование.

Так, при наличии в смеси солей органических оснований (гидрохлоридов, гидробромидов, гидройодидов) и галогенидов (хлориды натрия, калил) титруют вначале аргентометрически сумму гидрогалогенидов и галогенидов (индикатор бромфеноловый синий), а затем методом нейтрализации определяют связанную кислоту (индикатор фенолфталеин). Содержание галогенида устанавливают по разности.

Один из компонентов может быть определен окислительно-восстановительным методом при отсутствии в смеси других окисляющихся компонентов. Производные фенолов (резорцин) определяют в смесях броматометрическим методом. Если в смеси содержится легкоокисляющееся вещество, то фенол вначале экстрагируют эфиром.

Первичные ароматические амины (производные л-аминобензойной кислоты, сульфаниламиды) в отсутствие других окисляющихся компонентов избирательно определяют методом нитритометрии. Этим же методом после предварительного гидрирования можно определять нитропроизводные (левомицетин), а после гидролиза — ацетиламинопроизводные (парацетамол).

Комплексонометрию используют тогда, когда один из компонентов смеси представляет собой соль кальция, магния, цинка, ртути или других тяжелых металлов. Если предварительно другим методом была оттитрована смесь солей с одинаковыми анионами, то установленное комплексонометрически количество одной из солей затем вычитают из суммы компонентов.

Кислотно-основное титрование смесей основано на различии констант диссоциации компонентов. Поэтому данный метод используют при наличии в смеси нескольких компонентов с кислотно-основными свойствами. Дифференцированное титрование смесей кислот, оснований или их солей возможно, если константы диссоциации компонентов смеси различаются не менее чем в 1000 раз.

Ступенчатое кислотно-основное титрование, основанное на последовательном определении компонентов смеси в одной пробе с использованием различных индикаторов, применяют при определении компонентов ЛФ, содержащих карболовые кислоты и их соли в сочетании с барбитуратами или органическими основаниями, аминокислоты в смеси с кислотой аскорбиновой, никотиновой и др.

При наличии в смеси только одного ЛВ, проявляющего кислотные или основные свойства, титрование осуществляют соответственно алкалиметрическим или ацидиметрическим методом. Выбор индикатора зависит от константы диссоциации. Для титрования хлороводородной кислоты используют метиловый красный, аминокапроновой — фенолфталеин, глутаминовой — бромтимоловый синий и т.д. Варьирование индикаторами возможно также в следующих случаях.

* 1. Если смесь содержит два компонента, значительно различающихся по основности, то используют два разных индикатора и последовательно титруют вначале один, а затем второй ингредиент. Можно подобрать условия определения смесей кислот или оснований, рН растворов которых отличаются друг от друга. При титровании смеси кислот или оснований с различными константами диссоциации вначале титруются более сильные кислоты (основания), затем — более слабые.
  2. Если один из компонентов смеси представляет собой кислоту, а другой — соль или основание, то в одной навеске вначале титруют кислоту, а затем — сумму образовавшейся соли или основания. Расчет выполняют по разности количеств затраченных титрованных растворов кислоты и щелочи.
  3. При анализе смеси ЛВ, одно из которых нерастворимо или мало растворимо в воде, используют несмешивающиеся или смешанные растворители (воду и спирт). Подбирая соответствующие растворители и индикаторы, можно последовательно оттитровать два ЛВ, проявляющие кислотные или основные свойства, но имеющие различные константы диссоциации.
  4. Методом неводного титрования можно количественно определять без разделения двухкомпонентные ЛФ. Для этого используют два способа. Один из них заключается в титровании каждого ингредиента в том растворителе, в котором проявляются только его кислотные или основные свойства. Так можно определять смеси кислоты и основания, кислоты и соли, основания и соли. Второй способ основан на дифференцированном титровании в одном растворителе обоих ЛВ, имеющих разные константы ионизации. Этим способом титруют смеси оснований с солями и смесь оснований. При титровании в среде ледяной уксусной кислоты можно без разделения последовательно определять смесь более сильного и более слабого органического основания.
  5. Последовательное титрование одной навески ЛФ вначале в водной, а затем в неводной среде может быть применено, когда в состав бинарной ЛФ входят слабые основания (пуриновые алкалоиды) и алкалоиды с более сильными основными свойствами. Если ЛФ включает пуриновые алкалоиды и вещества слабокислого характера (барбитураты), то последние определяют алкалиметрическим методом после предварительного извлечения эфиром. Пуриновые алкалоиды в той же навеске определяют в неводной среде методом неводного титрования.

