

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ЗАПОРІЗЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ

КАФЕДРА УПРАВЛІННЯ І ЕКОНОМІКИ ФАРМАЦІЇ ТА ТЕХНОЛОГІЇ ЛІКІВ

ФАРМАКОГНОЗІЯ

НАВЧАЛЬНО-МЕТОДИЧНИЙ ПОСІБНИК

до практичних занять

провізорів-інтернів спеціальності

«Загальна фармація»

Запоріжжя

2020

УДК 615.322(075.8)

Є 70

*Затверджено на засіданні Центральної методичної Ради ЗДМУ
(протокол № від « » 2020 р.)
та рекомендовано для використання у навчальному процесі*

Автори:

Єренко О. К., Смойловська Г. П., Хортецька Т. В.

Рецензенти:

Парченко Володимир Володимирович – професор кафедри природничих дисциплін для іноземних студентів та токсикологічної хімії Запорізького державного медичного університету, доктор фармацевтичних наук, професор.

Гречана Олена Володимирівна – доцент кафедри фармакогнозії, фармакології та ботаніки Запорізького державного медичного університету, кандидат фармацевтичних наук, доцент.

С70 Фармакогнозія : навчально-методичний посібник до практичних занять провізорів-інтернів зі спеціальності «Загальна фармація» / О. К. Єренко, Г. П. Смойловська, Т. В. Хортецька. – Запоріжжя : ЗДМУ, 2020. – 120 с.

Навчально-методичний посібник «**Фармакогнозія**: навчально-методичний посібник до практичних занять провізорів-інтернів зі спеціальності «Загальна фармація» складений відповідно до типової програми провізорів-інтернів та робочою програмою «Фармакогнозія». У посібнику приведені основні методичні підходи до проведення практичних занять провізорів-інтернів з урахуванням сучасних тенденцій розвитку технології вирощування лікарських рослин, охорони навколишнього середовища. Провізори-інтерни під час навчання отримують уявлення про стан рослинних ресурсів лікарських рослин в Україні, їх раціональне використання, ознайомлюються з асортиментом лікарської рослинної сировини, яка широко використовується у фармацевтичній промисловості та практичній фармації.

УДК 615.322(075.8)

Розглянуто та затверджено:

на методичному засіданні кафедри управління і економіки фармації та технології ліків
(протокол № 14 від 13.01 2020 р.);

ЦМК з фармацевтичних дисциплін
(протокол № від « » 2020 р.)

©Запорізький державний медичний університет, 2020

ЗМІСТ

Перелік умовних скорочень	4
Вступ	5
Тема 1. Сучасні лікарські засоби рослинного походження, які застосовуються у медичній практиці.	6
Тема 2. Особливості стандартизації та встановлення специфікацій на ЛРС відповідно до вимог ДФУ	18
Тема 3. Фізико-хімічні методи контролю якості ЛРС та лікарських засобів рослинного походження	48
Тема 4. Сучасні методи контролю якості гомеопатичних засобів рослинного походження	83
Тема 5. Особливості проведення контролю якості та підтвердження відповідності засобів лікувальної косметики рослинного походження	104
Рекомендована література	117

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ СКОРОЧЕНЬ

- БАР – біологічно-активні речовини
- ВЕРХ – високоефективна рідинна хроматографія;
- ВООЗ – Всесвітня організація охорони здоров'я
- ГХ – газова хроматографія
- ДФУ – Державна Фармакопея України;
- ЛЗ – лікарський засіб
- ЛР – лікарська рослина;
- ЛРС – лікарська рослинна сировина;
- МОЗ – Міністерство охорони здоров'я України
- РХ – рідинна хроматографія
- ТШХ – тонкошарова хроматографія;
- УФ – ультрафіолетова;
- ЦНС – центральна нервова система

ВСТУП

Навчально-методичний посібник «Фармакогнозія» до практичних занять провізорів-інтернів розроблено згідно з типовим навчальним планом, затвердженим МОЗ України, робочим навчальним планом інтернатури зі спеціальності «Загальна фармація» та робочою програмою «Фармакогнозія».

Теми занять запропоновані в логічній послідовності і взаємозв'язку з урахуванням значення кожної теми для практичної діяльності провізора.

По кожному практичному заняттю визначені: тема, мета та мотивація заняття по здобуванню провізорами-інтернами основних практичних навиків. Практичний розділ має на меті кількісну оцінку ресурсів кожного рослинного об'єкта, розраховану за результатами експедиційних досліджень, і вирішує наступні завдання: відбір лікарських рослин для заготівлі, регіони їх зростання, обсяг польових робіт, підбір симптоматичної фітотерапії для кожного окремого випадку захворювань.

Провізори-інтерни під час навчання отримують уявлення про стан рослинних ресурсів лікарських рослин в Україні, їх раціональне використання, ознайомлюються з асортиментом лікарської рослинної сировини, яка широко використовується у фармацевтичній промисловості та практичній фармації. Більш повному освоєнню курсу сприяє виконання індивідуального завдання та проробка тестових завдань, які подані до кожної теми.

Методичний посібник «Фармакогнозія» доповнений у зв'язку з виходом другого видання Державної фармакопеї України; Настанови 42-5.1-2011. Лікарські засоби. Належна практика зберігання; Настанови 42-4.5:2012. Лікарські засоби. Належна практика культивування та збирання вихідної сировини рослинного походження.

ТЕМА 1. Сучасні лікарські засоби рослинного походження, які застосовуються у медичній практиці.

Мета: ознайомлення з сучасними лікарськими засобами рослинного походження, які застосовуються у медичній практиці при захворюваннях печінки і жовчовивідних шляхів; отримати знання про властивості лікарських рослин, їх вплив на організм та використання різних лікарських засобів з них.

Форма та тривалість заняття: практичне (2 години)

Провізор-інтерн повинен уміти:

1. Заготовляти ЛРС, що впливає на жовчовиділення;
2. Проводити стандартизацію сировини шляхом досушування, зволоження, сортування та подрібнення;
3. Готувати в домашніх умовах збір, відвар, настій, сік для лікування хвороб печінки і жовчовивідних протоків, дискінезії жовчного міхура і жовчовивідних шляхів.

Мінімальний обсяг теоретичного матеріалу:

Незважаючи на активний розвиток науково-технічного прогресу, що дозволяє застосовувати інноваційні підходи до розробки лікарських засобів різноманітного складу, суттєво зріс інтерес саме до препаратів рослинного походження. Майже 75 % пацієнтів надають перевагу фітопрепаратам. Це зумовлено багатьма факторами, у тому числі багатовекторністю механізму дії засобів рослинного походження та їхньою відносною безпечністю.

За даними ВООЗ хронічними захворюваннями печінки і жовчовивідних шляхів страждають біля 29 млн. мешканців європейських країн. При захворюваннях гепатобіліарної системи часто порушується не тільки зовнішньосекреторна функція, а й інші функції печінки, що негативно впливає

на перебіг захворювання. У зв'язку з цим виникає потреба у використанні лікарських засобів, які стимулюють функції печінки і жовчних шляхів.

Препарати жовчогінної дії можна поділити за походженням основних діючих речовин на ЛЗ рослинного походження, в яких використовуються екстракти лікарських рослин; препарати тваринного походження, до складу яких входять екстракти печінки великої рогатої худоби або виділені з них пептиди, а також препарати на основі різноманітних амінокислот, вуглеводів (малату, лактулози), натрію, калію, хлору, вітамінів, що служать коферментами печінкових ензимів (пантотенат, рибофлавін, біотик тощо).

Для лікування хвороб печінки і жовчовивідних протоків, дискінезії жовчного міхура і жовчовивідних шляхів, жовчокам'яної хвороби, холециститу і холангіту, гепатиту та цирозу печінки використовуються більше 28 видів рослин. Найбільш часто зустрічаються наступні: родина Айстрові – арніка обліснена, великоголовник сафлоровидний, волошка синя, деревій звичайний, кульбаба лікарська, нагідки лікарські, полин волотистий, пижмо звичайне, сідач коноплевидний, цикорій звичайний, цмин піщаний, череда трироздільна (поникла, промениста), чорнобривці простерті, розторопша плямиста; родина Білосорові – білозір болотний; родина Бобові – астрагал шерстистоквітковий, вовчуг польовий, конюшина люпинова (повзуча), солодець голий (уральський); родина Вересові – мучниця звичайна; родина Геранієві – герань криваво-червона; родина Губоцвіті – живучка туркестанська, залізник бульбистий, чебрець звичайний, чистець прямий (болотний), шоломниця байкальська; родина Звіробійні – звіробій звичайний; родина Зонтичні – ласкавець круглолистий; родина Жовтцеві – товстоплідник рутковий; родина Півникові – шафран посівний; родина Коноплеві – коноплі посівні; родина Розові – гадючник звичайний, горобина чорноплідна, приворотень звичайний, родовик лікарський, шипшина собача, яблуня ягідна та інші.

Фармацевтична промисловість багатьох країн світу випускає різноманітні жовчогінні засоби рослинного походження, а саме препарати на основі флаволігнанів розторопші плямистої (Сілібор, Легалон, Лепротек, Флавобіон,

Карсил, Силімарин, Силегон), лікарські засоби індійського виробництва (Лів-52, Гепалів, Ліва, Лівмег, Лівомін) та цілий ряд інших препаратів. Для їх виготовлення використовують насіння та плоди розторопші. Олія, екстракт і шрот насіння розторопші добре впливають на обмін речовин, підвищують опірність організму до різних захворювань, володіють антиалергенними і детоксикаційними властивостями, завдяки унікальному набору полінасичених жирних кислот в оптимальному співвідношенні. Виявлена антиоксидантна, антимуtagenна, мембранопротекторна, ранозагоювальна дії олії розторопші. Також фармацевтична промисловість багатьох країн світу випускає фітопрепарати на основі артишоку (Артихол, Артишоку екстракт ГЕКСАЛ®, Артишок САНДОЗ, Артишок-Астрафарм, Білікур, Гепабель, Гепар-пос, Гепатітол, Гепацинар, ПМ Сірін, Рафахолін Ц, Фарковіт В₁₂, Хофітол, Цинарікс, Цинахолін). З лікарською метою використовуються переважно листя, які заготовляють в період цвітіння артишоку. Сушать їх, як звичайно, в тіні або в сушарках при 35 градусах. Також використовують м'ясисті квітколожа кошиків, потовщені підстави нижніх рядів обгортки. Артишок і препарати на його основі завдяки вмісту цинарину мають виражену жовчогінну, сечогінну дію, знижують рівень холестерину, є протиотрутами при отруєнні алкалоїдами. Ефективне застосування артишоку при лікуванні алергічних реакцій (сироваткової хвороби, кропив'янки) і захворювань шкіри (псоріаз, екзема). При підвищеному вмісті в крові азотистих продуктів обміну (азотемії), яке зумовлене порушенням нормального функціонування нирок, артишок збільшує діурез, посилює концентраційну функцію нирок, покращує загальний стан. Артишок має деякі цукрознижуючі дії за рахунок нормалізації обмінних процесів в організмі, регулює функціональний стан кишечника, корисний при схильності до запорів. Використовується також як харчова рослина в якості дієтичного засобу при порушенні обміну речовин, цукровому діабеті, атеросклерозі, захворюваннях печінки і нирок, при фізичному виснаженні, у відновлювальний період після важких захворювань.

ЕТИОТРОПНА ФІТОТЕРАПІЯ ЗАХВОРЮВАНЬ ГЕПАТОБІЛІАРНОЇ СИСТЕМИ.

- Протимікробні засоби. Застосовують синтетичні антибактеріальні засоби, а також як допоміжний засіб збори з ЛРС протимікробної дії (листя берези, листя шавлії, листя кропиви, листя подорожнику, трава звіробою, трава полину, трава споришу, трава грициків, квітки нагідок, кореневища гірчаку зміїного та ін.).

- Нормалізація відтоку жовчі. Застою жовчі сприяє малорухливий спосіб життя, рідкі та об'ємні застосування їжі та інші чинники. Для нормалізації використовують жовчогінні лікарські засоби.

- Лікування захворювань, що стали причиною гепатобіліарних розладів. Також нормалізація функціонального стану ЦНС, для цього використовують седативні засоби (кореневища з коренями валеріани, трава кропиви собачої, трава меліси, квітки лаванди).

ПАТОГЕНЕТИЧНА ТЕРАПІЯ.

- Однією з найважливіших ланок патогенетичної терапії гепатобіліарних захворювань є відновлення відтоку жовчі та стабілізація її складу за допомогою жовчогінних препаратів. Окрім цього, жовчогінні лікарські рослини сприяють зменшенню запальних процесів, а деякі з них запобігають розвитку дистрофічних процесів печінки. Фітотерапію призначають з урахуванням форми захворювання (дискінезія жовчовивідних шляхів, холецистохолангіт, жовчнокам'яна хвороба, хронічний гепатит), періоду (загострення, ремісії), типу дискінетичних розладів (гіпокінезія, гіперкінезія).

ЛРС, що впливає на жовчовиділення, розподіляють на три основні групи: **холеретики, холекінетики та холеспазмолітики**. При гіперкінетичній формі дискінезії рекомендують призначення холеретиків сумісно зі спазмолітиками, а при гіпокінетичній – холеретики сумісно із холекінетиками.

Холеретиками називають лікарські препарати, що посилюють виділення жовчі гепатоцитами. Серед холеретиків виділяють справжні холеретики та гідрохолеретики. До дійсних холеретиків належать засоби, що стимулюють

жовчоутворення та синтез жовчних кислот у печінці. До них належать квітки цмину піскового (*Helichrysum arenarium* L.), корені барбарису (*Berberis vulgaris* L.), плоди шипшини (*Rosa canina* L.), кукурудзяні стовпчики (*Zéa máys*), листя м'яти перцевої (*Mentha piperita*), трава полину гіркокого (*Artemisia absinthium*). Гідрохолеретики посилюють жовчовиділення тільки завдяки водному компоненту. До них відносять препарати валеріани лікарської (*Valeriana officinalis*), женьшеню (*Panax ginseng*).

Холекінетиками називають лікарські препарати, що ліквідують застій жовчі в жовчному міхурі та посилюють процес його випорожнення. До них належить кукурудзяна, маслинова та соняшникова олії, сорбіт, який входить до складу плодів горобини звичайної (*Sorbus aucuparia*).

Рослинні холекінетики (жовчогінна дія): листя брусниці, бобівника; квіти волошки, нагідок, ромашки, пижма; трава рутки, материнки, грициків, чебрецю, деревію; плоди ялівцю, кмину, шипшини, фенхелю; корені кульбаби, барбарису, ревеню.

Холеспазмолітики усувають спазм жовчних шляхів, що призводить до посилення відтоку жовчі. До них відносять листя м'яти перцевої, барбарису, кореневища айру (лепеха).

Необхідно враховувати той факт, що лікарські рослини впливають на організм різнобічно. Наприклад, барбарис та м'ята перцева проявляють холеретичну та спазмолітичну дію, тому доцільно їх відносити до лікарських рослин з переважною холекінетичною або холеспазматичною дією.

- Протизапальна терапія (листя мати-й-мачухи, листя подорожника, трава материнки, трава чебрецю плазкого, квітки ромашки, кореневища гірчака зміїного);

- Рослинні гепатопротектори. Препарати есенціальних фосфоліпідів сої, флаволігнанів розторопші, а також їх сумарні препарати та засоби з артишоку, насіння гарбуза, цмину піскового мають гепатопротекторні та жовчогінні, протизапальні властивості та є важливою складовою лікування.

СИМПТОМАТИЧНА ФІТОТЕРАПІЯ.

Спрямоване на усунення больового синдрому. Для цього застосовують спазмолітичні фітозасоби (плоди анісу звичайного, кмину, фенхелю, кореневища айру, листя меліси, квітки липи та ін.), що не тільки допомагають зменшити больові відчуття, а також нормалізувати відтік жовчі.

Фітозасоби, що застосовуються при захворюваннях гепатобіліарної системи

Препарат	Діюча речовина	Фармакологічна дія
Гепабене	Екстракт рутки лікарської, кумарин, екстракт розторопші плямистої, силімарин, силібінін	Жовчогінна дія, нормалізує кількість жовчі, що секретується. Викликає холеспазмолітичний ефект. Гепатопротекторна, мембраностабілізуюча, антиоксидантна дія.
Дарсіл	Силімарин, отримана з екстракту плодів рослини розторопші плямистої	Стабілізує клітинні мембрани, створює конкуруючу взаємодію з рецепторами в мембранах гепатоцитів до відповідних токсинів
Піфламін	Сухий екстракт з трави гороху посівного	Має антиоксидантні, протизапальні, мембраностабілізуючі, метаболічні властивості. Хронічні ураження печінки: гепатози, гепатити вірусного та токсичного походження
Гепатофіт	Квітки цмину піскового, трава галеги лікарської, квітки календули, листя кропиви,	Має гепатопротекторну дію, поліпшує антитоксичну функцію печінки, посилює жовчовиділення, має холеспазмолітичну, помірну гіпоглікемічну дію. Показаний при захворювань печінки та жовчовивідних

	корені кульбаби, плоди розторопші плямистої, кукурудзяні рильця, стулки плодів квасолі звичайної, плоди шипшини	шляхів (хронічний гепатит, хронічний холецистит, холангіт, дискінезії жовчовивідних шляхів за гіпертонічним типом), у комплексній терапії цукрового діабету.
Силімарин Сандоз	Силімарин	Гепатопротекторний, антиоксидантний, жовчогінний ефекти. Гострі й хронічні гепатити, при дистрофії та жировій інфільтрації печінки, у комплексному лікуванні цирозу печінки, порушеннях ліпідного обміну
Силімарол	Силібінін	Гепатопротекторна дія. Стан після перенесеного гепатиту вірусної та токсичної етіології, хронічний гепатит, жировий гепатоз, для профілактики токсичних уражень печінки, цироз печінки; активна форма гепатиту

Питання для самоконтролю:

1. ЛРС, що впливає на жовчовиділення.
2. Симптоматична фітотерапія. Які спазмолітичні фітозасоби застосовуються для нормалізації відтоку жовчі та допомагають зменшити больові відчуття?
3. Фітозасоби, що застосовуються при захворюваннях гепатобіліарної системи.
4. Етіотропна фітотерапія захворювань гепатобіліарної системи. ЛРС протимікробної дії.

Практична робота

Завдання 1. Із перелічених препаратів (Антраль, Карсил, Цинахолін, ПМ Сірін, Дарсіл) виберіть фітопрепарат, що містить спиртовий екстракт трави артишоку та заповніть таблицю.

Препарат	Лікарська форма	Показання	Протипоказання	Термін придатності

Завдання 2. Плоди розторопші – сприяють покращенню роботи печінки, захищають від інфекцій та отруень. Розторопша підсилює утворення жовчі та прискорює її виведення, що, своєю чергою, нормалізує травлення й обмін речовин. Впишіть назви препаратів, що містять плоди розторопші та заповніть таблицю.

Препарат	Лікарська форма	Показання	Протипоказання

Завдання 3. Заповніть таблицю.

Препарат	Лікарська форма	Діюча речовина	Фармакологічна дія
Хофітол			
Дарсил			
Цинарікс			
Карсил			
Артіхол			
Цинахолін			

--	--	--	--

Еталон розв'язання практичного завдання

Завдання 1. Із перелічених препаратів (Антраль, Карсил, Цинахолін, ПМ Сірін, Дарсіл) виберіть фітопрепарат, що містить спиртовий екстракт трави артишоку та заповніть таблицю.

Препарат	Лікарська форма	Показання	Протипоказання	Термін придатності
Цинахолін	Розчин	Дискінезія жовчовидільних шляхів, холецистит, хронічний гепатит; допоміжний засіб при гіпергліпідемії; профілактичний засіб при крихкості кровоносних судин.	Разова доза препарату (2.5 мл) містить близько 0.9 г етанолу. При жовчнокам'яній хворобі застосовувати препарат тільки після консультації з лікарем. Не слід призначати препарат дітям до 12 років.	3 роки

Тести для виявлення кінцевого рівня знань

1. Артишок (*Cynara scolymus* L.) і препарати на його основі завдяки вмісту цинарину мають виражену жовчогінну, сечогінну дію, знижують рівень холестерину, є протиотрутами при отруєнні алкалоїдами. Застосовують в

лікуванні захворювань печінки і жовчовивідних шляхів у дорослих і дітей.

Вкажіть, що являється ЛРС артишоку посівного?

- A. Листя
- B. Трава
- C. Корні
- D. Листя, нерозпущені квіткові кошики
- E. Плоди

2. До складу комплексного препарату «Гепабене» входить:

A. Екстракт рутки лікарської, кумарин, екстракт розторопші плямистої, силімарин, силібінін

B. Порошок кореневищ і коренів розторопші плямистої, силібінін

C. Силімарин, силібінін, відвар кореневищ і коренів рутки лікарської

D. Рідкий екстракт марени красильної, силімарин, силібінін

E. Сухий екстракт марени красильної, екстракт рутки лікарської

3. До якої родини належить артишок посівний:

- A. Rosaceae
- B. Lamiaceae
- C. Poaceae
- D. Violaceae
- E. Asteraceae

4. БАР з сировини артишоку посівного входить до складу препарату:

- A. Корвалол
- B. Сальвін
- C. Камелон
- D. Трибуспонін
- E. Хофітол

5. До складу препарату Хофітол входять БАР:

- A. Брусниці
- B. Мучниці звичайної
- C. Верби гостролистої

D. Родіоли рожевої

E. Артишоку посівного

6. Препарат «Дарсил» застосовується при захворюваннях печінки. Діюча речовина лікарського засобу – силімарин, отримана з екстракту плодів рослини

...

A. Розторопші плямистої

B. Родіоли рожевої

C. Подорожника великого

D. Мучниці звичайної

E. Артишоку посівного

7. Силімарин є рослинною активною складовою частиною лікарського засобу Карсил, отриманою з екстракту плодів рослини розторопші плямистої (*Silybum marianum*). Якою фармакологічною дією володіє даний препарат?

A. Гепатопротекторна

B. Антиоксидантна

C. Протизапальна

D. Гепатопротекторна, протизапальна, антиоксидантна

E. Гепатопротекторна та антиоксидантна

8. Яку лікарську рослину застосовують в якості спазмолітичного засобу, що допомагає зменшити больові відчуття, а також нормалізувати відтік жовчі?

A. Оман високий

B. Полин звичайний

C. Подорожника великого

D. Аніс звичайний

E. Артишоку посівного

9. Холекінетиками називають лікарські препарати, що ліквідують застій жовчі в жовчному міхурі та посилюють процес його випорожнення. До них належить

A. Соняшникова олія

B. Сорбіт, який входить до складу плодів горобини звичайної

С. Маслинова олія

Д. Кукурудзяна, маслинова та соняшникова олії

Е. Кукурудзяна, маслинова та соняшникова олії, сорбіт, який входить до складу плодів горобини звичайної.

10. Холеспазмолітики усувають спазм жовчних шляхів, що призводить до посилення відтоку жовчі. До них відносять...

А. Листя подорожника великого, кореневища оману

В. Кореневища айру, трава полину звичайного

С. Листя м'яти перцевої, барбарису, кореневища айру

Д. Плоди анісу звичайний, квіткові кошики артишоку посівного

Е. Листя, нерозпущені квіткові кошики артишоку посівного

ТЕМА 2. Особливості стандартизації та встановлення специфікацій на ЛРС відповідно до вимог ДФУ

Мета: вивчення наявної аналітично-нормативної документації, що регламентують збір, вирощування, аналіз лікарської рослинної сировини та вимоги до фітозасобів, що виготовляють на Україні.

Форма та тривалість заняття: практичне (2 години)

Провізор-інтерн повинен уміти:

1. проводити відбір проб для товарознавчого аналізу;
2. проводити макроскопічний аналіз ЛРС;
3. проводити мікроскопічний аналіз ЛРС;
4. складати документацію щодо приймання та проведення товарознавчого аналізу ЛРС.

Мінімальний обсяг теоретичного матеріалу:

АНАЛІТИЧНО-НОРМАТИВНА ДОКУМЕНТАЦІЯ НА ЛРС ТА ФІТОЗАСОБИ.

На даний час в Україні законодавчо затверджено проведення інтеграції до Європейського Союзу, що, в свою чергу, потребує приведення законодавчої бази тощо стандартизації лікарської рослинної сировини та фітопрепаратів до вимог, що існують у ЄС. В Україні вже набули чинності такі гармонізовані документи, як Державна фармакопея України, що гармонізована з Європейською фармакопеєю, нормативні документи МОЗ, що гармонізовані з нормативними документами ЄС, Міжнародної конференції з гармонізації технічних вимог до реєстрації лікарських препаратів для людини (ICH), Конвенція фармацевтичних інспекцій (PIC) і Системи співробітництва фармацевтичних інспекцій (PIC\S) та ін.

Стандартизація лікарської рослинної сировини і засобів - встановлення на рівні держави або галузі суворо визначених норм якості сировини, продукції, методів випробувань та ін., які обов'язкові для виробника фармацевтичної продукції.

Також стандартизацією називають доведення лікарської рослинної сировини та продукції з неї до стандартного стану. Стандартним станом є такий стан, що відповідає вимогам аналітично- нормативної документації.

Аналітично-нормативна документація - це нормативи, що характеризують фізичні, хімічні, біологічні показники, вміст діючих речовин у ЛРС та лікарських засобах, виготовлених із неї. У цій документації викладено вимоги до ЛР або фітопрепаратів, на підставі яких проводиться аналіз. Вона обов'язкова для всіх, хто займається заготівлею, переробкою та використанням ЛРС.

Головним завданням стандартизації є створення єдиної системи МКЯ, що визначає прогресивні вимоги до продукції, її розробок, виробництва і застосування, а також контроль за можливістю та вірністю користування цією документацією.

Стандарт розробляється як на матеріальні предмети (продукцію, еталони, зразки речовин), так і на норми, правила, вимоги різного характеру.

На даний час законодавчо прийняті такі стандарти: Настанова 42-5.1-2011. «Лікарські засоби. Належна практика зберігання»; Настанова 42-4.5:2012. «Лікарські засоби. Належна практика культивування та збирання вихідної сировини рослинного походження»; Настанова 42-4.0-2015. «Лікарські засоби. Належна виробнича практика» та ін.

Обов'язкові норми й вимоги на лікарську рослинну сировину і лікарські засоби, наведені у стандартах, часто узагальнено називають методами контролю якості. МКЯ на лікарську сировину і лікарські засоби згідно із ГСТ 42У-1-92 «Порядок розробки, узгодження і затвердження аналітично-нормативної документації на лікарські засоби і лікарську рослинну сировину» ділять на такі категорії:

ДФ - державна фармакопея;

ГСТ - галузевий стандарт;

КНД - керівний нормативний документ (інструкції, методичні вказівки);

ФС - фармакопейна стаття;

ТФС - тимчасова фармакопейна стаття;

ТУ - технічні умови.

Тимчасові фармакопейні статті розробляються на нові види лікарської рослинної сировини, рекомендовані Державним експертним центром лікарських засобів МОЗ України для застосування у медичній практиці, на новий лікарський засіб, а також на стандартний зразок, якщо він існує при контролі якості лікарського засобу. ТФС затверджуються на обмежений термін, який встановлюється залежно від ступеня опрацювання лікарського засобу в умовах виробництва, але не більше ніж на 3 роки.

Фармакопейні статті розробляються замість ТФС на лікарську сировину і лікарські засоби серійного виробництва. Перегляд ФС має здійснюватися не рідше одного разу упродовж 5 років. З уведенням у дію ФС втрачає силу раніше чинна ТФС на цей вид сировини чи засіб.

ФС - включає перелік нормованих показників і методів випробувань для конкретної групи ЛРС, опис фізичних, хімічних, фізико-хімічних, біологічних, мікробіологічних методів аналізу, вимоги до якості реактивів, титрованих розчинів і індикаторів.

ФС на лікарську рослинну сировину мають однакову структуру, зміст і виклад матеріалу.

У заголовку статті - назва ЛРС: українська назва (для усіх монографій), латинська назва (для усіх монографій), англійська назва (тільки для монографії на ЛРС, що описані в ЄФ).

У вступній частині наводиться короткий опис ЛРС та вміст діючих речовин, на які проводиться кількісне визначення. У опис включають частину або всю інформацію, що наведена нижче:

- стан сировини: ціла, фрагментована, очищена, різана, свіжа або суха;
- повну наукову назву рослини (рід, вид, підвид, різновид, автор), узяті із Kew Index і його доповнень (International Plant Names Index IPNI); можна також привести широко вживані синоніми;
- використовувану частину або частини рослини;
- якщо доцільно, стадію ростового циклу у момент збирання врожаю, або іншу необхідну інформацію;
- де можливо, мінімальний вміст кількісних компонентів (компонентів з відомою терапевтичною активністю або маркерів).

Розділ «Ідентифікація» включає випробування, що виконуються з метою ідентифікації лікарської сировини.

Монографія може включати Першу ідентифікацію і спрощену Другу ідентифікацію, що зручно для використання в тих випадках, коли необхідні для основних ідентифікаційних тестів прилади відсутні, або проведення випробувань недоцільне з інших причин. Деякі випробування можуть бути вказані в обох ідентифікаційних тестах: в «Першій ідентифікації» і в «Другій

ідентифікації». Застосування Першої і Другої ідентифікації визначене в Загальних зауваженнях до ЄФ/ДФУ.

Розділ «Ідентифікація» вноситься на підставі заяви про проведення двох ідентифікацій. Приклад: Перша ідентифікація: А, В, С, Е. Друга ідентифікація: В, D.

А. Макроскопічні ботанічні властивості. Важливі макроскопічні ботанічні властивості ЛРС приводяться для того, щоб забезпечити виконання чіткої ідентифікації. Якщо два види/підвиди однієї і тієї самої рослини включені в опис, то вказують індивідуальні відмінності між ними.

В. Мікроскопічні ботанічні властивості. У мікроскопічному дослідженні лікарської сировини, здрібненої на порошок, описують основні або найбільш специфічні властивості, включаючи, якщо необхідно, дослідження продихів і продихового індексу. Вказують колір порошку, номер сита (використовують № 355, якщо немає обґрунтованої причини поступити інакше) і використовуювані реактиви для мікроскопічного дослідження. Може знадобитися виконання мікроскопічного дослідження з використанням гістологічного середовища в кількості більш за одне, щоб ідентифікувати специфічні властивості. Для опису індивідуальних властивостей може бути призначений специфічний барвник. Монографії можуть містити схематичні малюнки основних мікроскопічних ознак подрібненої на порошок ЛРС.

С. Тонкошарова хроматографія. Можливі 2 типи подання змісту ТШХ тесту. ТШХ, призначена тільки для ідентифікації ЛРС. У цьому випадку ТШХ призначена для опису хроматограми лікарської сировини по відношенню до вибраних речовин порівняння (стандартних речовин), які або описані як реактиви, або є фармакопейними стандартними зразками. Там, де це можливо, як речовини порівняння використовують існуючі реактиви, що описуються в розділі 4.1.1 Комерційна назва ТШХ пластинки, використовуваної при розробці монографії, включають як виноску до монографії. Звичайно, як мінімум, 2 стандартні речовини повинні використовуватися для достовірного опису розташування зон та розділення між ними. У ФС чітко зазначено інформація

про приготування розчину порівняння і випробовуваного розчину в умовах проведення хроматографії. Якщо можливо, використовувана методологія має бути такою, щоб об'єми нанесення розчину порівняння і випробовуваного були однаковими.

Загальна стаття з тонкошарової хроматографії включає звичайну ТШХ і високоефективну ТШХ. Якщо обидва методи дають однакові результати при використанні призначених розчинників, способів виявлення і візуалізації, то обидва методи можуть бути включені в робочі умови (умови проведення ВЕТШХ приводять в дужках після умов проведення звичайної ТШХ), інакше перевагу віддають звичайній ТШХ, якщо тільки ВЕТШХ не є основним методом для виконання належної ідентифікації.

Звичайно хроматограми описують у вигляді таблиці, показуючи верхню, середню і нижню третини пластинки, які можуть бути представлені в довільному масштабі. Лише основну зону (зони) на хроматограмі випробовуваного розчину описують в таблиці відносно розташування зон стандартних речовин на хроматограмі розчину порівняння. Звичайно приводять назви компонентів, що виявляються на хроматограмі розчину порівняння. Назви компонентів, що виявляються на хроматограмі випробовуваного розчину приводять тільки в тому випадку, якщо ці компоненти присутні в розчині порівняння, або якщо властивості субстанції добре відомі. Хроматограми не описують в показниках R_f . Зазвичай, слід вказати, що інші зони, не ті, що описані (найчастіше це слабкіші зони), також присутні на хроматограмі випробовуваного розчину.

ТШХ, призначена для випробувань на чистоту і ідентифікації. Якщо випробування методом ТШХ використовується як для контролю фальсифікації, так і для ідентифікації, тоді метод повністю приводять в розділі «Випробування» із перехресним посиланням в розділі «Ідентифікація».

Д. Якісні реакції. Цей розділ ідентифікації майже не розроблено у ДФУ. У ФС де є якісні реакції приводиться методика проведення реакції з описом вимог до сировини, реактивів та умов проведення визначення. Вони повинні

дозволяти провести ідентифікацію швидко і без використання складного обладнання, повинні бути достатньо чутливі, щоб не давати помилковий позитивний результат.

У розділі «Випробування» проводять наступні випробування:

Загальна зола. Це випробування включають завжди, якщо не обумовлене інше. Його слід проводити із подрібненою на порошок сировиною. Не обов'язково вказувати номер сита.

Зола, не розчинна в кислоті хлористоводневій. Це випробування може проводитися залежно від походження конкретної лікарської рослинної сировини і застосовується для виявлення неприйнятних кількостей деяких мінералів.

Тонкошарова хроматографія. ТШХ може застосовуватися в розділі «Випробування» для виявлення видів рослини, які не підпадають під опис. Метод ТШХ повністю приводиться в розділі «Випробування», і якщо це доцільно, також використовується для ідентифікації рослинної сировини. Найменування неприйнятних видів рослини або її компоненту (компонентів) (наприклад, туйон в листі шавлії трилопастної) використовують для назви випробування. На хроматограмі випробовуваного розчину описують тільки розташування і колір зони зон) компоненту (компонентів), які мають бути відсутніми, порівняно з хроматограмою розчину порівняння. Зони, присутні на хроматограмі випробовуваного розчину, не описують в розділі «Випробування», а описують в розділі «Ідентифікація».

Газова хроматографія або рідинна хроматографія. Застосування ГХ або РХ вказують в розділі «Випробування», щоб виявлений вид рослини, який не включений в розділ опису (наприклад, ефірні олії), обмежити деякі компоненти (наприклад, естрагол у фенхелі) або проконтролювати можливий розпад або випарювання будь-якого з компонентів, які мають бути присутніми в сировині в певній кількості (на певному рівні). У розділі включено критерії придатності хроматографічної системи, комерційну назву колонки або колонок, які визнані підходящими в процесі розробки монографії. Репрезентативну хроматограму

включають в проект монографії. Якщо один і той же метод РХ використовують і при кількісному визначенні, і у випробуванні на чистоту, то його повний опис приводять в розділі «Випробування», а в розділі «Кількісне визначення» приводять перехресне посилання.

Сторонні домішки. Сторонні домішки складаються з частин вихідної рослини, які не включені в опис лікарської рослинної сировини, і сторонніх елементів рослинного походження, що не відносяться до виду рослини, приведеного в описі, або мінерального походження, а також будь-якої іншої речовини, не включеної в опис лікарської рослинної сировини. Якщо необхідно, в монографії вказують, яким чином ідентифікують сторонню домішку. У деяких випадках, після обов'язкових попередніх досліджень, що показали необхідність введення національних вимог до регламентації сторонніх домішок в досліджуваній сировині, які б урахували якість вітчизняної ЛРС, в національній частині монографії ДФУ можливо внесення змін в розділ «Сторонні домішки».

Втрата в масі при висушуванні. З метою збереження лікарської рослинної сировини, її висушують. Якщо вона недостатньо висушена, то може спостерігатися зростання дріжджових або плісневих грибів. Дане випробування визначає максимальну кількість води (вологи), яка може бути присутньою в сировині в певних умовах. У монографіях може бути рекомендовано висушування протягом певного періоду (зазвичай 2 год), або висушування до постійної маси. Якщо не обумовлене інше, втрата в масі при висушуванні повинна складати не більше 10% при сушці протягом 2 год. У монографії вказують кількість лікарської рослинної сировини, необхідну для визначення, і розмір частинок порошку, що задається номером використовуваного сита.

Вода. Для лікарської рослинної сировини, що містить більше 10 мл/кг (1%) ефірної олії, замість випробування «Втрата в масі при висушуванні» звичайно проводять визначення води шляхом перегонки. Якщо потрібно, вказують розмір частинок порошку, заданий номером використовуваного сита.

Показник набухання. Визначення проводять для лікарської рослинної сировини, що містить речовини, які утворюють у воді колоїдні суміші, наприклад: Алтеї корені, Бурі водорості, Ламінарії слані та інші.

Показник гіркоти. Визначення проводять для лікарської рослинної сировини, що містить гіркоту, наприклад: Полину трава, Бобівника трилистого листя, Тирлича корені та інші.

Екстрактивні речовини. Вважають за доцільне проводити визначення екстрактивних речовин тільки в тій лікарській рослинній сировині, про яку відомо, що в ній відсутні компоненти, що піддаються кількісному визначенню, або яка є матеріалом для отримання препарату з сухим залишком, наприклад, Вовчуга корені, Хмелю супліддя, Пірій повзучий та інші. У деяких випадках, враховуючи, що для певних видів ЛРС визначення вмісту екстрактивних речовин є експрес-метод визначення якості ЛРС при закупівлі сировини вітчизняними підприємствами, в національній частині монографії ДФУ можливо додатково наведення методики визначення екстрактивних речовин, як випробування, що рекомендується. Приклад: Валеріани корені.

Інші випробування. У певних випадках проводять додаткові мікроскопічні дослідження і/або додаткові хімічні реакції. Вони застосовуються особливо для виявлення випадків фальсифікації, що полягає у підмішування сировини, яка має схожі морфологічні ознаки, та походить від абсолютно іншого виду, а також для того, щоб продемонструвати, наприклад, що дана сировина не містить токсичних речовин, таких, як алкалоїди і кардіотонічні стероїди. У монографіях можуть застосовуватися, при необхідності, специфічні випробування, наприклад, такі як: крохмаль; речовини, не розчинні в етанолі.

Якщо це можливо, в монографію на ЛРС включають випробування «Кількісне визначення». Субстанції, використовувані для кількісного визначення, затверджують як хімічні стандартні субстанції; наявність достатньої кількості стандартних субстанцій із серії прийнятної якості має бути перевірена на стадії розроблення монографії. Якщо це можливо, для визначення

вмісту специфічних компонентів перевагу віддають методам РХ або ГХ, а не методам спектрофотометрії.

Абсорбційна спектрофотометрія в ультрафіолетовій і видимій областях. Спектрофотометрія дозволяє здійснити загальне визначення компонентів, які дуже часто відносяться до групи споріднених сполук. Методи спектрофотометрії можуть використовуватися для кількісного визначення компонентів, які є: БАР, обраними в якості об'єкту стандартизації (маркерами) у випадку, якщо специфічні активні інгредієнти невідомі; компонентами із відомою терапевтичною активністю, які є сумішшю споріднених сполук. Спектрофотометрію використовують, наприклад, для визначення: флавоноїдів (Берези листя, Календули квітки та інші); гідроксиантраценових похідних (Крушини кора, Касії листя та інші); алкалоїдів (Чистотіл та інші). Враховуючи те, що ЄФ для близьких класів БАС використовує уніфіковані методи їх кількісного контролю в різних видах ЛРС, у разі необхідності розробки спектрофотометричної методики кількісного визначення для національної частини монографії ДФУ обов'язковою вимогою є використання саме уніфікованих методик кількісного визначення. Приклад: Звіробій (ДФУ, ЄФ частина). Сировина містить не менше 0,08% суми гіперицинів, у перерахунку на гіперицин і суху сировину. Звіробою трава (ДФУ, національна частина). Сировина містить не менше 1,5% флавоноїдів, у перерахунку на гіперозид і суху сировину.