3.2.2 Количественный анализ смесей после предварительного разделения компонентов

Разделение смеси с помощью экстракции основано на различии растворимости компонентов в воде и в органических растворителях или на различии кислотно-основных свойств. По этому принципу Л В могут быть распределены на группы.

Неорганические вещества, как правило, нерастворимы в органических растворителях. Оксиды металлов нерастворимы в воде, но растворимы в кислотах. Соли большинства неорганических кислот и щелочных, щелочно-земельных и тяжелых металлов (за исключением сульфатов кальция и бария) хорошо растворимы в воде.

Органические кислоты алифатического ряда, оксикислоты, аминокислоты, как правило, растворимы в воде. Ароматические кислоты (бензойная, салициловая, ацетилсалициловая) практически нерастворимы (мало растворимы) в воде и растворимы в органических растворителях.

Соли органических кислот (лимонной, уксусной, молочной, глюконовой, бензойной, салициловой), натриевые соли барбитуратов, сульфаниламидов растворимы в воде и нерастворимы в таких органических растворителях, как хлороформ, эфир.

Все органические основания обычно растворимы в органических растворителях. Однако они мало растворимы или практически нерастворимы в воде. Большинство органических оснований и алкалоидов растворимы в растворах кислот (с образованием солей).

Соли органических оснований хорошо растворимы в воде, этаноле и, как правило, нерастворимы в таких органических растворителях, как эфир, хлороформ. Некоторые из солей органических оснований, в том числе алкалоидов (кокаина гидрохлорид, папаверина гидрохлорид), растворимы и в воде, и в хлороформе.

Фенолы растворимы в щелочах с образованием фенолятов (феноксидов). Простые одноатомные и двухатомные фенолы легко растворимы в воде. Фенолы более сложной химической структуры, как правило, в воде нерастворимы. Некоторые азотсодержащие соединения (сульфаниламиды, алкилуреиды сульфокислот, циклические уреиды) растворимы в щелочах с образованием натриевых солей.

Органические вещества, не образующие солей с кислотами и щелочами (производные сложных эфиров, уретаны, ациклические уреиды, ацетаминопроизводные, терпены), обычно нерастворимы (трудно растворимы) в воде и растворимы в органических растворителях.

Имеются группы органических ЛВ, которые очень мало растворимы и в воде, и в органических растворителях (производные нитрофурана, 4-оксикумарина, урацила).

Различаются по растворимости природные биологически активные вещества. Препараты сердечных гликозидов мало растворимы или практически нерастворимы в воде и в эфире. Практически нерастворимы в воде препараты стероидных гормонов. Большинство из них растворимо в растительных маслах и в этаноле. Витамины по растворимости разделяются на две группы: водорастворимые и жирорастворимые. Антибиотики (левомицетин, феноксиметилпенициллин, гризеофульвин, эритромицин) мало растворимы или практически нерастворимы в воде. Натриевые и калиевые соли антибиотиков, а также их соли с хлороводородной, серной кислотой, как правило, хорошо растворимы в воде, но нерастворимы (мало растворимы) в органических растворителях.

Используя указанное различие в растворимости ЛВ, можно осуществить разделение компонентов Л Ф следующими методами.