Визначення танінів в ЛРС. Це кількісне визначення описане як загальний метод. Він використовується для стандартизації, наприклад, Перстачу, Чорниці сухих плодів, Дуба кори та інші.

Об'ємне титрування. Прикладами використання об'ємного титрування для кількісного визначення алкалоїдів є монографії Беладони листя, Дурману листя, а також для кількісного визначення йоду в Бурих водоростях.

Визначення ефірних олій в ЛРС. Якщо в розділі «Опис» регламентовано мінімальний вміст ефірної олії в сировині, то методику кількісного визначення

наводять у скороченому вигляді, як вказано в монографії, із посиланням на загальний метод.

Рідинна хроматографія і газова хроматографія. До методики слід включати критерій придатності хроматографічної системи, крім того, у вигляді виноски приводиться комерційна назва колонки або колонок, які були визнані підходящими в процесі розробки монографії. Репрезентативну хроматограму при необхідності в якості додаткового інформативного матеріалу включають до монографії.

ФС після затвердження Фармакопейним комітетом і присвоєння назви (наприклад, ФС 42У-7/37-75-96) реєструються МОЗ України. Назва статті складається з категорії НАД (ФС чи ТФС), коду МОЗ України (42 У), індексу підприємства-власника (власників) документації (7/37), порядкового номера документа, затвердженого у поточному році (75), і останніх двох цифр року затвердження статті (96), відокремлених знаком тире.

Розроблені вперше і затвержені Фармакопейним комітетом ТФС направляються у ДНЕЦЛЗ МОЗ України для внесення у Державний реєстр.

Затверджена АНД набуває чинності державного стандарту, дотримання її вимог є обов'язковим для всіх підприємств і організацій, які виробляють, зберігають, контролюють і застосовують лікарські засоби.

Залежно від сфери чинності стандарти поділяють на такі категорії: Міждержавний стандарт (ГОСТ), Галузевий стандарт (ГСТ), Стандарт підприємства (СТП), технічні умови (ТУ).

ГОСТ поширюється на конкретну продукцію, що її випускають і застосовують у багатьох галузях народного господарства, а не лише в фармацевтиці, наприклад, плоди перцю тощо. Існує ГОСТ методичний (включає загальні методи прийому ЛР, правила пакування, маркування, транспортування, зберігання) та ГОСТ на продукцію (на ЛРС, що використовується в різних областях).

Галузеві стандарти розробляються на продукцію в разі відсутності ДСТУ, або за потребою встановлення вимог, які перевищують або доповнюють вимоги

державних стандартів. Вимоги ГСТУ не повинні суперечити обов'язковим вимогам ДСТУ. ГСТУ є обов'язковими для всіх підприємств і організацій даної галузі, а також для підприємств і організацій інших галузей, які використовують чи застосовують продукцію цієї галузі. Також є методичні та на проміжну продукцію.

Стандарти підприємств розробляються на продукцію (процес, роботу, послугу), яку виробляють і застосовують (надають) лише на конкретному підприємстві. СТП не повинні суперечити обов'язковим вимогам ДСТУ та ГСТУ. Об'єктами СТП є складові продукції, технологічне оснащення та інструмент; технологічні процеси; послуги, які надають на певному підприємстві; процеси організації та управління виробництвом. СТП - основний організаційно-методичний документ у діючих на підприємствах системах управління якістю продукції. Як СТП можуть використовуватися міжнародні, регіональні та національні стандарти інших країн на підставі міжнародних угод про співробітництво.

Технічні умови - нормативний документ, який розробляють для встановлення вимог, що регулюють відносини між постачальником (розробником, виробником) і споживачем (замовником) продукції, для якої відсутні державні чи галузеві стандарти. ТУ затверджують на продукцію, що перебуває на стадії освоєння і виробляється невеликими партіями. ТУ розробляються на один чи кілька конкретних виробів, матеріалів, речовин, послугу чи групу послуг. Запроваджують ТУ в дію на короткий обмежений термін або встановлюється за погодженням із замовником. ТУ розробляються на багатотонажну сировину, що не поступає до споживача.

Державна Фармакопея України – це правовий документ, що містить загальні вимоги до ліків, ФС (монографії), а також методики контролю їх якості (Закон України «Про лікарські засоби», ст. 2).

При реєстрації фітопрепаратів має бути підготовлено реєстраційне досьє. До структури реєстраційного досьє на ЛЗ у форматі загального технічного документа (ЗТД) входять п'ять модулів. Інформація щодо якості, хімічної,

фармацевтичної та біологічної інформації про ЛЗ, що містять хімічні та\або біологічні діючі речовини, має бути викладена в модулі 3.

Лікарські рослинні препарати мають складну природу і різноманітні характеристики, у зв'язку з чим при їх виробництві особливу роль відіграє контроль вихідних матеріалів, умов зберігання і переробки.

Вихідними матеріалами у виробництві ЛРЗ можуть бути необроблені рослини, рослинна сировина або проміжні продукти. Рослинна сировина повинна мати необхідну якість, а підтвердження цього має бути надано виробникові фітопрепарату. Відбір насіння, умови культивування і збору врожаю є важливими аспектами і впливають на стабільність показників якості готового продукту. Рекомендації щодо системи забезпечення якості за правилами належного вирощування і збору рослин наведені в документі Керівництво з правил належного вирощування і збору вихідної сировини рослинного походження.

Виробництво лікарських засобів на основі ЛРС істотно відрізняється від виробництва інших нестерильних лікарських засобів. Основними параметрами, які впливають на специфічність технологічних операцій, є варіативність показників якості сировини, викликана її природним походженням, умови заготівлі, зберігання та ін., а також різноманітність фізико-хімічних параметрів (ступінь подрібнення, питома вага, волога та ін.) Це унеможливає застосування стандартних технологічних прийомів фармацевтичної розробки.

ВИДИ ТА МЕТОДИ ФАРМАКОГНОСТИЧНОГО АНАЛІЗУ.

Фармакогностичний аналіз - це комплекс методів аналізу лікарської сировини рослинного та тваринного походження та їх продуктів, який полягає у визначенні тотожності (ідентичності), чистоти і доброякісності.

Фармакогностичний аналіз складається із ряду послідовно виконуваних аналізів:

- товарознавчого;
- макроскопічного;
- мікроскопічного;

- фітохімічного.

ТОВАРОЗНАВЧИЙ АНАЛІЗ.

Товарознавчий аналіз регламентує правила приймання сировини та відбір проб для проведення послідовних випробувань сировини. У ході товарознавчого аналізу визначають вміст домішок, ступінь подрібненості і наявність у сировині амбарних шкідників, вміст вологи та золи.

Відбір проб ЛРС для проведення аналізу проводиться відповідно до вимог ДФУ з дотриманням чинних санітарно-гігієнічних правил і умов, що виключають забруднення ЛРС і забезпечують безпеку людей.

Відбір проб для визначення якості лікарських засобів, у тому числі і ЛРС, проводиться в присутності спеціальної комісії. Процедура відбору проб повинна бути зафіксована у відповідних документах. Персонал, який проводить відбір проб, повинен мати відповідну кваліфікацію та зобов'язаний:

- володіти технічними прийомами та обладнанням для відбору проб;
- знати про ризик перехресної контамінації;
- знати про заходи безпеки та їх дотримання щодо отруйних і сильнодіючих ЛРС;
- знати про важливість візуального контролю вихідної сировини, матеріалів, тари й етикеток;
- персонал, зайнятий відбором проб ЛРС, повинен строго дотримуватися інструкції, що регламентують стан здоров'я та вимоги особистої гігієни, а також носити технологічну одяг.

Відбір проб являє собою сукупність ряду операцій для взяття певної кількості зразків ЛРС, а саме: приймання ЛРС; вибірка одиниць продукції; безпосередній відбір проб ЛРС; маркування зразків і документальне оформлення відбору проб.

Приймання лікарської рослинної сировини проводять партіями. Партія ЛРС («ангро») - певна кількість незбираного, обмолоченого, пресованого ЛРС, однорідне за способом підготовки і показниками якості одного найменування і оформленого одним документом, що засвідчує його якість, призначене для

виробництва промислових серій фасованої продукції у пакуванні «ангро» і в споживчій упаковці.

Документ повинен містити наступні дані:

- номер і дату видачі документа;
- найменування і адреса відправника;
- найменування сировини;
- номер партії;
- масу партії;
- рік і місяць збору або заготівлі;
- район заготівлі (для сировини від дикорослих рослин) ;
- результати випробувань якості сировини;
- позначення АНД на сировині;
- підпис особи, відповідальної за якість сировини, з вказівкою прізвищу і посади.

Серія ЛРС - певна кількість однорідного за всіма показниками фасованого ЛРС (незбиране, подрібнене, порошок), зроблене протягом одного технологічного циклу, оформленого одним документом якості. Серія формується з одного або декількох (не більше трьох) партій ЛРС.

Фасована продукція - певна кількість (маса) ЛРС цільного, подрібненого або порошку, поміщеного в споживчу упаковку, призначене для приготування настоїв і відварів, або в упаковку «ангро», призначену для виготовлення лікарських засобів (настойок, екстрактів і ін).

При надходженні партії ЛРС перевіряють маркування й правильність оформлення супровідної документації. Після цього кожну одиницю продукції піддають зовнішньому огляду для встановлення відповідності упаковки вимогам АНД. Звертають увагу на правильність упаковки, стан тари (відсутність підмочки, патьоків і інших пошкоджень, що несприятливо впливають на якість і збереження сировини), відсутність сторонніх запахів.

Якщо зовнішній огляд контейнерів, маркувань, етикеток партії свідчить про її однорідність, проводять вибірку контейнерів за випадковою схемою, у

кількості, зазначеній нижче. Якщо партію не можна вважати за однорідну, проводять її ділення на декілька можливо однорідніших частин. Потім, як і у разі однорідної партії, з кожної із частин партії проводять вибірку контейнерів за випадковою схемою, у кількості, як мінімум, зазначеній нижче.

Кількість контейнерів у партії (N)	Кількість контейнерів у партії, що підлягають відбору проб (n)
1-3	усі
>3	$n^* = \sqrt{N} + 1$

*— округляють n до найближчого цілого числа

Методи відбору проб для аналізу.

Беруть по одній пробі з кожного контейнера, призначеного для відбору проб. Вибірку проводять з верхньої, середньої і нижньої частин контейнера так, щоб відібрані проби були репрезентативними для різних частин контейнера. У разі крупних контейнерів (ящики або мішки) вибірку проб проводять на глибині не менше 10 см. Маса матеріалу, відібраного з кожного контейнера, має бути такою, щоб загальна **маса первинної проби** відповідала значенням, зазначеним нижче:

Маса ЛРС у партії (кг)	Мінімальна маса проб у відсотках від маси партії ЛРС
<50	1.00*
50-100	0.50
>100-250	0.25
> 250-500	0.20
>500-1000	0.18
>1000-2500	0.15
> 2500-5000	0.10
>5000-10 000	0.08
>10 000-25 000	0.05

Примітка: якщо маса партії більше 25 000 кг, партію ділять на частин і використовують методику для кожної частини партії, як і у разі однорідної партії;

** - з урахуванням того, що мінімальна загальна маса первинної проби 125 г; якщо цей необхідний мінімум складає більше 10,0 % маси ЛРС у партії, то вся партія може бути використана як проба.*

Первинну пробу готують шляхом об'єднання і ретельного перемішування проб з кожного вибраного за випадковою схемою контейнера.

Сировину перевіряють на ідентичність за допомогою макроскопічного аналізу за схемою: зовнішній вигляд сировини, розмір, колір, запах, смак (для неотруйних рослин).

Одиниці продукції, що потрапили у вибірку, розкривають і шляхом зовнішнього огляду визначають однорідність сировини за способом підготовки (цільне, подрібнене, пресоване), кольору, запаху, засміченості; наявності цвілі, гнилі, стійкого стороннього запаху, не зникаючого при провітрюванні; засміченість отруйними рослинами і сторонніми домішками (камені, скло, забруднення від гризунів і птахів і т.п.). Одночасно неозброєним оком і за допомогою лупи (5-10 х) визначають наявність амбарних шкідників.

Схема відбору проб отримання необхідної первинної проби

Маса ЛРС у контейнері (кг)	0,5			1			5		
	Кількість контейнерів у партії	Кількість контейнерів для вибору проб	Загальна маса проб (г)	Кількість контейнерів у партії	Кількість контейнерів для вибору проб	Загальна маса проб (г)	Кількість контейнерів у партії	Кількість контейнерів для вибору проб	Загальна маса проб (г)
0,5	1	1	125	-	-	-	-	-	-
1	2	2	125	1	1	125	-	-	-
5	10	5	125	5	4	125	1	1	125
10	20	6	125	10	5	125	2	2	125
25	-	-	-	25	6	250	5	4	250
100	-	-	-	100	11	500	20	6	500
250	-	-	-	-	-	-	50	9	625
500	-	-	-	-	-	-	100	11	100 0

Маса ЛРС у контейнері (кг)	25			125			500		
Загальна маса ЛРС у партії (кг)	Кількість контейнерів у партії	Кількість контейнерів для вибору проб	Загальна маса проб (г)	Кількість контейнерів у партії	Кількість контейнерів для вибору проб	Загальна маса проб (г)	Кількість контейнерів у партії	Кількість контейнерів для вибору проб	Загальна маса проб (г)
25	1	1	250	-	-	-	-	-	-
100	4	3	500	-	-	-	-	-	-
250	10	5	625	2	2	625	-	-	-
500	20	6	1000	4	3	1000	1	1	1000
1000	40	8	1800	8	4	1800	2	2	1800
2000	80	10	3000	16	5	3000	4	3	3000
3000	120	12	3000	24	6	3000	6	4	3000
5000	200	16	5000	40	8	5000	10	5	5000
10000	400	21	8000	80	10	8000	20	6	8000
20000	800	30	12500	160	14	12500	40	8	12500

При встановленні неоднорідності сировини, наявності цвілі і гнилі засміченості сторонніми рослинами в кількостях, що явно перевищують допустимі домішки, вся партія має бути розсортована, після чого повторно пред'явлена до здачі.

При виявленні в сировині затхлого, стійкого стороннього запаху, не зникаючого при провітрюванні, отруйних рослин і сторонніх домішок (забруднення від гризунів і птахів, скло і ін.), зараженості амбарними шкідниками, партія сировини не підлягає прийманню.

Випробовуваний зразок

Якщо немає інших зазначень в окремій статті, випробовуваний зразок готують, як зазначено нижче. Розмір первинної проби зменшують шляхом квартування або будь-яким іншим способом, що дозволяє отримати гомогенний зразок, упевнюючись у тому, що кожна відібрана порція залишається репрезентативною для всієї проби. Повторюють процедуру квартування, доки для мінімальної кількості, що залишилася, не виконуватимуться такі умови.

Вид ЛРС	Мінімальна маса випробовуваного зразка
Коріння, кореневища, кора, трава	500 г або маса всієї проби, якщо первинна проба має масу менше 500 г
Листя, квітки, насіння, плоди	250 г або маса всієї проби, якщо первинна проба має масу менше 250 г
Подрібнена ЛРС (середня маса частин менше 0,5 г)	125 г

Квартування полягає в тому, що ретельно перемішану первинну пробу поміщають рівномірним шаром у формі квадрата і ділять її по діагоналі на 4 рівних частини. 2 протилежні чверті залишають і повторно ретельно перемішують. Процес, якщо необхідно, повторюють до отримання випробовуваного зразка необхідної мінімальної маси.

Випробовуваний зразок подрібнюють, одноразово пропускаючи його крізь сито з розміром отвору 1 мм або розміром, зазначеним в окремій статті. Рекомендується використовувати апарат для подрібнення.

Подрібнений випробовуваний зразок просівають крізь стандартне сито з розміром отвору 1 мм або крізь сито, зазначене в окремій статті. Залишок на ситі має бути не більше як 10% від загальної маси подрібненого зразка, зокрема в ньому можуть бути не більше 2% від загальної маси подрібненого зразка частинок розміром більше 1,5 мм або тих, що в 1,5 рази перевищують розмір, зазначений в окремій статті. При відповідності зазначеним вимогам зразок і залишок слід добре перемішати для отримання випробовуваного зразка для аналізу.

При невідповідності зазначеним вимогам для отримання випробовуваного зразка об'єднують 2 частини, зважених окремо; таким чином, для кожного аналізу беруть наважку, що є сумішшю пропорційних кількостей просіяної частини і залишку на ситі.

Отриману пробу упаковують та прикріплюють етикетку, на якій зазначають такі дані: назва сировини, найменування постачальника, номер партії, дата відбору проби, прізвище та посаду особи, яка відбирала пробу. Відібрану та оформлену пробу направляють на аналіз у лабораторію.

У лабораторії виділяють аналітичні проби для визначення:

- ідентичність, подрібнення і вмісту домішок;
- вологості (аналітичну пробу для визначення вологості відокремлюють відразу ж після відбору проби і упаковують герметично);
- вміст золи і діючих речовин.

Ідентичність сировини визначають за зовнішніми (макроскопічний аналіз) А і анатомо-діагностичними ознаками (мікроскопічний аналіз) В. У більшості статей для підтвердження ідентичності сировини потрібно проведення тонкошарової хроматографії, іноді якісні реакції.

Для визначення вмісту сторонніх домішок 1 аналітичну пробу зважують і розкладають на чисту поверхню тонким шаром. Неозброєним оком або з

використанням лінзи х6 за допомогою пінцету вибирають домішки. Кожний вид домішок, наведений в АНД відокремлюють і зважують окремо з точністю до $\pm 0,1$ г (при масі аналітичної проби понад 100 г) або $\pm 0,05$ г (при масі аналітичної проби менш 100 г).

Вміст домішок у відсотках обраховують за формулою:

$$X = \frac{m_1 * 100}{m_2}, \text{ де}$$

m_1 – маса домішок у грамах;

m_2 - маса аналітичної проби у грамах.

Відсотковий вміст сторонніх домішок кожної групи не має перевищувати меж, зазначених в окремій статі ДФУ або АНД. Якщо у статі не зазначена норма сторонніх домішок, то вона складає не більше 2%.

Визначення вологості (втрата в масі при висушуванні) проводить згідно фармакопейної статті. Для цього береться 1,000 г здрібненої на порошок сировини. Наважку вміщують у попередньо висушений і зважений разом з кришкою бюкс. Бюкс з наважкою вміщують у нагріту до температури 105°C сушильну шафу та сушать протягом 2 годин. Втрату в масі при висушуванні у відсотках обчислюють за формулою:

$$X = \frac{(m - m_1) * 100}{m}, \text{ де}$$

m_1 - маса сировини після висушування у грамах;

m - маса сировини до висушування у грамах.

Граничний вміст води визначає відповідна стаття АНД на ЛРС.

Золю називають органічні речовини, що залишаються після спалювання і прожарювання сировини. Золю поділяють на загальну і нерозчинну в кислоті хлористоводневій. Загальна зола складається з мінеральних речовин, які містяться в рослині, і сторонніх мінеральних домішок, що можуть потрапити під час збирання та т.п. Залишок, що залишився після оброблення загальної золи 10% розчином кислоти

хлористоводневої, називають золюю, не розчинною в хлористоводневій кислоті. Він складається з кремнеземів або силікатів.

Загальна зола визначається згідно ДФУ. Для цього тигель нагрівають протягом 30 хв., охолоджують в ексикаторі і зважують. 1,00 г здрібненої на порошок ЛРС поміщають у тигель і висушують при 100-105⁰ С протягом 1 години, спалюють до постійної маси у муфельній печі при 600⁰ С. Вміст загальної золи у відсотках в абсолютно сухій сировині обчислюють за формулою:

$$X = \frac{m_1 * 100 * 100}{m * (100 - W)}, \text{ де}$$

m_1 - маса золи у грамах;

m - маса сировини у грамах;

W – втрата в масі при висушуванні у відсотках.

Визначення вмісту діючих речовин у ЛРС проводять згідно статей ДФУ або інших АНД

При встановленні за результатами випробувань невідповідності якості сировини вимогам АНД, проводять його повторну перевірку. Для повторного аналізу від нерозкритих одиниць продукції відбирають вибірку. Результати повторного аналізу є остаточними і поширюються на всю партію.

Крім того, потрібно проведення ЛРС на вміст радіонуклідів, мікробіологічної чистоти (для рослинних засобів орального застосування), залишкових кількостей пестицидів.

СУТНІСТЬ МАКРОСКОПІЧНОГО МЕТОДУ АНАЛІЗУ.

Макроскопічний аналіз є основним методом визначення ідентичності цілої ЛРС за морфологічними ознаками і частково показників доброякості (відповідність розмірів, кольору, запаху ЛРС, що досліджується, вимогам ДФУ або АНД).

Макроскопічний аналіз проводять з визначенням наступних характеристик: зовнішні ознаки ЛРС; розмір; колір; запах; смак.

Зовнішні ознаки визначають неозброєним оком або за допомогою лупи (x10). Для цього ЛРС розкладають на світлій твердій поверхні та уважно розглядають. Звертають увагу на морфологічні ознаки, характерні для даного виду сировини (форма, будова, наявність опушення та інші).

Розміри ЛРС визначають за допомогою міліметрової лінійки або папері. Для об'єктивного визначення розмірів проводять для великих об'єктів (більш 3 см) 10-15 вимірів; для дрібних 20-30 вимірів. Обчислюють середнє значення.

Колір сировини визначають при денному освітленні на сухих зразках. Для деяких видів сировини необхідно проведення визначення кольору на зламі або розрізі.

Запах сировини визначають під час розтирання її між пальцями для крихкої сировини. При визначенні запаху твердих об'єктів їх розтирають у ступці або зіскрібають ножом. У деяких випадках для посилення запаху ЛРС ошпарюють.

Смак ЛРС визначають у відомих рослин, що є неотруйними. Визначення проводять після попереднього аналізу на вміст отруйних домішок. Для проведення аналізу частину сировини жувають, визначають смак, потім випльовують. Інколи визначають смак 10% відвару сировини, що надана на аналіз.

Методика макроскопічного аналізу залежить від морфологічних ознак ЛРС та виду сировини.

МІКРОСКОПІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ ЛІКАРСЬКОЇ РОСЛИННОЇ СИРОВИНИ ЗГІДНО ВИМОГ ДФУ.

Для мікроскопічного дослідження використовують подрібнені в порошок зразки лікарської рослинної сировини, якщо немає інших зазначень в окремій статті.

Найчастіше використовуваний реактив - розчин хлоралгідрату Р. Проте після використання даного реактиву як включаючої рідини певні ознаки не виявляються або слабо помітні. У цьому разі використовують інші реактиви,

наприклад, розчин 50 % гліцерину R, який дає можливість виявити крохмальні зерна. В окремій статті також може знадобитися зазначення специфічного реактиву використовуваного для виявлення різних ознак, наприклад: реактиву кислоти молочної R, 10% спиртового розчину фюрогіюцину R і кислоти хлористоводневої R. використовуваних для якісної реакції на лігнін у клітинах або тканинах, розчину рутенію червоного R, використовуваного для підтвердження присутності слизу у клітинах, або гліцерину R, використовуваного для виявлення крохмальних зерен.

Для ідентифікації крохмальних зерен (феномен чорного перетинання), кристалів кальцію оксалату (світлозаломлювання) або здерев'янілих структур використовують дослідження в поляризованому світлі (між схрещеними призмами (ніколями)).

Приготування мікропрепарату з використанням розчину хлоралгідрату

2-3 краплі розчину хлоралгідрату R поміщають на предметне скло. Невелику кількість порошку рослинної лікарської сировини вміщують у даний розчин і накривають покривним склом. Дуже обережно нагрівають препарат до кипіння на гарячій плитці або на мікрогазовому пальнику. Підтримують слабке кипіння протягом нетривалого часу. Переконаються, що кількість розчину, використовуваного як включаючу рідину, достатня. Якщо необхідно, додають більше розчину, використовуючи скляну піпетку з тонковідтягненим кінчиком. Препарат залишають до охолодження, потім переглядають під мікроскопом. Повторюють нагрівання, доки крохмальні зерна і водорозчинні компоненти клітин стануть невидимі. Переглядають під мікроскопом.

Хлоралгідрат має тенденцію кристалізуватися у вигляді довгих голок. Для того, щоб уникнути цього, проводять таке: після нагрівання знімають покривне скло; до препарату додають 1 краплю суміші 10 % розчину хлоралгідрату R у гліцерині R, накривають препарат чистим покривним склом; переглядають під мікроскопом.

Приготування мікропрепарату з використанням розчину 50% гліцерину

2 краплі розчину 50 % гліцерину Р поміщають на предметне скло. Невелику кількість подрібненої на порошок лікарської рослинної сировини вміщують у даний розчин і накривають покривним склом. Переглядають під мікроскопом.

Приготування мікропрепарату з використанням спиртового розчину 10% флороглюцину і кислоти хлористоводневої

Невелику кількість подрібненої на порошок лікарської рослинної сировини поміщають на предметне скло. Додають 1 -2 краплі 10 % спиртового розчину флороглюцину Р. Перемішують і витримують до майже повного випарування розчинника. Додають 1 -2 краплі кислоти хлористоводневої Р і накривають препарат покривним склом. негайно переглядають під мікроскопом. Червоне забарвлення свідчить про наявність лігніну.

Приготування мікропрепарату з використанням розчину рутенію червоного

2 краплі розчину рутенію червоного Р поміщають на предметне скло. Невелику кількість подрібненої на порошок лікарської рослинної сировини вміщують у рідину і накривають препарат покривним склом. Через близько 1 хв краплю води дистильованої Р пропускають між предметним і покривним склом. Переглядають під мікроскопом. Слиз набуває фіолетово- червоного забарвлення.

Для мікроскопічного дослідження використовують подрібнені на порошок зразки сухої лікарської рослинної сировини, якщо немає інших зазначень в окремій статті.

Попереднє розмочування сировини виключається; якщо необхідно, допускається нетривала витримка сировини у вологій камері.

Приготування мікропрепарату з використанням 96% спирту

2-3 краплі 96 % спирту Р поміщають на предметне скло. Невелику кількість подрібненої на порошок лікарської рослинної сировини вміщують

у рідину на предметному склі і накривають препарат покривним склом. У клітинах спостерігаються сферокристали інуліну, що випали після осадження спиртом, добре сформовані, округлі, зазвичай прилеглі до клітинної оболонки. Вони мають променево-радіальну будову з концентричною шаруватістю.

Приготування мікропрепарату з використанням спиртового розчину 20% нафтолу

1-2 краплі розчину 20 % а-нафтолу Р 96 % спирті Р поміщають на предметне скло. Невелику кількість подрібненої на порошок лікарської рослинної сировини вмішують у рідину на предметному склі і накривають препарат покривним склом. Потім під покривне скло вводять 1 -2 краплі кислоти сірчаної Р. Переглядають під мікроскопом. Клітини, що містять інулін, забарвлюються в рожево-фіолетовий колір (реакція Моліша). При заміні а-нафтолу Р тимолом Я утворюється червоне забарвлення. Ці самі реакції дають і інші вуглеводні, наприклад, крохмаль. Тому реакцію Моліша використовують для визначення інуліну після попередньої негативної якісної реакції на крохмаль у випробовуваній лікарській рослинній сировині.

Питання для самоконтролю:

1. Аналітично-нормативна документація на ЛРС та фітозасоби.
2. Види та методи фармакогностичного аналізу.
3. Сутність макроскопічного методу аналізу.
4. Мікроскопічне дослідження ЛРС згідно вимог ДФУ.

Практична робота

Провести аналіз трави деревію звичайного згідно ДФУ.

Завдання 1. Записати латинську, українську назву ЛРС цмину піскового квітки, рослини, родини.

Завдання 2. Провести макроскопічний аналіз ЛРС за схемою:

	Ознака	Характеристика
Квітка	Тип суцвіття	
	Розмір	
	Будова квітки	
	Будова оцвіттини	
	Будова чашечки	
	Кількість чашолистків	
	Кількість пелюсток	
	Опушення	
Запах		

Тести для виявлення кінцевого рівня знань

1. Назвіть характерну особливість плодів стручкового перцю, яку регламентує відповідна монографія ДФУ:

- A. Сировина має дуже пекучий смак
- B. Зморщений оплодень
- C. Плід видовжено-конічної форми
- D. Плід жовтаво-оранжевого кольору
- E. Наявність 10-20 насінин

2. Вкажіть показник, визначення якого проводять для лікарської рослинної сировини, що містить речовини, які утворюють у воді колоїдні суміші:

- A. Показник набухання
- B. Втрата в масі при висушуванні
- C. Важкі метали
- D. Показник гіркоти
- E. Показник заломлення

3. Метод тонкошарової хроматографії використовується для проведення ідентифікації рослинної сировини та фітопрепаратів. Для ідентифікації індивідуальних речовин у хроматографічному аналізі визначають наступну величину:

- A. Величину R_f
- B. Температуру кипіння
- C. Кут заломлення
- D. Температуру плавлення
- E. Кут обертання

4. Особливості проведення фармакогностичного аналізу лікарської рослинної сировини полягає у:

- A. Визначенні тотожності (ідентичності), чистоти і доброякісності
- B. Визначенні вмісту загальної золи
- C. Визначенні вмісту діючих речовин
- D. Визначенні вологості сировини
- E. Визначенні ступеня подрібнення

5. Вкажіть метод аналізу лікарської рослинної сировини, заснований на визначенні сукупності анатомічних ознак об'єкта дослідження:

- A. Мікроскопічний
- B. Люмінесцентний
- C. Хроматографічний
- D. Хімічний
- E. Товарознавчий

6. Переважно цілі, фрагментовані або ламані рослини, частини рослин, водорості, гриби, лишайники у необробленому, зазвичай висушеному, іноді свіжому вигляді; екsudати, що не були піддані спеціальній обробці – відносяться до:

- A. Лікарської рослинної сировини
- B. Стандартизованих лікарських засобів
- C. Гомеопатичних лікарських засобів

D. Дієтичних добавок

E. Біотехнологічних, імунобіологічних препаратів

7. Підставою для бракування зразків лікарської рослинної сировини без проведення аналізу є:

A. Наявність отруйних рослин

B. Наявність соломи або піску

C. Різний ступінь подрібненості сировини

D. Наявність сировини, що втратила колір

E. Наявність інших частин тієї ж рослини

8. Показник, що являє собою величину, зворотну розведенню суміші, рідини або екстракту, за якої ще відчувається гіркий смак це

A. Показник гіркоти

B. Показник набухання

C. Продихи та продиховий індекс

D. Розчинність ефірних олій в етанолі

E. Визначення сухого залишку екстрактів

9. На підставі знань діагностичних ознак вегетативних органів рослин описати особливості продихового апарату тетраперигенного типу (визначення наведено у відповідній монографії Державної Фармакопеї України).

A. продихи оточені чотирма навколопродиховими клітинами; з них дві клітини розташовані латерально, а інші дві – полярно; або всі клітини латеральні, по дві з кожного боку

B. продихи мають шість навколопродихових клітин, з них дві полярні, чотири латеральні

C. продихи оточені трьома навколопродиховими клітинами, одна з яких значно менша чи більша за інші

D. продихи оточені двома навколопродиховими клітинами, розташованими латерально відносно замикаючих

E. продихи не мають типових продихових клітин

10. Вказати можливі сторонні домішки до лікарської рослинної сировини, перелік яких наведено у відповідній монографії Державної Фармакопеї України:

А. сторонні органи рослини (що не вважаються лікарськими) та домішки рослинного чи мінерального походження, що не мають відношення до цільової рослини

В. сторонні органи рослини, що не підлягають збиранню

С. отруйні рослини

Д. домішки мінерального чи органічного походження

Е. ззовні схожі рослини або їх органи

ТЕМА 3. Фізико-хімічні методи контролю якості ЛРС та лікарських засобів рослинного походження

Мета: освоєння сучасних фізико-хімічних методів дослідження рослин та лікарських засобів рослинного походження, навчання провізорів-інтернів основам постановки експерименту та обробці матеріалу дослідження.

Форма та тривалість заняття: практичне (2 години)

Провізор-інтерн повинен уміти:

1. Навчитися екстракції, хроматографічному розділенню, ідентифікації і визначенню вмісту амінокислот в рослинних тканинах;
2. Виділяти органічні кислоти, визначати суму органічних кислот;
3. Проводити хроматографічне розділення ди- і трикарбонових кислот.

Мінімальний обсяг теоретичного матеріалу:

2.2.20. ПОТЕНЦІОМЕТРИЧНЕ ТИТРУВАННЯ.

При потенціометричному титруванні кінцеву точку титрування знаходять, вимірюючи електрорушійну силу (е.р.с.) електродної пари, що

складається з індикаторного електрода і електрода порівняння або двох індикаторних електродів, занурених у випробовуваний розчин як функцію кількості доданого титранту.

Е.р.с. звичайно вимірюють при нульовому або практично нульовому струмі.

Прилад. Використовуваний прилад (простий потенціометр або електронний пристрій) включає вольтметр з розрізненням близько мілівольта.

Вибір індикаторного електрода залежить від природи визначуваної речовини. Цей електрод може бути скляним або металевим (наприклад, платиновим, золотим, срібним або ртутним). Електродом порівняння звичайно є каломельний або хлорсрібний електрод.

Для кислотно-основного титрування, якщо немає інших зазначень в окремій статті, використовують систему скляного і каломельного або скляного і хлорсрібного електродів.

Методика. Будують графік залежності зміни е.р.с. від кількості доданого титранту, продовжуючи додавати титрант понад передбачувану точку еквівалентності.

Кінцева точка відповідає різкій зміні е.р.с.

_____N

Потенціометричне титрування звичайно дає більш точні результати за індикаторне, особливо при аналізі каламутних і забарвлених розчинів, дозволяє автоматизувати процес титрування.

Як правило, електродну пару занурюють у випробовуваний розчин, крім випадків, коли іони з електрода порівняння заважають титруванню. У цьому випадку електрод порівняння сполучають з випробовуваним розчином електролітичним мостом.

Прилад. Вимірювання е.р.с. проводять за допомогою високоомних потенціометрів (рН-метрів, іонометрів).

Потенціометричне титрування застосовують для аналізу, заснованого на таких типах реакцій: нейтралізації, осадження, комплексоутворення, окиснення-відновлення. Вибір електродів залежить від типу аналітичної реакції. Індикаторний електрод вибирають так, щоб його потенціал закономірно змінювався при перебігу хімічної реакції між титрованими іонами та іонами титранту (табл. 1.).

Таблиця 1

Титрант	Індикатор
Хлорна кислота	Кристалічного фіолетового розчин Р
Тетрабутиламонію гідроксид	Розчин 3 г/л тимолового синього Р в метанолі Р
Натрію гідроксиду розчин спиртовий	Тимолфталеїну розчин Р

2.2.26. ХРОМАТОГРАФІЯ НА ПАПЕРІ.

Хроматографія на папері являє собою метод поділу, заснований на переміщенні рухомої фази по капілярах і поверхні фільтрувального паперу.

Нерухомою фазою є папір або речовини, попередньо нанесені на її волокна. Механізм хроматографії на папері може бути розподільним або адсорбційним. Переміщення рухомої фази відбувається або тільки під дією капілярних сил (висхідна хроматографія на папері), або під дією капілярних сил і сили тяжіння (низхідна хроматографія на папері).

При хроматографуванні визначаються речовини, які утворюють на папері зони адсорбції у вигляді круглих або овальних плям або смуг в залежності від способу нанесення (крапка або смуга).

Рухливість речовини при хроматографуванні характеризується коефіцієнтом уповільнення (R_f) (загальна фармакопейна стаття 2.2.46. Методи хромографічного розділення).

Хроматографія на папері може використовуватися для ідентифікації, випробування на чистоту та кількісного визначення.

ВИСХІДНА ХРОМАТОГРАФІЯ НА ПАПЕРІ.

Обладнання. Обладнання складається з скляної камери, за розміром відповідної використовуваному хроматографічному паперу, з щільно припасованою кришкою. У верхній частині камери є спеціальне пристосування, яке утримує в підвішеному стані хроматографічний папір і здатне опускати її при закритій камері. На дно камери поміщають кювету з рухомою фазою, в яку опускають кінець паперу. Хроматографічний папір, що представляє собою відповідний фільтрувальний папір, розрізають у напрямку його текстури на смуги достатньої довжини і шириною не менше 2,5 см.

Методика. Човник заповнюють рухомою фазою до утворення шару глибиною 2,5 см. Якщо зазначено у приватній фармакопейній статті між стінками камери і човника поміщають хроматографічний папір. Для насичення камеру закривають кришкою і витримують зазвичай протягом 24 год при температурі від 20 °С до 25 °С. Камеру термостатують при даній температурі протягом усього випробування. Відступивши від краю 3 см, на хроматографічному папері олівцем проводять горизонтальну лінію (лінія старту), на яку мікропіпеткою наносять об'єм розчину у відповідності з описом у приватній фармакопейній статті. Оскільки діаметр плями не повинен перевищувати 10 мм, великий об'єм розчину наносять в декілька прийомів, дозволяючи кожній порції висохнути перед наступним нанесенням. При спільному хроматографуванні кількох розчинів відстань між плямами на лінії старту повинен бути не менше 3 см. Папір поміщають у камеру, закривають кришкою і витримують протягом 1 год 30 хв. Хроматографують протягом часу або до відстані, зазначеної у приватній фармакопейній статті. Хроматограму виймають з камери, сушать на повітрі. Хроматографічний папір захищають від яскравого світла протягом усього процесу розподілу.

НИЗХІДНА ХРОМАТОГРАФІЯ НА ПАПЕРІ.

Обладнання. Обладнання складається з скляної камери, за розміром відповідної використовуваному хроматографічному паперу, з щільно

припасованою кришкою. В центрі кришки має бути отвір діаметром близько 1.5 см, закритий важкою скляною пластиною або пробкою. У верхній частині камери розташовують кювету для рухомої фази. З кожного боку кювети паралельно і трохи вище її верхніх країв встановлюють два напрямних скляних стрижні, підтримуючих папір таким чином, щоб він не торкався зі стінками камери. Хроматографічний папір, що представляє собою відповідний фільтрувальний папір, розрізають у напрямку його текстури на смуги достатньої довжини і завширки не менше 2,5 см і не більше довжини кювети.

Методика. На дно камери поміщають зазначену у приватній фармакопейної статті рухливу фазу до утворення шару глибиною 2,5 см, закривають кришкою і витримують протягом 24 год при температурі від 20°C до 25 °C. Камеру термостатують при даній температурі протягом всього випробування. Олівцем проводять лінію старту на одному кінці паперу, відступивши від його краю на таку відстань, щоб лінія перебувала на кілька сантиметрів вище напрямного стрижня і була паралельна йому після закріплення кінця паперу у кюветі. Інша частина паперу повинна вільно звисати над напрямним стрижнем. На лінію старту мікропіпеткою наносять зазначений у приватній монографії обсяг розчину. Оскільки діаметр плями не повинен перевищувати 10 мм, великий обсяг розчину наносять у декілька прийомів, дозволяючи кожній порції висохнути перед наступним нанесенням. При спільному хроматографуванні декількох розчинів відстань між плямами на лінії старту має бути не менше 3 см. Хроматограму поміщають до камери, закривають її кришкою і витримують протягом 1 год 30 хв. Потім через отвір у кришці заповнюють кювет рухомою фазою, закривають отвір і хроматографують протягом часу або до відстані, яка зазначена у приватній фармакопейній статті. Хроматограму виймають з камери й сушать на повітрі. У процесі поділу хроматографічний папір захищають від яскравого світла.