* + 1. При наличии в смеси Л В, хорошо растворимых в воде и практически в ней нерастворимых, разделение осуществляют обработкой смеси водой с последующим фильтрованием. На фильтре остаются нерастворимые в воде вещества. Так можно отделять от других ингредиентов растворимые в воде неорганические соли, соли органических кислот, соли азотсодержащих органических оснований.
    2. ЛВ, растворимые в органических растворителях, не смешивающихся с водой (хлороформ, эфир), можно отделять от ЛВ, нерастворимых в этих растворителях. Разделение выполняют путем экстракции хлороформом или эфиром. Так можно отделять ароматические кислоты и органические основания от солей неорганических и органических кислот, а также от солей органических оснований.
    3. ЛВ, растворимые в органических растворителях, можно отделять от некоторых алифатических кислот и производных фенолов. Последние необходимо предварительно действием щелочей превратить в водорастворимые феноксиды (феноляты). Затем растворителем, не смешивающимся с водой (хлороформом или эфиром), извлекают ЛВ, растворимые в этих растворителях.
    4. Для отделения ЛВ, растворимых в хлороформе или эфире, от органических оснований последние предварительно нейтрализуют кислотами. Полученные соли оснований остаются в водном растворе.
    5. Соли органических оснований можно предварительно превратить в основания путем нейтрализации связанных кислот щелочами. Образующиеся органические основания затем экстрагируют хлороформом или эфиром.

Если, пользуясь описанными методами, удается количественно разделить компоненты смеси, то каждый из них затем определяют тем или иным титриметрическим методом. При разделении смесей, содержащих три компонента и более, нередко получаются двухкомпонентные экстракты веществ с одинаковой растворимостью. Их анализируют методами осаждения или кислотно-основного титрования, последовательно определяя каждый из компонентов.

Следует учитывать, что ЛВ, мало растворимые в воде или в органическом растворителе, частично извлекаются вместе с отделяемым компонентом. Это нередко не дает возможности выполнить количественное разделение смеси. Необходимо также обращать внимание на отсутствие примеси воды в органическом растворителе. Разделение сухих ЛФ таким растворителем приводит к частичной экстракции ЛВ, растворимых в воде.

После извлечения ЛВ органическим растворителем последний обычно вначале удаляют, а затем проводят титрование. Органические основания, в т.ч. основания алкалоидов, извлекают из смесей хлороформом. Растворитель отгоняют, остаток растворяют в воде или в этаноле и титруют хлороводородной кислотой, используя индикатор, соответствующий константе диссоциации основания.

Количественное определение методом нейтрализации некоторых смесей, содержащих соли органических кислот и соли органических оснований, выполняют в присутствии органических растворителей (хлороформа, эфира). Последние извлекают выделяющуюся органическую кислоту или органическое основание в процессе титрования. Извлечение необходимо, так как, проявляя кислотные или основные свойства, они могут повлиять на результаты титрования.

Если в смеси содержатся гидрохлорид органического основания и неорганическая кислота, то вначале титруют сумму кислот (связанной и свободной). Затем отдельно титруют хлороводородную кислоту, связанную с органическим основанием, аргентометрическим методом по хлорид-иону. Содержание рассчитывают по разности израсходованных титрованных растворов гидроксида натрия и нитрата серебра одинаковой молярной концентрации.

4. Физико-химические методы анализа многокомпонентных лекарственных форм

4.1 Количественный анализ смесей без предварительного разделения компонентов

Физико-химические методы дают возможность выполнения анализа двух- и даже трехкомпонентных смесей без предварительного разделения с достаточной для фармацевтического анализа точностью.

Из электрохимических методов для количественного определения многокомпонентных лекарственных форм используют полярографию и потенциометрию. Полярографическим методом можно, например, анализировать витамины (тиамин, рибофлавин, пиридоксин, кислоту аскорбиновую) в смесях. Метод неводного титрования в сочетании с потенциометрией позволяет в одной навеске без разделения последовательно определять содержание нескольких компонентов. Это обусловлено улучшением условий кислотно-основного титрования за счет объективного установления точки эквивалентности с помощью индикаторного и стандартного электродов.