2.2.27. ТОНКОШАРОВА ХРОМАТОГРАФІЯ.

Тонкошарова хроматографія являє собою метод розділення, в якому нерухома фаза складається з придатного матеріалу, нанесеного у вигляді однорідного тонкого шару і зафіксованого на основі (пластинці) зі скла, металу або пластмаси. Перед хроматографуванням розчини речовин, що аналізуються, наносять на пластинку. Розділення базується на процесах адсорбції, розподілу, іонного обміну або на їх комбінації і здійснюється за допомогою міграції (елюювання) в тонкому шарі (нерухомій фазі) випробовуваних речовин, розчинених у розчиннику або у підхожій суміші розчинників (рухомій фазі).

ОБЛАДНАННЯ.

Пластинки. Хроматографування проводять з використанням пластинок, що попередньо вкриті тонким шаром як зазначено у розділі 4.1.1 «Реактиви». Розмір частинок силікагелю зазначають після назви реактиву у випробуванні, в якому він використовується.

Попередня підготовка пластинок. У деяких випадках може бути необхідне промивання пластинок перед хроматографуванням, яке може бути виконане за допомогою попереднього елюювання пластинки у підхожому розчиннику. Пластинки можуть бути також імпрегновані (просочені) за допомогою таких процедур, як елюювання, занурення або обприскування. Якщо необхідно, перед використанням пластинки активують за допомогою нагрівання в термостаті за температури 120 °С протягом 20 хв. *Хроматографічна камера* являє собою ємність з плоским дном або дном із двома жолобами, яка виготовлена з інертного прозорого матеріалу, відповідає за розміром використовуваним пластинкам та споряджена щільно припасованою кришкою. Камера для горизонтального елюювання має жолоб для рухомої фази і додатково споряджена пристроєм для подачі рухомої фази до нерухомої.

Мікропіпетки, мікрошприци, калібровані одноразові капіляри або інші пристрої, придатні для нанесення розчинів.

Пристрій для детектування флуоресценції, за допомогою якого оцінюють безпосередньо флуоресценцію або її гасіння.

Пристрої для візуалізації та реактиви. Для дериватизації використовують підході пристрої: для нанесення реактивів на пластинку шляхом обприскування, оброблення парою або занурення та, якщо необхідно, такі, що забезпечують нагрівання для візуалізації розділених компонентів.

Документування. Для документування візуалізованих хроматограм можуть бути використані, наприклад, фотографічні знімки або комп'ютерні файли.

МЕТОДИКА.

Нанесення зразка. Наносять зазначені об'єми розчинів на лінію, паралельну нижньому краю, на підходящій відстані від нижнього краю і від сторін пластинки; допускають відстань мінімум 10 мм (5 мм для високоефективних пластинок) між центрами округлих плям і 5 мм (2 мм для високоефективних пластинок) між сторонами смуг. Розчини наносять достатньо малими порціями, одержуючи круглі плями від 2 мм до 5 мм у діаметрі (від 1 мм до 2 мм для високоефективних пластинок) або смуги завдовжки від 10 мм до 20 мм (від 5 мм до 10 мм для високоефективних пластинок) і завширшки від 1 мм до 2 мм. Якщо допускається використання як звичайних, так і високоефективних пластинок, експериментальні умови для високоефективних пластинок зазначають у монографії, в дужках, після зазначення таких для звичайних пластинок.

Вертикальне елюювання. Стінки хроматографічної камери вистилають фільтрувальним папером. Наливають у камеру рухому фазу в кількості, достатній для того, щоб після змочування фільтрувального паперу покрити дно камери шаром рідини, що відповідає розміру використовуваної пластинки. Для насичення хроматографічну камеру з рухомою фазою закривають кришкою і витримують протягом 1 год за температури від 20 °C до 25 °C. Якщо в монографії не зазначено інше, хроматографічне розділення

проводять у насиченій камері. Зазначені об'єми розчинів наносять, як описано вище. Після випаровування розчинників з нанесених проб пластинку поміщають у хроматографічну камеру якомога більш вертикально, стежачи за тим, щоб плями або смуги знаходилися вище поверхні рухомої фази. Камеру закривають і залишають її за температури від 20 °С до 25 °С у захищеному від прямих сонячних променів місці. Пластинку виймають після того, як рухома фаза пройде зазначену в монографії відстань, вимірювану між точками нанесення зразків і фронтом розчинника. Пластинку висушують і візуалізують хроматограми способом, зазначеним у монографії. У разі двовимірної хроматографії після першого елюювання пластинку висушують і проводять друге елюювання у напрямку, перпендикулярному до першого.

Горизонтальне елюювання. Зазначені об'єми розчинів наносять, як описано вище. Після випаровування розчинників з нанесених проб у жолоб хроматографічної камери уводять за допомогою шприца або піпетки достатню кількість рухомої фази; пластинку поміщають в хроматографічну камеру, перевіряють, щоб вона мала горизонтальне положення, та приєднують пристрій для подачі рухомої фази відповідно до інструкції виробника. Якщо зазначено в монографії, пластинку елюють, починаючи одночасно з двох кінців. Камеру закривають і залишають її за температури від 20 °С до 25 °С. Після того, як рухома фаза пройде відстань, зазначену в монографії, пластинку виймають, висушують і візуалізують хроматограми зазначеним у монографії способом. У разі двовимірної хроматографії після першого елюювання пластинку сушать і проводять друге елюювання у напрямку, перпендикулярному до першого.

ВІЗУАЛЬНА ОЦІНКА.

Ідентифікація. Основну пляму на хроматограмі, одержаній для випробовуваного розчину, порівнюють візуально з відповідною плямою на хроматограмі, одержаній для розчину порівняння, порівнюючи забарвлення, розмір і коефіцієнт затримки (R_f) обох плям. Коефіцієнт затримки (R_f) визначають як відношення відстані від точки нанесення проби до центру

плями після хроматографування до відстані, пройденої фронтом розчинника від точки нанесення.

Перевірка розділювальної здатності для ідентифікації. Зазвичай для оцінки придатності достатньо провести випробування на придатність нерухомої фази, зазначене у розділі 4.1.1 «Реактиви». В особливих випадках додаткові вимоги зазначені у монографіях.

Випробування на супровідні домішки. Додаткову пляму (плями) на хроматограмі, одержаній для випробовуваного розчину, порівнюють візуально з відповідною плямою (плямами) на хроматограмі, одержаній для розчину порівняння. Розчин порівняння може містити як саму домішку (домішки), так і різні розведення випробовуваного розчину. Перевірка розділювальної здатності. Вимоги для перевірки розділювальної здатності зазначають у відповідних монографіях. Перевірка чутливості. Чутливість вважається задовільною, якщо пляма або смуга чітко виявляється на хроматограмі, одержаній з найбільш розведеним розчином порівняння.

КІЛЬКІСНІ ВИМІРЮВАННЯ.

Вимоги до визначення і розділення речовин наводять у монографіях. У тому разі, коли речовини, розділювані методом тонкошарової хроматографії, дають відгук на опромінення ультрафіолетовим або видимим світлом, їх можна кількісно визначити безпосередньо на пластинці, використовуючи відповідне обладнання. Пластинку досліджують, пересуваючи її або вимірюючий пристрій та вимірюючи коефіцієнт відбиття падаючого світла. Аналогічно, використовуючи відповідне оптичне обладнання, можна вимірювати флуоресценцію. Речовини, які містять радіонукліди, можуть бути кількісно визначені 3 способами: — безпосередньо на пластинці — пересуванням пластинки уздовж придатного лічильника радіоактивності або навпаки (див. статтю «Радіофармацевтичні препарати»); — розрізанням пластинки на смуги і вимірюванням радіоактивності на кожній смузі, використовуючи відповідний лічильник радіоактивності; — зішкрібанням нерухомої фази, розчиненням її у підходящому сцинтиляційному коктейлі і

вимірюванням радіоактивності з використанням рідинного сцинтиляційного лічильника.

Обладнання. Обладнання для вимірювань безпосередньо на пластинці включає: — пристрій для відтворюваного та точного за розташуванням нанесення на пластинку необхідної кількості речовини; — механічний пристрій для пересування пластинки або вимірювального пристрою вздовж осі X або Y; — самописець та підхожий інтегратор або комп'ютер; — для речовин, що дають відгук на опромінення ультрафіолетовим або видимим світлом: фотометр з джерелом світла, оптичний пристрій, що генерує монохроматичне світло, і фотокомірка відповідної чутливості для вимірювання відбиття або пропускання; у тому разі, коли вимірюється флуоресценція, потрібен підхожий фільтр, який запобігає попаданню до детектора світла, що використовується для збудження, в той час як дозволене емісійне випромінювання або питома його частка досягає детектора; — для речовин, що містять радіонукліди: підхожий лічильник радіоактивності; для нього необхідно перевірити лінійність діапазону вимірювання.

Методика. Зазначеним у монографії способом готують розчин випробовуваної речовини (випробовуваний розчин) і, якщо необхідно, розчини порівняння випробовуваної речовини, використовуючи той самий розчинник. Наносять однакові об'єми кожного розчину на пластинку і хроматографують.

Для речовин, що дають відгук на опромінення ультрафіолетовим або видимим світлом. Готують і наносять не менше 3 розчинів порівняння випробовуваної речовини, концентрації яких охоплюють очікуване значення концентрації випробовуваного розчину (близько 80 %, 100 % і 120 %). Обробляють, якщо необхідно, зазначеним реактивом і реєструють відбиття, пропускання або флуоресценцію на хроматограмах, одержаних для випробовуваного розчину і розчинів порівняння. За одержаними даними розраховують кількість речовини у випробовуваному розчині.

Для речовин, що містять радіонукліди. Готують і наносять випробовуваний розчин, що містить близько 100 % очікуваного значення концентрації. Вимірюють радіоактивність як функцію довжини шляху і записують радіоактивність кожного одержаного піка у відсотках від сумарної радіоактивності. Критерії оцінки придатності хроматографічної системи зазначені у статті 2.2.46 «Методи хроматографічного розділення». У даній статті також зазначені межі варіювання параметрів хроматографічної системи, у рамках яких зберігається відповідність критеріям придатності хроматографічної системи.

2.2.28. ГАЗОВА ХРОМАТОГРАФІЯ.

Газова хроматографія (ГХ) являє собою метод хроматографічного розділення, заснований на різному розподілі речовин між двома не змішуваними фазами, в якому газ-носій, є рухомий фазою, проходить через нерухому фазу, що знаходиться у колонці. Метод може бути застосований до легких або летких при нагріванні речовин або їх похідних.

Газова хроматографія заснована на механізмах адсорбції, масовому розподілу або розподілу за розмірами.

ОБАДНАННЯ

Обладнання складається з блоку вводу проб (інжектора), хроматографічної колонки, яка розміщена у термостаті, детектора і реєструючого пристрою (інтегруючого пристрою або пристрою запису спектрів). Газ-носій проходить із заданою швидкістю або тиском через колонку, а потім через детектор.

Визначення проводять при постійній температурі колонки або у відповідно із заданою температурною програмою.

ІНЖЕКТОРИ.

Пряме введення розчинів є звичайним способом вводу проб, при відсутності інших вказівок у приватній фармакопейній статті. Введення проби може здійснюватися або безпосередньо на початок колонки з

використанням шприца або інжекторного клапана, або у випарник, який може оснащуватися дільником потоку.

Введення парової фази може здійснюватися з використанням статичної або динамічної парофазної системи вводу.

Динамічна парофазна (продувка і уловлювач) система включає введення барботажної установки, за допомогою якої леткі речовини у розчині продуваються через поглинаючу трубку при невисокій температурі. Утримувані речовини потім десорбуються у рухому фазу при швидкому нагріванні поглинальної трубки.

Статична парофазна система введення включає термостатовану нагріту камеру для зразків, в яку поміщені закриті флакони з твердими або рідкими зразками на фіксований період часу, дозволяє летким компонентам зразка досягти рівноваги між негазовою та паровою фазами. Після досягнення рівноваги задану кількість парової фази з флаконів вводиться в газовий хроматограф.

НЕРУХОМІ ФАЗИ.

Типи колонок, заповнених нерухомими фазами:

- капілярні кварцові колонки, внутрішні стінки яких покриті нерухомою фазою;
- набивні колонки, заповнені інертними частками, імпрегнованими нерухомою фазою;
- набивні колонки, заповнені твердої нерухомою фазою.

Капілярні колонки мають внутрішній діаметр від 0,1 мм до 0,53 мм і довжину від 5 м до 60 м. Рідина або нерухома фаза, яка може бути хімічно пов'язана з внутрішньою поверхнею, являє собою плівку товщиною від 0,1 мкм до 5,0 мкм.

Набивні колонки, виготовлені зі скла або металу, мають довжину зазвичай від 1 м до 3 м і внутрішній діаметр від 2 мм до 4 мм. Нерухома фаза зазвичай складається з пористих полімерів або твердих носіїв, імпрегнованих рідкою фазою.

Щоб уникнути утворення піку з подовженим заднім фронтом («хвостом») при визначенні полярних сполук на колонках, заповнених нерухомою фазою з низькою ємкістю та низькою полярністю, слід використовувати інертні носії. Реакційна здатність носіїв може бути знижена шляхом силанізування, попереднього нанесення рідкої фази. Зазвичай використовують оброблені кислотою та прожарені діатомітом. Розмір часток може бути різний, але найбільш часто використовуються частинки розміром від 150 мкм до 180 мкм і від 125 мкм до 150 мкм.

РУХОМІ ФАЗИ.

Час утримування і характеристики піку залежать від швидкості потоку газу-носія; час утримування прямо пропорційний довжині колонки, а ступінь розділення пропорційний квадратному кореню з довжини колонки. Для набивних колонок швидкість потоку газу-носія зазвичай виражають у мілілітрах за хвилину при атмосферному тиску та кімнатній температурі.

Швидкість потоку вимірюється при робочій температурі на виході з колонки детектора за допомогою каліброваного механічного пристрою або пінного вимірювача. Лінійна швидкість газу-носія через набивна колонку зворотно пропорційна кореню квадратному з внутрішнього діаметра колонки для заданого об'єму потоку. Швидкість потоку 60 мл/хв при внутрішньому діаметрі колонки 4 мм і 15 мл/хв при внутрішньому діаметрі 2 мм дають ідентичні лінійні швидкості і, отже, близькі часи утримування.

У якості газу-носія для набивних колонок зазвичай використовують гелій або азот, для капілярних — азот, гелій і водень.

ДЕТЕКТОРИ.

Зазвичай використовують полуменево-іонізаційні детектори; крім цього, в залежності від мети аналізу можуть застосовуватися наступні типи детекторів: електронного захоплення, азотно-фосфорний, мас-спектрометричний, термокондуктометрический, ІЧ-спектрофотометричний з Фур'є-перетворенням та інші.

МЕТОДМІКА.

Колонку, блок введення проби і детектор врівноважують при зазначеній у приватній фармакопейній статті температурі і швидкості газу-носія до отримання стабільної базової лінії. Готують випробуваний розчин та розчин порівняння, як зазначено у приватній фармакопейній статті. Розчини не повинні містити твердих частинок.

Критерії оцінки придатності хроматографічної системи описані узагальною фармакопейній статті 2.2.46. Методи Хроматографічного розділення. У цій статті також наведені межі, в яких можуть коригуватися параметри хроматографічної системи для відповідності критеріям її придатності.

СТАТИЧНА ПАРОФАЗНА ГАЗОВА ХРОМАТОГРАФІЯ.

Статична парофазна газова хроматографія є методом, який найбільш підходить для розділення та визначення летких сполук, які присутні у твердих або рідких зразках. Метод заснований на аналізі парової фази, що знаходиться у рівновазі з твердою або рідкою фазою.

ОБЛАДНАННЯ.

Обладнання складається з газового хроматографа, який має блок для введення випробуваного зразка, який може бути пов'язаний з модулем автоматичного контролю тиску і температури. При необхідності використовують пристрій для видалення розчинників.

Випробуваний зразок вносять у флакон, який має відповідну пробку і клапанну систему, яка регулює проходження газу-носія. Флакон поміщають в термостатуєму камеру з температурою, яка встановлюється у відповідно з властивостями випробуваного зразка. Флакон витримують при заданій температурі протягом часу, достатнього для встановлення рівноваги між твердою або рідкою фазою і паровою фазою.

У флакон вводять газ-носії і після закінчення зазначеного часу відкривають клапан, щоб газ надходив у хроматографічну колонку, переносячи з собою компоненти, які перейшли у парову фазу.

Замість спеціально оснащеного блоку для вводу проб хроматографа можливе використання газових шприців і звичайного хроматографа.

Урівноваження в такому разі проводиться в окремій камері, а парова фаза вводиться в колонку з дотриманням необхідних запобіжних заходів для запобігання будь-яких змін до рівноважної системі.

2.2.29. РІДИННА ХРОМАТОГРАФІЯ.

Рідинна хроматографія (РХ) представляє метод поділу, заснований на різному розподілі речовин між двома фазами, що не змішуються, в якому рухомий фазою є рідина, що переміщається через нерухому фазу, поміщену в колонку.

Якщо немає інших зазначень, уся наведена нижче інформація застосована як для класичної РХ, так і для РХ, в якій використовуються колонки з меншим розміром частинок (наприклад, до 2 мкм).

В останньому випадку потрібне обладнання, що характеризується наступним: можливість використання високих тисків (зазвичай до 100 МПа, тобто близько 15 000 psi), збільш вузькою поза колонковою зоною розмивання, поліпшеним градієнтним змішуванням і більш високою частотою аналогово-цифрового перетворення в системі детектування.

Рідинна хроматографія в залежності від механізму поділу речовин може бути адсорбційна, розподільна, іонообмінна, ексклюзивна, хіральна та ін. у відповідності з характером основних міжмолекулярних взаємодій. Кожен з цих видів може бути високоефективним, якщо для проведення хроматографії використовується режим хроматографування з високим тиском у колонці.

ОБЛАДНАННЯ.

Обладнання зазвичай складається з пристрою підготовки рухомої фази з системою дегазації, насосної системи, змішувача рухомої фази (при необхідності), блоку вводу проби (інжектора), хроматографічної колонки (може використовуватися пристрій контролю температури колонки),

детектора і системи збору і обробки даних (інтегруючого пристрою або самописця).

Рухома фаза з однієї або декількох ємностей зазвичай протікає з постійною швидкістю через колонку, а потім через детектор.

НАСОСНА СИСТЕМА.

Насосна система необхідна для підтримки контрольованої швидкості подання рухомої фази. Коливання тиску повинні бути мінімізовані, наприклад, шляхом пропускання рухомої фази, що знаходиться під тиском, через демпферний пристрій. Провідна система капілярів і сполучні вузли повинні витримувати тиск, що розвивається при роботі насосної системи. Насосні системи, що використовуються в рідинній хроматографії, можуть оснащуватися дегазаторами. Системи подачі рухомої фази, контрольовані мікропроцесором, повинні забезпечувати точну подачу рухомої фази постійного або змінного складу згідно з певною програмою. У разі градієнтного елюювання використовують насосні системи, що подають розчинник (розчинники) з декількох резервуарів, змішування яких відбувається при низькому або високому тиску, створюваному насосами.

БЛОК ВВОДУ ПРОБ (ІНЖЕКТОР).

Розчин випробуваного зразка вводиться в потік рухомої фази, надходить в колонку, за допомогою блоку введення проб, що функціонує при високому тиску. Для введення проби використовують дозатори петльові фіксованого обсягу або пристрої з регульованим об'ємом, які можуть управлятися вручну або автоматично. Часткове заповнення петльового дозатора вручну знижує точність введеного об'єму проби.

НЕРУХОМА ФАЗА.

У рідинній хроматографії використовується велика кількість типів нерухомих фаз:

– силікагель, оксид алюмінію або пористий графіт, який використовується у нормальнофазовій хроматографії, в якій розділення

засновано на різниці в адсорбції і/або масовому розподілу (розподільна хроматографія);

– велика кількість хімічно модифікованих носіїв, виготовлених з полімерів, силікагелю або пористого графіту, використовуваних в нормально-фазовій (адсорбційна хроматографія) і оберненофазовій хроматографії, у якій розділення засновано на поділі молекул між рухомою і нерухомою фазою;

– смоли або полімери, модифіковані кислотними або основними групами, що використовуються в іонообмінній хроматографії, в якій поділ заснован на конкуруючій взаємодії між іонами і розділяються іонами рухомої фази;

– пористий силікагель або полімери, які використовуються в ексклюзивній хроматографії, у якій розділення засновано на різниці в розмірах молекул, відповідних стеричній ексклюзії;

– спеціальні хімічно модифіковані нерухомі фази, наприклад, похідні целюлози або амілози, білки і пептиди, циклодекстрини та ін., що використовуються для розділення енантіомерів (хроматографія на хіральных нерухомих фазах);

– інші нерухомі фази, використовувані у високоефективних модифікаціях різних типів рідинної хроматографії.

Велика частина поділів заснована на механізмі розподілу між хімічно модифікованим силікагелем, що використовується в якості нерухомої фази, і полярними розчинниками, що використовуються у якості рухомої фази. Поверхня носія, наприклад, силанольні групи силікагелю, реагують з різними силановими реагентами з утворенням ковалентнопов'язаних силільних похідних, що покривають різне число активних груп на поверхні носія. Природа прищепленої фази є важливою характеристикою, що визначає розділяючі властивості хроматографічної системи.

Нижче представлені найбільш часто використовувані щеплені фази:

Октильная – $\text{Si}-[\text{CH}_2]^7-\text{CH}_3$ C₈

Октадецильна – $\text{Si}-[\text{CH}_2]_{17}-\text{CH}_3$ C_{18}

Фенільна – $\text{Si}-[\text{CH}_2]_n-\text{C}_6\text{H}_5$ C_6H_5

Ціанопропільна – $\text{Si}-[\text{CH}_2]_3-\text{CN}$ CN

Амінопропільна – $\text{Si}-[\text{CH}_2]_3-\text{NH}_2$ NH_2

Діольна – $\text{Si}-[\text{CH}_2]_3-\text{O}-\text{CH}(\text{OH})-\text{CH}_2-\text{OH}$

При відсутності інших вказівок виробника, що знаходиться у колонках оберненофазової нерухомої фази на основі силікагелю вважається стабільною рухомою фазою при значеннях рН в діапазоні від 2,0 до 8,0.

Колонки, містять пористий графіт або частки полімерних матеріалів, наприклад, сополімер стиролдивінілбензолу, стабільні в більш широкому діапазоні значень рН.

У деяких випадках для аналізу застосовують нормально фазову хроматографію, використовуючи в якості нерухомої фази модифікований силікагель, пористий графіт або силікагель, хімічно модифікований полярними групами (наприклад, ціанопропільними або діольними).

Розмір частинок для більшості використовуваних нерухомих фаз становить від 2 мкм до 10 мкм. Частинки можуть мати сферичну або неправильну форму, різну пористість і питому площу поверхні.

Ці параметри визначають хроматографічну поведінку конкретних нерухомих фаз. У оберненофазовій хроматографії додатковими визначальними факторами є природа нерухомої фази, ступінь зв'язування, що виражається вмістом вуглецю, і ендкепіювання.

Крім пористих частинок можуть бути використані поверхнево-пористі або монолітні матеріали.

При відсутності інших вказівок у приватній фармакопейній статті аналітичної хроматографії використовують колонки з нержавіючої сталі різної довжини і внутрішнього діаметра. Колонки з внутрішнім діаметром менше 2 мм часто відносять до мікроколонок. Температура рухомої фази і колонки протягом аналізу повинна бути постійною. Більшість аналізів

проводиться при кімнатній температурі, але для забезпечення оптимального функціонування колонки може знадобитися використання інших температур.

РУХОМА ФАЗА.

У нормальнофазовій хроматографії зазвичай використовують мало полярні органічні розчинники (гексан, циклогексан, гептан та ін.) з невеликими добавками полярних органічних сполук. Для отримання відтворюваних результатів у нормальнофазовій хроматографії необхідно суворо контролювати вміст води у розчинниках, які використовуються в рухомій фазі.

У оберненофазовій хроматографії використовують водні рухливі фази, що містять або не містять органічні розчинники.

Органічними добавками зазвичай служать полярні органічні розчинники (ацетонітрил та метанол). Для оптимізації розподілу можуть використовуватися водні розчини з певним значенням рН, зокрема буферні розчини, а також різні добавки в рухомій фазі: фосфорна і оцтова кислоти при поділі сполук кислотного характеру; аміак та аліфатичні аміни при поділі сполук основного характеру, та інші модифікатори.

Компоненти рухомої фази зазвичай фільтрують для видалення частинок з розміром більше 0,45 мкм (або 0,2 мкм, якщо нерухома фаза складається з частинок розміром менше 2 мкм, а також, якщо використовуються спеціальні детектори, наприклад, детектор світлорозсіювання). При приготуванні багатоконпонентних рухомих фаз змішують відміряні обсяги (якщо маса не вказана) індивідуальних компонентів. Крім цього, розчинники можуть подаватися індивідуальними насосами, забезпеченими дозуючими клапанами, за допомогою яких здійснюють змішування розчинників у необхідних пропорціях.

Щоб уникнути утворення бульбашок газу і попадання їх в клітинку детектора розчинники зазвичай дегазують шляхом пропускання через них гелію, обробкою ультразвуком і/або використанням мембранно-вакуумних модулів, що працюють в режимі «on-line».

Розчинники для приготування рухливих фаз зазвичай не містять стабілізаторів, а при використанні ультрафіолетових детекторів повинні бути прозорими при довжині хвилі детектування. Розчинники та інші компоненти рухомої фази повинні бути прийнятною якості. При необхідності значення рН коригують, використовуючи тільки водний компонент рухомий фази, але не суміші. При використанні буферних або сольових розчинів для запобігання кристалізації солей по закінченні хроматографії систему промивають сумішшю води і невеликої кількості органічної частини рухомої фази (5 %).

Рухливі фази можуть містити інші компоненти, наприклад, протиіони для іон-парної хроматографії або хіральні селектори для хроматографії, що використовує ахіральні нерухомі фази.

ДЕТЕКТОРИ.

Найбільш часто в якості детекторів використовують спектрофотометри, які працюють в ультрафіолетовій/видимій областях. Спектрофотометричний детектор дозволяє проводити детектування при будь-якій довжині хвилі в його робочому діапазоні (як правило, 190-600 нм). Застосовуються також багатохвильові детектори, що дозволяють проводити детектування при декількох довжинах хвиль одночасно, та діодноматричні детектори, за допомогою яких можна реєструвати оптичну щільність одночасно у всьому робочому діапазоні довжин хвиль (як правило, 190-950 нм).

Флуоресцентний детектор застосовується для визначення флуоресціюючих сполук або не флуоресціюючих сполук у вигляді їх флуоресціюючих похідних, і володіють дуже високою чутливістю та селективністю.

Для визначення сполук, слабопоглинаючих в ультрафіолетовій та видимій частині спектру (наприклад вуглеводів), використовують рефрактометричні детектори (рефрактометри). Недоліки цих детекторів – їх відносно низька чутливість і значна температурна залежність інтенсивності сигналу (детектор необхідно термостатувати), а також неможливість їх використання у режимі градієнтного елюювання.

Крім того, можуть використовуватися детектори електрохімічні (амперометричний, кондуктометричний) для електроактивних сполук, світлорозсіюючі детектори, детектори заряджених аерозолів, маспектрометричні детектори, що володіють дуже високою чутливістю і селективністю, Фур'є-ІЧ-детектори, детектори радіоактивності та інші.

МЕТОДИКА.

Колонку врівноважують при зазначеному складі і швидкості рухомої фази, а також при кімнатній температурі або температурі, зазначеній у приватній фармакопейній статті, до отримання стабільної базової лінії. Готують випробуваний розчин і розчин порівняння, у відповідності з вказівками приватної фармакопейної статті. Розчини не повинні містити твердих частинок. Критерії оцінки придатності хроматографічної системи описані у загальній фармакопейній статті 2.2.46. Методи Хроматографічного розділення. У цій статті також наведені межі, в яких можуть коригуватися параметри хроматографічної системи без принципової зміни методики для відповідності критеріям її придатності.

2.2.43. МАС-СПЕКТРОМЕТРІЯ.

Мас-спектрометрія заснована на прямому вимірюванні відношення маси до числа елементарних позитивних чи від'ємних зарядів іонів (m/z), отриманих з аналізованої речовини, яка знаходиться в газовій фазі. Дане відношення виражається в атомних одиницях маси (1 а.о.м. = однієї дванадцятої маси нукліда ^{12}C) або в дальтонах (1 Да = масі атома водню).

Іони, утворені в іонному джерелі, прискорюються і перед попаданням в детектор поділяються за допомогою мас-аналізатора. Всі ці дії відбуваються в камері, в якій насосна система підтримує вакуум від 10^{-3} до 10^{-6} Па.

Результуючий мас-спектр є графіком залежності відносної кількості різних іонів від відношення m/z . Сигнал, що відповідає іону, представлений декількома піками, відповідними статистичному розподілу різних ізотопів цього іона. Такий сигнал називається ізотопним профілем, а пік, що

представляє найбільш поширені ізотопи для кожного атома, - моноізотопним піком.

Мас-спектрометричний аналіз дає важливу якісну (визначення молекулярних мас; інформація, що стосується структури фрагментів) і кількісну (з використанням зовнішнього або внутрішнього стандартів) інформацію з межею виявлення від пікомоля до фемтомоля.

ВВЕДЕННЯ ЗРАЗКА.

Першою стадією аналізу є введення зразка в прилад без значного порушення вакууму. У широко розповсюдженому методі, званому прямим введенням рідини, зразок поміщається на кінець циліндричного штока (в кварцовому тиглі, на дроті або на металевій поверхні). Цей шток через вакуумний шлюз, в якому підтримується первинний проміжний вакуум між атмосферним тиском і вторинним вакуумом приладу, вводиться в спектрометр.

Інші системи введення дозволяють проаналізувати компоненти суміші, так як вони поділяються за допомогою відповідного пристрою, сполученого з мас-спектрометром.

Газова хроматографія/мас-спектрометрія. При використанні відповідних колонок (капілярні або напівкапілярні) можливо безпосереднє введення кінця колонки в іонне джерело приладу без застосування сепаратора.

Рідинна хроматографія/мас-спектрометрія. Така комбінація особливо корисна для аналізу полярних сполук, які є недостатньо летючими або занадто термолабільними, для того щоб їх можна була проаналізувати методом газової хроматографії в поєднанні з мас-спектрометрією. Даний метод ускладнюється труднощами одержання іонів у газовій фазі з рідкої фазою, що вимагає застосування спеціальних інтерфейсів, таких як:

-пряме рідинне введення: рухома фаза розпорошується і розчинник випаровується перед іонним джерелом приладу,

- інтерфейс з потоку частинок: рухома фаза, швидкість якої може досягати 0,6 мл/хв, розпилюється в десольватаційній камері, у результаті в іонному джерелі приладу потрапляють лише аналізовані речовини в нейтральній формі; даний спосіб може бути використаний для сполук з відносно низькою полярністю і молекулярними масами менше 1000 Да,

- інтерфейс з рухомої смугою: рухома фаза, швидкість якої може досягати 1 мл/хв, наноситься на поверхню рухомої смуги; після випаровування розчинника аналізовані речовини переносяться до іонного джерела приладу, де піддаються іонізації; даний спосіб не підходить для дуже полярних або термолабільних сполук.

Інші види інтерфейсів (електророзпилення, терморозпилення, хімічна іонізація при атмосферному тиску) можуть розглядатися як самостійні методи іонізації і описані у розділі, присвяченому способам іонізації.

Суперкритична хроматографія/мас-спектрометрія. Рухома фаза, зазвичай складається з діоксиду вуглецю у суперкритичному стані, переходить у газоподібний стан після проходження через нагрітий капіляр, що знаходиться між колонкою і іонним джерелом.

Капілярний електрофорез/мас-спектрометрія. Елюент вводиться в іонне джерело, у деяких випадках після додавання розчинника, для того щоб досягти швидкості потоку порядку декількох мілілітрів за хвилину. Обмеженнями даного методу є малі кількості введеного зразка і необхідність використовувати летючі буферні розчини.

СПОСОБИ ІОНІЗАЦІЇ.

Електронний удар. Зразок, що знаходиться в газоподібному стані, іонізується потоком електронів, енергія яких (зазвичай 70 еВ) більше енергії іонізації зразка. При цьому крім молекулярного іона M^+ утворюються осколкові іони характерні для даної молекулярної структури. Головним обмеженням даного способу є необхідність випаровування зразка, що робить неможливим його застосування для полярних, термолабільних або високомолекулярних сполук. Іонізація електронним ударом може бути

використана у газовій хроматографії, з'єднаної з мас-спектрометрією, а у деяких випадках і у рідинної хроматографії.

Хімічна іонізація. Цей тип іонізації передбачає використання реагентного газу, такого як метан, аміак, монооксид азоту, діоксид азоту або кисень. Спектр характеризується іонами $(M^+H)^+$ або $(M-H)^-$ типів або іонами-аддуктами, утвореними з аналіту і використовуваного газу. Осколкові іони утворюються рідше, ніж при іонізації електронним ударом. Для термолабільних речовин використовується різновид цього методу іонізації, при якій зразок, що знаходиться на дроті, дуже швидко випаровується внаслідок ефекту Джоуля-Томсона.

Бомбардування швидкими атомами (FAB) або іонізація бомбардуванням швидкими іонами (рідинна мас-спектрометрія вторинних іонів - LSIMS). Зразок, розчинений у в'язкій матриці, наприклад в гліцерині, наноситься на металеву поверхню і іонізується потоком нейтральних атомів, наприклад, аргону або ксенону або володіють великою кінетичною енергією іонами цезію. Утворюються іони $(M^+H)^+$ або $(M-H)^-$ типів або іони-аддукти, сформовані матрицею або зразком. Даний тип іонізації добре підходить для полярних, термолабільних сполук, що мають молекулярну масу до 10000 Да. При додаванні до рухомій фазі 1 - 2% гліцерину він може бути використаний для рідинної хроматографії, однак швидкість рухомої фази повинна бути дуже низькою (кілька мікролітрів за хвилину). При нанесенні тонкого шару матриці на поверхню хроматографічних пластинок такий спосіб іонізації може бути використаний і в тонкошарової хроматографії.

Польова десорбція або польова іонізація. Зразок випаровується близько вольфрамового дроту, покритого мікроіглами (польова іонізація) або поміщається на цей дріт (польова десорбція). Сильне електричне поле (напруга близько 10 кВ), що виникає між дротом і протиелектродом, іонізує зразок. При даних способах іонізації утворюються переважно молекулярні іони M^+ і $(M^+H)^+$ іони. Ці способи використовуються для малополярних та/або термолабільних сполук.

Лазерна десорбція - іонізація за допомогою матриці (MALDI). Зразок змішаний з відповідною матрицею і поміщений на металеву підкладку, іонізується імпульсним лазерним випромінюванням з довжиною хвилі від УФ - до ІЧ-діапазону (тривалість імпульсів може становити від пікосекунди до декількох наносекунд). Даний спосіб іонізації відіграє важливу роль при аналізі сполук з дуже великою молекулярною масою (більш ніж 100 000 Да), але обмежений використанням часопротітного аналізатора.

Електророзпилення. Даний спосіб іонізації проводиться при атмосферному тиску. Зразок, що знаходиться в розчині, вводиться в джерело через капіляр, кінець якого має потенціал близько 5 кВ. Для полегшення розпилення може використовуватися газ. Швидкість рухомої фази при даному виді іонізації можуть змінюватися від декількох мікролітрів за хвилину до 1 мл/хв. Така іонізація підходить для полярних сполук, а також для дослідження біомолекул з молекулярними масами до 100 000 Да. Вона може поєднуватися з рідинною хроматографією або капілярним електрофорезом.

Хімічна іонізація при атмосферному тиску (APCI). Іонізація проводиться при атмосферному тиску під дією електрода, що має потенціал кілька кіловольт і поміщеного на шляху рухомої фази, яка розпилюється як внаслідок теплових ефектів, так і завдяки використанню потоку азоту. Утворені іони є однозарядними і відносяться до позитивного заряду типу $(M^+H)^+$ і до негативного заряду типу $(M^-H)^-$. Можливість використання високих швидкостей рухомої фази (до 2 мл/хв) робить цей спосіб іонізації ідеальним для поєднання з рідинною хроматографією.

Терморозпилення. Зразок, що знаходиться у рухомій фазі, що складається з води, органічних модифікаторів і містить летючий електроліт (зазвичай ацетат амонію) вводиться до розпиленої форми після проходження через металевий капіляр, температура якого контролюється. Допускаються швидкості рухомої фази приблизно 1 мл/хв - 2 мл/хв. Іони електроліту іонізують випробовувані речовини. Такий процес іонізації може бути

замінений або посилений електричним розрядом величиною близько 800 В, особливо при використанні тільки органічного розчинника. Даний спосіб іонізації дає використання рідинної хроматографії з мас-спектрометрією.

АНАЛІЗАТОРИ.

Відмінності у роботі аналізаторів залежать, головним чином, від двох параметрів:

- діапазон, в якому можуть бути виміряні відношення m/z (масовий діапазон),
- розрізнявальної здатності, що характеризується можливістю розділити два іона однакової інтенсивності з відносинами m/z , відмінними на і перекривання яких виражається при певному процентному перевищенні базової лінії; наприклад, дозвіл ($M/\Delta M$) дорівнює 1000 з 10% перевищенням базової лінії дозволяє провести поділ відносин m/z 1000 і 1001 з інтенсивністю до 10% над базовою лінією.

Магнітні та електростатичні аналізатори. Іони, утворені в іонному джерелі, прискорюються потенціалом V і фокусуються, в залежності від пристрою приладу, між магнітним (магнітне поле B) або електростатичним аналізаторами (електростатичне поле E). У відповідності з законом Лапласа вони переміщуються за траєкторією з радіусом r

$$m/z = B^2 r^2 / 2V$$

Для накопичення і вимірювання різних іонів, що утворюються у джерелі, можуть бути використані два типи сканування: зміна B при постійній величині V або зміна V при постійній величині B . Максимальна роздільна здатність такого приладу (подвійний сектор) змінюється від 10000 до 150000 і в більшості випадків дозволяє досить точно оцінити величину відносин m/z для визначення елементного складу відповідних іонів. Для однозарядних іонів масовий діапазон дорівнює від 2000 до 15000 Да. Деякі іони можуть руйнуватися спонтанно (метастабільні переходи) або при зіткненні з газом (дисоціація, активована зіткненням (CAD)) в областях між іонним джерелом і детектором, де відсутнє поле. Дослідження цих процесів

руйнування дуже корисно для визначення структури та характеристики певної сполуки, що входить до складу суміші, і робить можливим використання тандемної мас-спектрометрії. В залежності від місця, в якому протікають процеси розпаду, відомо багато методик, які можуть бути використані для цього:

- метод дочірніх іонів (визначення складу іонів, що утворилися при руйнуванні певного вихідного іона): $V/E = \text{стала}$, MIKES (Mass-analysed Ion Kinetic Energy Spectroscopy),

- метод вихідних іонів (визначення всіх іонів, що утворилися при руйнуванні іона з певним відношенням m/z): $V^2/E = \text{стала}$,

- метод нейтральної втрати (визначення всіх іонів, які втрачають ідентичні фрагменти): $V/E(1 - E/E_0)^{1/2} = \text{стала}$, де E_0 - базова напруга електричного сектора.