Фотоколориметрическим методом при подборе соответствующих цветных реакций определяют, как правило, содержание одного из ЛВ в многокомпонентных ЛФ. Так, на основе фенолгипохлоритной реакции можно установить содержание кофеина в смеси. Определению кофеина не мешают около 20 других Л В. Для количественной оценки парацетамола в смесях с метамизолом-натрия, кофеином, салицилатами используют методику, основанную на гидролизе и последующем диазотировании и азосочетании.

Спектрофотометрический метод определения без предварительного разделения компонентов основан на аддитивности значений оптической плотности всех компонентов смеси при одной длине волны. Спектрофотометрическое определение двух (и более) компонентных ЛФ может быть осуществлено различными способами.

* + - 1. ЛФ содержит два ЛВ, одно из которых имеет максимум светопоглощения, а другое не поглощает УФ-свет в данной области. Спектрофотометрический анализ выполняют как при анализе однокомпонентной ЛФ.
      2. Каждый из двух компонентов смеси имеет свой максимум светопоглощения, в котором второй компонент оптически прозрачен. Последовательно анализируют одно, а затем второе ЛВ в соответствующем максимуме светопоглощения.
      3. ЛФ включает два ЛВ, 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. ЛВ, в максимуме которого другой компонент не поглощает, определяют как в однокомпонентной ЛФ. Метод изолированной абсорбции используют, например, для анализа ацетилсалициловой кислоты в присутствии салициловой.
      4. Если двухкомпонентая ЛФ содержит ЛВ, 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. Предварительно с помощью стандартных образцов устанавливают значения удельных показателей 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 светопоглощения одного ЛВ и минимумом для второго, а при второй длине волны будет наблюдаться обратное явление.
      5. Количественное определение сухих двухкомпонентных ЛФ можно выполнять без предварительного разделения и без вычисления удельных показателей поглощения компонентов. Сущность метода заключается в том, что готовят растворы каждого из компонентов, содержащихся в ЛФ, той же концентрации, что и общая концентрация раствора смеси Сем. Затем при избранной аналитической длине волны измеряют оптическую плотность раствора ЛФ относительно раствора одного из компонентов (А\), а потом оптическую плотность второго компонента относительно раствора ЛФ (Лг).
      6. Широкие возможности в анализе многокомпонентных смесей открывает использование различных методов дифференциальной фотометрии. При дифференциальном фотометрическом анализе смесей, содержащих два компонента, измеряют оптические плотности анализируемого раствора при двух длинах волн. Измерения выполняют относительно растворов сравнения, содержащих стандартные образцы анализируемых ЛВ. Другой вариант метода основан на использовании двух растворов сравнения. Однако каждый из них включает один из компонентов той же концентрации, в которой он содержится в смеси. Поэтому при расчете содержания одного компонента концентрация второго вычитается. Это позволяет добиться высокой точности анализа. Можно достигнуть положительных результатов, используя один и тот же раствор сравнения, состав которого близок к составу анализируемой смеси.
      7. Значительно упрощает выполнение анализа ЛФ применение Д£-спектрофотометрического метода. Он может быть использован в количественном анализе как однокомпонентных ЛФ, так и многокомпонентных смесей. Обязательное условие выполнения анализа — неизменяемость УФ-спектра поглощения компонентов смеси, но изменение его у анализируемого ЛВ, происходящее под действием кислот, щелочей, окислителей, УФ-облучения и др. Использование Д-Е-дифференциального метода исключает влияние светопоглощающих наполнителей, содержащихся в готовых ЛФ.
      8. Перспективным является метод производной спектрофотометрии, или метод ортогональных функций. Он приемлем для определения одного вещества в присутствии другого, если их спектральные кривые аппроксимируются полиномами разных степеней. Наиболее простым вариантом использования ортогональных функций является определение вещества на фоне линейного поглощения примеси, наполнителей или основы ЛФ. Производная спектрофотометрии дает возможность выполнять определение ЛВ в многокомпонентных смесях.