Квадрупольні аналізатори. Аналізатор складається з чотирьох паралельних металевих стрижнів, що мають циліндричний або гіперболічний поперечний переріз. Вони розташовані симетрично по відношенню до траєкторії руху іонів; пари протилежних стрижнів приєднані до електричного джерела. Потенціали двох пар стрижнів протилежні. Вони складаються з постійного та мінливого компонентів. Іони, утворені в іонному джерелі, пропускаються і поділяються внаслідок зміни потенціалів, прикладених до стрижнів, причому відношення постійного потенціалу до змінного повинно залишатися незмінним. Квадрупольні аналізатори зазвичай мають масовий діапазон від 1 а.м.о. до 2000 а.м.о., хоча у деяких випадках він може досягати 4000 а.м.о. Незважаючи на те, що такі аналізатори мають меншу роздільну здатність, ніж магнітні, вони дозволяють отримувати моно ізотопний профіль однозарядних іонів, отриманих у всьому масовому діапазоні. Для отримання спектрів можна використовувати три квадруполя, сполучених один з одним, Q_1 , Q_2 , Q_3 (Q_2 служить іонізаційною камерою, і в дійсності не є аналізатором; найчастіше у якості іонізуючого газу застосовують аргон).

Для отримання спектрів можливо поєднання квадрупольних аналізаторів з магнітними або електростатичними, такі прилади називають гібридними мас-спектрометрами.

Іонозахватний аналізатор. Дані аналізатори мають такий же принцип роботи, що і квадрупольні, але в них використовуються об'ємні електричні поля. Аналізатори такого типу дозволяють отримувати спектри іонів кількох генерацій (MS^n).

Аналізатори іон-циклотронного резонансу. Іони, що утворилися у камері і піддані дії інтенсивного магнітного поля, рухаються за круговими траєкторіями з частотами, які можуть бути безпосередньо пов'язані з величинами відносин m/z для цих іонів за допомогою алгоритму Фур'є. Дане явище називається іон-циклотронним резонансом. Аналізатори такого типу складаються з надпровідних магнітів і володіють дуже високою роздільною здатністю (до 1000000 і вище), а також дозволяють отримувати MS^n спектри. Їх недоліком є необхідність використання дуже глибокого вакууму (порядку 10^{-7} Па).

Часопролітні аналізатори. Іони, утворені у іонному джерелі, прискорюються потенціалом величиною від 10 кВ до 20 кВ. Вони проходять через аналізатор, який складається з безпольової трубки довжиною від 25 см до 1,5 м, яка називається пролітна трубка.

Час (t), за який іон досягає детектора, пропорційний квадратному кореню з відношення m/z . Теоретично масовий діапазон для такого аналізатора нескінченний. Практично він визначається методом іонізації або десорбції. Часопролітні аналізатори використовуються, головним чином, для високомолекулярних сполук (аж до декількох сотень тисяч дальтонів). Даний спосіб іонізації володіє дуже високою чутливістю (досить кількох пікомолів речовини). Точність вимірювань та розрізнявальна здатність таких приладів можуть бути значно підвищені при використанні електростатичного відбивача (рефлектора).

ВИЯВЛЕННЯ СИГНАЛУ.

Є три можливих режиму отримання сигналу.

Повний спектральний метод. Записується повний сигнал, отриманий для вибраного масового діапазону. Спектр являє собою залежність відносної інтенсивності різних іонів від величини m/z . Отримані результати є, головним чином, якісними. Для більш швидкої ідентифікації можливе використання бібліотек порівняння спектрів.

Фрагментометричний режим (селективне сканування іонів). Одержуваний сигнал обмежений одним (сканування одного іона, single-ion monitoring (SIM)) або кількома (множинне іонне сканування, multiple-ion monitoring (MIM)) іонами, характерними для аналізованої речовини. У цьому режимі межа виявлення значно нижче. При використанні внутрішнього або зовнішнього стандартів (наприклад, дейтеровані стандарти) можуть бути проведені кількісні абонапівкількісні вимірювання.

Питання для самоконтролю:

1. Хроматографічне розділення речовин. Принципи. Види хроматографії. У чому переваги і недоліки висхідної та низхідної хроматографії?
2. Хто винайшов метод хроматографії? У чому особливості та переваги тонкошарової хроматографії в порівнянні з паперовою?
3. Спектрофотометрія. Основа методу. Види спектрофотометрії.
4. Газометр. Газоаналізатори. Використання у фізіології та біохімії рослин.
5. Поляризаційні методи дослідження функцій рослинних клітин і тканин.
6. Органічні кислоти. Методи визначення у рослинах.
7. Амінокислоти. Методи виділення та ідентифікації. Кількісне визначення.

Практична робота

Завдання 1. Екстракція, хроматографічне розділення, ідентифікація і визначення вмісту амінокислот у фітопрепаратах чи в рослинній сировині.

1. Метод розподільної хроматографії в тонкому шарі сорбенту. Виявлення глютамінової кислоти в гранулах або таблетках. 1 г гранул або 2 таблетки глютамінової кислоти поміщають у мірну колбу місткістю 100 мл, доводять водою до мітки, перемішують і відстоюють. На пластинці «Силуфол» на відстані 1—1,5 см від нижнього кінця проводять лінію старту простим олівцем і мікропіпеткою наносять на відстані 1,5 см один від одного 0,01 мл (10 мкг) 0,1 %-вого розчину кислоти глютамінової і 0,01 мл (10 мкг) вищевказаного приготовленого розчину гранул або таблеток. Після підсихання плями пластинку поміщають у чашку Петрі (або ексікатор, на дно якого налито 5—7 мл суміші n-пропілового спирту і води в співвідношенні 7:3). По досягненню розчинником верхньої межі (1 см від верхнього краю пластинки) пластинку виймають, відмічають лінію фронту розчинника і висушують на повітрі протягом 10 хв. Потім пластинку проявляють 0,2 %-вим розчином нінгідрину в 0,5 %-вому спирті і витримують у сушильній шафі при температурі 100—105 °С протягом 10 хв. На хроматограмі в досліджуваному розчині має з'явитися пляма рожевого кольору на рівні плями стандартного зразка речовини-свідка. Замість пластинки «Силуфол» можна виготовити пластинки, покривши їх целюлозою. Для цього ретельно вимиті та знежирені скляні пластинки покривають (за допомогою аплікатора) суспензією целюлози і води (3 г целюлози, 14 мл води на одну пластинку) та висушують при кімнатній температурі протягом 12 год. Подальші операції проводять як вказано вище.

Практичні нотатки

Завдання 2. Виділення органічних кислот. Визначення суми органічних кислот.

1. Для виділення органічних кислот з ЛРС з метою якісного виявлення та кількісного визначення використовують екстракцію діетиловим етером, ацетоном при підкисленні мінеральними кислотами. Органічні кислоти часто виділяють шляхом висадження у вигляді солей плюмбуму (з водних розчинів) або барієвих солей (зі спиртових розчинів). З усіх кислот, що зустрічаються у рослинах лише тартратна кислота утворює нерозчинну в спирті калієву сіль

2. Кількісне визначення органічних кислот за ДФУ вид. 2, т. 3 «Гібіскусу квітки – *Hibisci sabdariffae flos*»:

1.00 г здрібненої на порошок сировини (355) (2.9.12) струшують із 100.0 мл води, вільної від вуглецю діоксиду, Р протягом 15 хв і фільтрують. До 50.0 мл одержаного фільтрату додають 100 мл води, вільної від вуглецю діоксиду, Р і титрують 0.1М розчином натрію гідроксиду до рН 7.0 потенціометрично (2.2.20).

1 мл 0.1 М розчину натрію гідроксиду відповідає 6.4 мг лимонної кислоти.

Практичні нотатки

Завдання 3. Провести якісне хроматографічне виявлення аскорбінової кислоти у лікарській рослинній сировині:

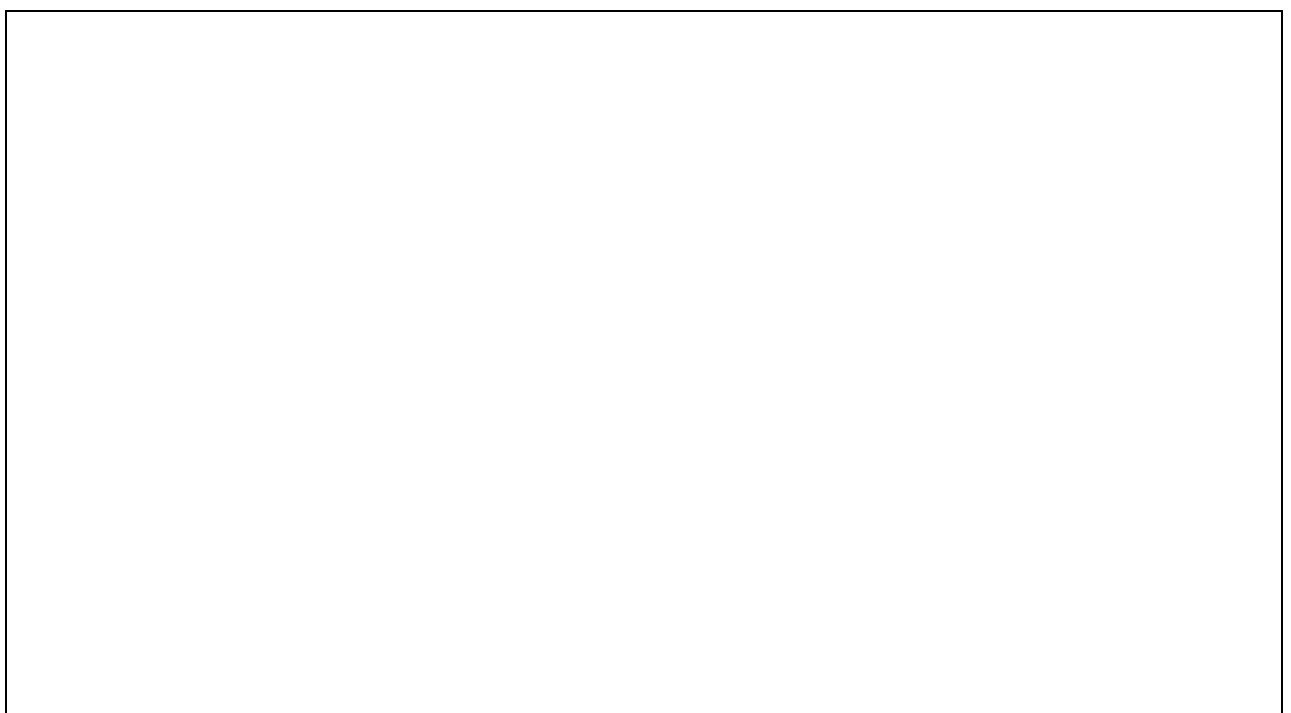
а) хроматографія на папері: система розчинників БОВ(4:1:5), проявник – 0,04% розчин 2,6-дихлорфеноліндофенолят натрію в воді. Аскорбінова кислота проявляється у вигляді білої плями на рожевому фоні.

Практичні нотатки



б) хроматографія на пластинці “Силуфол”: система розчинників – 15% розчин оцтової кислоти, проявник 0,04% розчин 2,6-дихлорфеноліндофенолят натрію.

Практичні нотатки



Тести для виявлення кінцевого рівня знань

1. ДФУ рекомендує ідентифікацію фруктози методом:

- A. Тонкошарової хроматографії
- B. Газової хроматографії з мас-спектрометрією
- C. Високоєфективної рідинної хроматографії
- D. Поляриметрії
- E. Рефрактометрії

2. При здійсненні контролю якості ДФУ регламентує проведення розділення, при якому рухома рідка фаза перемішається по капілярах і поверхні нерухомої фази, якою є фільтрувальний папір або речовини, попередньо нанесені на його волокна за монографією:

- A. 2.2.26. “Хроматографія на папері”
- B. 2.2.27. “Тонкошарова хроматографія”
- C. 2.2.28. “Газова хроматографія”
- D. 2.2.29. “Рідинна хроматографія”
- E. 2.2.30. “Ексклюзивна хроматографія”

3. При хроматографуванні арбутину хроматограму обробляють:

- A. Реактивом Паулі
- B. Реактивом Майєра
- C. Реактивом Драгендорфа
- D. Реактивом Маркі
- E. Реактивом Шейблера

4. Арбутин на хроматограмі проявляється у вигляді:
- A. Яскраво-червоної плями на білому фоні
 - B. Білої плями на рожевому фоні
 - C. Жовто-зеленої плями на синьому фоні
 - D. Синьої плями на білому фоні
 - E. Синьо-зеленої плями на рожевому фоні
5. Препарати кори крушини використовують як проносний засіб. Зміст діючих речовин – антрахінонів визначають методом:
- A. Спектрофотокolorиметричним
 - B. Хроматоспектрометричним і хімічним
 - C. Ваговим
 - D. Поляриметричним
 - E. Титриметричним
6. Яка реакція лежить в основі спектрофотометричного методу аналізу антраценпохідних в корі крушини?
- A. Утворення фенолятів з лужноаміачним розчином
 - B. Окислення антраценпохідних
 - C. Відновлення антрахінону
 - D. Осадження солі
 - E. Реакція сублімації
7. Для виявлення флавоноїдів в траві череди використовують метод паперової хроматографії. Яка фізична властивість дозволяє ідентифікувати флавоноїди череди на хроматограмі:
- A. Флюоресценція
 - B. Люмінесценція
 - C. Оптична активність
 - D. Питома вага
 - E. Показник заломлення
8. Який метод використовується для виділення низькомолекулярних дубильних речовин з ЛРС в лабораторних умовах?

- A. Хроматографічний
- B. Поляриметричний
- C. Спектрофотометричний
- D. Потенціометричний
- E. Екстракція

9. Хроматографічний аналіз є специфічним методом визначення доброякісності рослинної сировини і фітопрепаратів. Для ідентифікації індивідуальних речовин у хроматографічному аналізі визначають наступну величину:

- A. кут обертання
- B. температуру плавлення
- C. температуру кипіння
- D. кут заломлення
- E. величину Rf

10. Стандартизацію листя бобівника трилистого проводять по кількісному вмісту іридоїдів. Яким методом визначають доброякісність цієї сировини:

- A. метод потенціометричного титрування
- B. метод перманганатометричного титрування
- C. гравіметричний метод
- D. метод спектрофотометричного аналізу
- E. хроматографічне виявлення

ТЕМА 4. Сучасні методи контролю якості гомеопатичних засобів рослинного походження

Мета: освоєння сучасних методів контролю якості гомеопатичних засобів рослинного походження, вивчення та узагальнення вимог Державної Фармакопеї України щодо якості гомеопатичних лікарських засобів.

Форма та тривалість заняття: практичне (2 години)

Провізор-інтерн повинен уміти:

1. Проводити контроль фізико-хімічних властивостей і технологічних параметрів гомеопатичних засобів рослинного походження.
2. Проводити аналітичний контроль за діючими речовинами.

Мінімальний обсяг теоретичного матеріалу:

ОСНОВНИЙ МАТЕРІАЛ.

Гомеопатичні лікарські засоби (*Praeparationes homoeopathicas*) готують із речовин, продуктів або препаратів, що називаються базисними препаратами, відповідно до гомеопатичної виробничої практики. Гомеопатичні лікарські засоби звичайно позначаються латинською назвою базисного препарату з подальшим зазначенням ступеня розведення. Сировина для виробництва гомеопатичних лікарських засобів може бути природного або синтетичного походження.

Сировина рослинного, тваринного або людського походження може використовуватися у свіжому або висушеному вигляді. У відповідних випадках допускається зберігання свіжого матеріалу в замороженому вигляді. Сировина рослинного походження має відповідати вимогам статті «Лікарська рослинна сировина для гомеопатичних лікарських засобів». Якщо немає інших зазначень, для транспортування або зберігання свіжий рослинний матеріал може зберігатися в етанолі (96 % об/об) або в спирті підходящої концентрації за умови використання всього цього матеріалу разом із середовищем, в якому він зберігався, для подальшої переробки. Сировина має витримувати вимоги відповідних монографій Фармакопеї. Розріджувачі - допоміжні речовини, що використовуються для приготування певних базисних препаратів або для процесу потенціювання. Розріджувачами можуть бути, наприклад: вода очищена, спирт певної концентрації, гліцерин або лактоза. Розріджувачі мають витримувати вимоги відповідних

монографій Фармакопеї. Базисні препарати (stocks) - речовини, продукти або препарати, що використовуються як вихідні матеріали для виробництва гомеопатичних лікарських засобів. Базисні препарати звичайно являють собою: для сировини рослинного, тваринного або людського походження матричну настойку або гліцериновий мацерат; для сировини хімічного або мінерального походження безпосередньо саму речовину. Матричні настойки мають відповідати вимогам статті «Матричні настойки для гомеопатичних лікарських засобів». Гліцеринові мацерати - рідкі лікарські засоби, одержані із сировини рослинного, тваринного або людського походження із використанням 93 гліцерину або суміші гліцерину зі спиртом підхожої концентрації або розчином натрію хлориду певної концентрації. Розведення та тритурації одержують із базисного препарату за допомогою процесу потенціювання відповідно до гомеопатичної виробничої практики: це означає послідовне розведення та струшування або послідовні відповідні тритурації, або поєднання цих двох процесів. Лікарська форма гомеопатичного лікарського засобу має витримувати вимоги статті Фармакопеї на відповідну лікарську форму з такими особливостями: - активною субстанцією лікарських форм для гомеопатичного застосування є розведення або тритурації вихідних гомеопатичних базисних препаратів; - ці лікарські форми готують із використанням відповідних допоміжних речовин; - випробування на однорідність вмісту звичайно не проводять, однак у певних випадках це випробування необхідне. Усі допоміжні речовини, що використовуються, мають відповідати вимогам відповідних статей Фармакопеї. Лікарська рослинна сировина для гомеопатичних лікарських засобів (*Plantae medicinales ad praeparationes homeopathicae*), головним чином, цілі, здрібнені або нарізані рослини або частини рослин, у тому числі водорості, гриби або лишайники в необробленому вигляді - звичайно у свіжому, іноді у висушеному вигляді. Соки рослин, які не були піддані спеціальній обробці, також є рослинною сировиною для гомеопатичних лікарських засобів. Назва рослинної сировини для гомеопатичних лікарських

засобів точно визначається ботанічною науковою назвою вихідної рослинної сировини згідно з біноміальною системою (рід, вид, тип і автор). Матричні настойки для гомеопатичних лікарських засобів - рідкі лікарські засоби, одержані екстракцією сировини відповідним розчинником. Звичайно використовують свіжу сировину, але можливе використання й 94 висушеної сировини. Матричні настойки можуть бути також одержані з рослинних соків із додаванням або без додавання розріджувача. У деяких випадках вихідний матеріал попередньо обробляють. Відповідно до Наказу МОЗ України від 26.08.05 № 426 «Про затвердження Порядку проведення експертизи реєстраційних матеріалів на лікарські засоби, що подаються на державну реєстрацію (перереєстрацію), а також експертизи матеріалів про внесення змін до реєстраційних матеріалів протягом дії реєстраційного посвідчення» (із усіма змінами та доповненнями): Гомеопатичний лікарський засіб - будь-який лікарський засіб, виготовлений із продуктів, субстанцій або складових, які називаються гомеопатичною сировиною, відповідно до процедури виготовлення гомеопатичного лікарського засобу, описаної в Державній фармакопеї України або Європейській фармакопеї або в разі відсутності такого опису у Німецькій гомеопатичній фармакопеї (GHP), Гомеопатичній фармакопеї США (HPUS), Британській гомеопатичній фармакопеї (BHP), Гомеопатичній фармакопеї Швабе.

КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ ОСНОВНИХ ГОМЕОПАТИЧНИХ ПРЕПАРАТІВ.