4.2 Количественный анализ смесей после предварительного разделения компонентов

Разделение компонентов смеси основано на различии их растворимости. ЛФ, содержащие более двух светопоглощающих веществ, как правило, предварительно разделяют на отдельные фракции, применяя различные экстрагенты (эфир, хлороформ, растворы кислот, щелочей и др.). Если фракция содержит одно ЛВ, его определяют спектрофотометрическим методом. При наличии в экстракте двух ингредиентов пользуются методом изолированной адсорбции, методом Фирордта и др. Наряду со спектрофотометрией после разделения могут быть использованы другие фотометрические методы.

Метод экстракционной фотометрии позволяет выделять ЛВ из смеси с последующим его определением. Большие возможности создает использование этого метода в анализе органических оснований и их солей, в т.ч. алкалоидов. Наиболее часто применяемые реагенты — метиловый оранжевый и другие красители. С помощью экстракционной фотометрии удалось определить два близких по свойствам вещества: эфедрин и димедрол, а также другие смеси.

Тонкослойная хроматография (ТСХ) особенно широко используется в анализе Л Ф, содержащих практически во группы ЛВ. Разделение с помощью ТСХ сочетают с количественным определением непосредственно на хроматограммаили после элюирования ЛВ, используя для этой цели различные методы.

* + - * 1. Раствор ЛФ хроматографируют, проявляют хроматограмму и производят сравнительную оценку площади пятен анализируемого ЛВ и стандартного образца. Измерения выполняют планиметрически, рассчитывая площадь пятна по ради усам его зон.
        2. Сочетают разделение с помощью ТСХ и спектрофотометрическое определение непосредственно на хроматограммах. Способ применяют для анализа смесей алкалоидов, сульфаниламидов, стероидных гормонов. Точность его сравнительно мала.
        3. Измеряют интенсивность окраски пятна на хроматограмме, пользуясь денситометрическим методом, а также методами, основанными на измерении интенсивности отражения или флуоресценции. Способ применим для анализа витаминов, гликозидов.
        4. Элюируют Л В из соответствующих зон тонкослойной хроматограммы стандартного образца и ЛФ. Затем в каждом из элюатов устанавливают концентрацию Л В, применяя для этого оптические методы, полярографию и др. Но чаще все го анализ Л В в элюатах осуществляют методами УФ-спектрофотометрии или фотоколориметрии.

Газожидкостная хроматография (ГЖХ). В отличие от ТСХ и иных видов хроматографии в ГЖХ не требуется сочетание с другими методами для количественной оценки состава анализируемой смеси. С помощью ГЖХ можно разделить и установить подлинность и выполнить количественное определение ЛФ, содержащих до 8-10 компонентов.

Высокоэффективную жидкостную хроматографию используют для разделения и количественного определения близких по химической структуре веществ производных фенотиазина, сульфаниламидов, антибиотиков тетрациклинового ряда. Метод приемлем, например, для определения трехкомпонентных смесей алкалоидов. ВЭЖХ оказалась эффективной и при анализе современных мультивитаминных ЛС, содержащих до 13 витаминов и 18 микроэлементов в одной ЛФ. Трудности анализа обусловлены малым содержанием этих веществ (от нескольких микрограммов до сотен миллиграммов).

Для количественного определения многокомпонентных смесей иногда сочетают титриметрические и физико-химические методы. Такой способ весьма эффективен при анализе трех (и более) компонентов в смеси. Чаще применяют сочетание титриметрических методов с фотометрическими, например, при анализе смеси эфедрина и папаверина гидрохлоридов и натрия бензоата используют фотометрический метод для определения эфедрина, остальные компоненты титруют в неводной среде.

Многокомпонентные ЛФ можно также определять, сочетая титриметрические методы в водной и неводной средах со спектрофотометрией. Исключить процесс разделения ингредиентов двух- и трехкомпонентных смесей можно сочетанием дифференцированного потенциометрического и фотометрического титрования в среде неводных растворителей с использованием нескольких индикаторов.