Рідкі базисні препарати (есенції, настойки, розчини) контролюють відповідно до вимог керівництва В. Швабе й ДФ за наступними показниками:

- **відповідність запаху й смаку;**
- **прозорість** (відсутність механічних включень);
- **відповідність кольору**, тому що ряд препаратів, особливо приготовлених зі свіжих рослин, при тривалому зберіганні змінюють своє забарвлення (наприклад, часто спостерігається зміна зеленого забарвлення на коричневе, викликане в більшості випадків зміною

хлорофілу). Крім того, може також змінюватися інтенсивність забарвлення в різних пробах того самого препарату, незважаючи на рівний вміст лікарської речовини, що особливо помітно в великих розведеннях. Цей факт необхідно враховувати при оцінці наведених даних про забарвлення різних речовин.

Колір визначають візуально при денному світлі на матово-білому фоні (білий картон або папір для письма) у пробірках однакового скла діаметром 10 мм.

- капілярний і капілярно-люмінесцентний аналіз:

а) *капілярний аналіз есенцій, настоянок та рідких розведень* проводять за методом Плану: з фільтрувального або хроматографічного паперу одного сорту у напрямку, перпендикулярному текстурі паперу, нарізають смужки шириною 2 см та довжиною приблизно 25 см та підвішують у циліндричній скляній посудині висотою 5 см та діаметром близько 3 см так, щоб кінці паперових смужок діставали дна посудини. У посудину, якщо не обговорені інші умови проведення аналізу, поміщають 5 мл досліджуваного розчину. Посудину ставлять у тепле приміщення й через 24 г або до моменту, коли вся рідина буде поглинена, виймають смужки, просушують та досліджують при денному світлі або ж в УФ, випромінюваного кварцовою аналітичною лампою. При дослідженні більше високих розведень замість широких капілярних смужок використовуються смужки шириною не більше 2,5 мм.

При описі користуються розподілом на дві частини.

Верхня частина складається з водної зони й часто - зони у вигляді опуклості або еліптичної виїмки.

Нижня частина здебільшого складається з декількох зон, пофарбованих у різні кольори та основи.

Контролем служать дані капілярного аналізу есенцій або настоянок, наведені для кожного об'єкта в керівництві В. Швабе;

б) *капілярно-люмінесцентний аналіз*, розроблений Нейгебауером та Платцем, прийнятий у міжнародній гомеопатичній фармакопеї, уточнений і

пристосований для умов аптеки або лабораторії як метод, що дає ясну картину специфічності засобу й правильності готування ліків.

При спостереженні люмінесценції рідини, досліджуваної методом капілярного аналізу, доцільнішим також виявився поділ на дві частини.

Верхня частина складається з вузької самої верхньої зони, потім власне верхньої частини й основи верхньої частини, чітко зустрічаємого при люмінесценції цілого ряду препаратів.

Нижня частина складається з опуклої зони, або смуги, що складається з декількох зон та основи; смуга може займати всю нижню частину або тільки опуклу зону.

Дані капілярного аналізу спостерігають при світлі аналітичної Уф-лампи після просушки, тому що при цьому найбільш повно проявляється характерна люмінесценція. При спостереженні капілярних картин в ультрафіолетовому світлі, для того щоб уникнути помилок, необхідно звертати увагу на наступне: як при денному світлі, так і при висвітленні лампою спостереження потрібно завжди проводити на однаковому фоні, найкраще білому, за можливості не люмінесцентному. Крім того, треба знати, що й від фільтрувального паперу з'являється, як правило, блідо-голуба або синьо-фіолетова люмінесценція, а також, що різні речовини, наприклад молочний або тростинний цукор, мають часто власну люмінесценцію блакитних кольорів, що також може проявлятися при дослідженні спиртового екстракту й затрудняти визначення речовини. Етиловий спирт також має злегка блакитну люмінесценцію. Потрібно стежити й за тим, щоб у холостих проб з очищеною водою на верхньому кінці капілярних картин завжди з'являлася вузька зона, пофарбована в коричнюваті кольори. В ультрафіолетовому випромінюванні вона світиться яскраво-синім світлом. З метою більш точного дослідження препарат потрібно обробити відповідними реактивами, після чого можна спостерігати характерні зміни фарбування при денному, а особливо УФ світлі. Рекомендується рясно наносити розчин на всі зони скляною паличкою або краплинною піпеткою й проводити висушування

при злегка підвищеній температурі. У сумнівних випадках рекомендується проводити холосту пробу на тій же смужці паперу, але вище капілярної картини.



Якщо застосування реактивів недостатньо для доказу ідентичності, то можна використати наступний метод (друга капіляризація): досліджуваний фільтрувальний папір з капілярною картиною поміщають у пробірку, потім наливають (до верхньої границі капілярної картини) відповідний розчинник, найчастіше хлороформ (щоб перешкодити тому, щоб верхня частина випадково не була б бар'єром для розчинника й речовин, що розчиняються в ньому). Розчинник розчиняє усі, що затримуються у пофарбованій ділянці фільтрувального паперу розчинні речовини й разом з ними піднімається на папері. Потім ці речовини випаровуються й фіксуються у новій зоні, на верхньому краї пробірки.

Якщо ця «нова зона» виходить занадто слабкою, то дослід можна повторити з додатковою порцією розчинника й, отже, підвищити інтенсивність цієї зони. Якщо ця зона занадто темна, то можна знову нанести розчинник, розширивши цим зону й у такий спосіб просвітливши її.

Нова більш-менш широка зона має часто характерні кольори й при денному світлі, і при ультрафіолетовому висвітленні. Якщо буде потреба її дослідження, як і капілярної картини, можна продовжувати різними методами. Розчини перевіряють на люмінесценцію безпосередньо: для цього 1-2 мл поміщають у пробірку діаметром близько 1,5 см і спостерігають в ультрафіолетовому світлі. До розчину додають декілька крапель хлоридної

кислоти, щоб виключити, особливо при високих розведеннях, перешкоди, які можуть викликатися наявним лугом;

в) визначення щільності рідин - проводять за допомогою пікнометра або ареометра.

Метод 1. Застосовують у випадку визначення щільності рідин з точністю до 0,001. Чистий сухий пікнометр зважують із точністю до 0,0002 г, заповнюють за допомогою маленької лійки очищеною водою трохи вище мітки, закривають пробкою й витримують протягом 20 хв у термостаті, у якому підтримують постійну температуру води 20 °С з точністю до 0,1 °С. При цій температурі рівень води в пікнометрі доводять до мітки, швидко відбираючи надлишок води за допомогою піпетки або згорнутої в трубку смужки фільтрувального паперу. Пікнометр знову закривають пробкою й витримують у термостаті ще 10 хв. Потім пікнометр виймають із термостата, фільтрувальним папером витирають внутрішню поверхню пікнометра, залишають під склом аналітичних ваг протягом 10 хв і зважують із тією ж точністю.

Пікнометр звільняють від води, висушують, споліскуючи послідовно спиртом і ефіром (сушити пікнометр шляхом нагрівання не допускається), видаляють залишки ефіру продуванням повітря, заповнюють пікнометр випробуваною рідиною й потім роблять ті ж операції, що й з очищеною водою.

Щільність ρ_{20} (г/см³) обчислюють за формулою:

$$\rho_{20} = \frac{(m_2 - m_1) \cdot 0,99703}{m_1 - m} + 0,0012, \text{ де}$$

m — маса порожнього пікнометра, г;

m_1 — маса пікнометра з очищеною водою, г;

m_2 — маса пікнометра з випробуваною рідиною, г;

0,99703 — значення щільності води при 20 °С (у г/см³ з урахуванням щільності повітря);

0,0012 — значення щільності повітря при 20 °С та барометричному тиску 1011 гПа (760 мм рт. ст.).

Метод 2. Застосовують у випадку визначення щільності рідин з точністю до 0,01. Випробувану рідину поміщають у циліндр при температурі рідини 20 °С обережно опускають у неї чистий сухий ареометр, на шкалі якого передбачена очікувана величина щільності. Ареометр не випускають із рук доти, поки не стане очевидним, що він плаває; при цьому необхідно стежити, щоб ареометр не торкався стінок і дна циліндра. Відлік роблять через 3-4 хв після занурення за поділками на шкалі ареометра, що відповідає нижньому меніску рідини (при підрахунку очі повинні бути на рівні меніска). У випадку визначення забарвлених рідин відлік роблять за верхнім меніском.

Визначення вмісту екстрактивних речовин (сухого залишку)

Випарюють на водяній бані точно виміряну й точно зважену (з урахуванням щільності) кількість рідини, що поміщають у попередньо зважену порцелянову чашку діаметром 6—7 см. Потім сушать протягом 30 хв у термостаті при 105 °С.



Зважувати треба швидко, тому що деякі екстракти дуже сильно поглинають вологу й тому маса їх збільшується на вагах протягом декількох хвилин. Також не слід сушити довше на 30 хв, тому що при тривалому сушінні при 105 °С маса жировмісних сухих залишків знову зростає.

$$X = \frac{m_1 \cdot 100}{m}$$

Вміст екстрактивних речовин X (%) розраховують за формулою, де:

m — маса наважки препарату до висушування, г;

m_1 — маса сухого залишку після висушування, г.

Визначення вмісту жирних рослинних олій

Залишок, одержуваний при визначенні вмісту екстрактивних речовин, змочують 1—2 мл води (іноді з підігрівом на водяній бані), а потім розтирають до одержання однорідного порошку з 10,0 г прожареного гіпсу. Масу поміщають у гільзу з фільтрувального паперу й накривають ватним тампоном. Гільзу розташовують у апарат Сокслета й екстрагують протягом 2—3 год злегка киплячим петролейним ефіром. Потім ефір відганяють, залишок сушать протягом 15 хв у сушильній шафі при температурі 105 °С і зважують.

Кількість знежиреного сухого залишку визначають шляхом вирахування кількості жирних олій із загального вмісту сухого залишку.

Визначення вмісту нерозчинного у воді осаду в екстрагованому залишку настоянок та есенцій

25,0 г есенції випарюють на водяній бані й нетривалому часу сушать у сушильній шафі при температурі 105 °С. Після охолодження залишок розбавляють водою, розтирають і фільтрують через точно зважений фільтр і промивають водою. Потім фільтр висушують і зважують.

Вміст нерозчинного осаду обчислюють стосовно 100 частин ***екстрагованого*** залишку настоянок та есенцій.

Визначення вмісту етилового спирту:

а) за щільністю відгону: у круглодонну колбу об'ємом 200—250 мл відмірюють точну кількість рідини (якщо рідина містить від 20 до 50 % спирту — 50 мл, від 50 % та вище — 25 мл; рідина перед перегонкою розбавляють водою до 75 мл).

Для рівномірного кипіння у колбу з рідиною поміщають капіляри, пемзу або шматочки прожареної порцеляни. Якщо рідина при перегонці сильно піниться, то додають фосфорну або сірчану кислоту (2-3 мл), хлорид кальцію, парафін або віск (2-3 г).

Приймач (мірну колбу 50 мл) поміщають у посудину з холодною водою, збирають близько 48 мл відгону, доводять його температуру до 20 °С та додають воду до мітки. Відгін повинен бути прозорим або злегка мутнуватим.

Щільність відгону визначають пікнометром і за алкоголетричними таблицями знаходять відповідний вміст спирту у відсотках за об'ємом та масою.

$$X = \frac{50 \cdot a}{b}$$

Вміст спирту у препараті X (% за об'ємом) обчислюють за формулою, де:

50 — об'єм відгону, мл;

a - вміст спирту, % за об'ємом;

b - об'єм досліджуваного препарату, узятий для відгону, мл.

При вмісті у рідині ефірних олій, летких кислот або основ, камфори до неї додають у ділильній лійці рівний об'єм насиченого розчину натрію хлориду й такий же об'єм петролейного ефіру. Суміш збовтують протягом 3 хв. Після поділу шарів спирто-водний шар зливають у іншу ділильну лійку й обробляють у такий же спосіб половинною кількістю петролейного ефіру. Спирто-водний шар зливають у колбу для відгону, а з'єднані ефірні рідини збовтують із половинною кількістю насиченого розчину натрію хлориду, потім приєднують до рідини, що перебуває в колбі для відгону.

При вмісті летких кислот їх нейтралізують розчином лугу, при вмісті летких основ — фосфорною або сірчаною кислотою.

б) за температурою кипіння настоянок: прилад для кількісного визначення спирту у настоянках складається з посудини для кип'ятіння, трубки з бічним відростком, холодильника, ртутного термометра із ціною поділки 0,1 °С та межею шкали від 50 до 100 °С.

У посудину для кип'ятіння наливають 40 мл настоянки й для рівномірного кипіння поміщають капіляри, пемзу або шматочки прожареної

порцеляни. Термометр поміщають у приладі таким чином, щоб ртутна кулька виступала над рівнем рідини на 2-3 мм.

Нагрівають на сітці за допомогою електроплитки потужністю 200 Вт або газового пальника. Коли рідина у колбі почне закипати, за допомогою реостата у два рази зменшують напругу, що подається на плитку. Через 5 хв після початку кипіння, коли температура стає постійною або її відхилення не перевищує $\pm 0,1$ °С, знімають показання термометра. Отриманий результат приводять до нормального тиску. Якщо показання барометра відрізняються від 1011 гПа (760 мм рт. ст.), вносять поправки на різницю між спостережуваним і нормальним тиском 0,04 °С на 1,3 гПа (1 мм рт. ст.). При тиску нижче 1011 гПа поправки додають до встановленої температури, при тиску вище 1011 гПа - віднімають.

Вміст спирту в настоянці визначають за допомогою табл.

Визначення концентрації спирту в спирто-водних сумішах за температурою кипіння при тиску 1011 гПа (760 мм рт. ст.)

Температура кипіння, °С	% спирту за об'ємом	Температура кипіння, °С	% спирту за об'ємом	Температура кипіння, °С	% спирту за об'ємом
99,3	1	85,4	32	81,5	63
98,3	2	85,2	33	81,4	64
97,4	3	85,0	34	81,3	65
96,6	4	84,9	35	81,2	66
96,0	5	84,6	36	81,1	67
95,1	6	84,4	37	81,0	68
94,3	7	84,3	38	80,9	69
93,7	8	84,2	39	80,8	70
93,0	9	84,1	40	80,7	71
92,5	10	83,9	41	80,6	72
92,0	11	83,8	42	80,5	73
91,5	12	83,7	43	80,4	74
91,1	13	83,5	44	80,3	75
90,7	14	83,3	45	80,2	76
90,5	15	83,2	46	80,1	77
90,0	16	83,1	47	80,0	78
89,5	17	83,0	48	79,9	79
89,1	18	82,9	49	79,8	80
88,8	19	82,8	50	79,7	81
88,5	20	82,7	51	79,6	82
88,1	21	82,6	52	79,5	83
87,8	22	82,5	53	79,45	84
87,5	23	82,4	54	79,4	85

87,2	24	82,3	55	79,3	86
87,1	25	82,2	56	79,2	87
86,8	26	82,1	57	79,1	88
86,6	27	82,0	58	79,0	89
86,4	28	81,9	59	78,85	90
86,1	29	81,8	60	78,8	91
85,9	30	81,7	61	78,7	92
85,6	31	81,6	62		

в) за показником заломлення рідин: у водних розчинах етилового спирту лінійна залежність показника заломлення й концентрації спостерігається у межах до 50—60 %. При встановленні міцності спирту в більш концентрованих розчинах треба їх попередньо розбавити й при розрахунках концентрації враховувати розведення.

Показники заломлення спирто-водних розчинів, концентрація яких виражена в % за об'ємом

С, спирту	n, при 20 °С	Поправка n на 1 % спирту	Температурний коефіцієнт	С, спирту	n, при 20 °С	Поправка n на 1 % спирту	Температурний коефіцієнт
0	1,33300		$1,0 \cdot 10^{-4}$	18	1,34270	$6,1 \cdot 10^{-4}$	$1,5 \cdot 10^{-4}$
1	1,33345	$4,5 \cdot 10^{-4}$	$1,0 \cdot 10^{-4}$	19	1,34330	$6,0 \cdot 10^{-4}$	$1,5 \cdot 10^{-4}$
2	1,33400	$5,5 \cdot 10^{-4}$	$1,0 \cdot 10^{-4}$	20	1,34390	$6,0 \cdot 10^{-4}$	$1,6 \cdot 10^{-4}$
3	1,33444	$4,4 \cdot 10^{-4}$	$1,1 \cdot 10^{-4}$	21	1,34452	$6,2 \cdot 10^{-4}$	$1,6 \cdot 10^{-4}$
4	1,33493	$4,9 \cdot 10^{-4}$	$1,1 \cdot 10^{-4}$	22	1,34515	$6,0 \cdot 10^{-4}$	$1,7 \cdot 10^{-4}$
5	1,33535	$4,2 \cdot 10^{-4}$	$1,2 \cdot 10^{-4}$	23	1,34573	$6,1 \cdot 10^{-4}$	$1,8 \cdot 10^{-4}$
6	1,33587	$5,2 \cdot 10^{-4}$	$1,2 \cdot 10^{-4}$	24	1,34635	$6,2 \cdot 10^{-4}$	$1,9 \cdot 10^{-4}$
7	1,33641	$5,4 \cdot 10^{-4}$	$1,3 \cdot 10^{-4}$	25	1,34697	$6,2 \cdot 10^{-4}$	$2,0 \cdot 10^{-4}$
8	1,33700	$5,9 \cdot 10^{-4}$	$1,3 \cdot 10^{-4}$	30	1,35000	$6,0 \cdot 10^{-4}$	$2,0 \cdot 10^{-4}$
9	1,33760	$6,0 \cdot 10^{-4}$	$1,3 \cdot 10^{-4}$	35	1,35320	$6,4 \cdot 10^{-4}$	$2,1 \cdot 10^{-4}$
10	1,33808	$4,8 \cdot 10^{-4}$	$1,4 \cdot 10^{-4}$	40	1,35500	$4,0 \cdot 10^{-4}$	$2,4 \cdot 10^{-4}$
11	1,33870	$6,2 \cdot 10^{-4}$	$1,4 \cdot 10^{-4}$	45	1,35700	$4,0 \cdot 10^{-4}$	$2,4 \cdot 10^{-4}$
12	1,33924	$5,4 \cdot 10^{-4}$	$1,4 \cdot 10^{-4}$	50	1,35900	$4,0 \cdot 10^{-4}$	$2,6 \cdot 10^{-4}$
13	1,33977	$5,3 \cdot 10^{-4}$	$1,4 \cdot 10^{-4}$	55	1,36060	$3,2 \cdot 10^{-4}$	$2,6 \cdot 10^{-4}$
14	1,34043	$6,6 \cdot 10^{-4}$	$1,4 \cdot 10^{-4}$	60	1,36180	$2,4 \cdot 10^{-4}$	$3,4 \cdot 10^{-4}$
15	1,34096	$5,3 \cdot 10^{-4}$	$1,5 \cdot 10^{-4}$	65	1,36300	$2,4 \cdot 10^{-4}$	$3,6 \cdot 10^{-4}$
16	1,34158	$6,2 \cdot 10^{-4}$	$1,5 \cdot 10^{-4}$	70	1,36380	$1,6 \cdot 10^{-4}$	$3,8 \cdot 10^{-4}$
17	1,34209	$5,1 \cdot 10^{-4}$	$1,5 \cdot 10^{-4}$	75	1,36450	$1,4 \cdot 10^{-4}$	$4,0 \cdot 10^{-4}$

При визначенні показника заломлення спирто-водних розчинів треба на призму рефрактометра наносити не менш 5—7 крапель й вимірювати величину n негайно щоб уникнути помилки, пов'язаної з летючістю спирту. Дослідження необхідно проводити при температурі 20 °С. Якщо воно здійснюється не при 20 °С, варто вносити поправку на температуру.

Величини поправок показника заломлення на 1 °С представлені у табл. Якщо визначення проводиться при температурі вище 20 °С, то поправки додають до знайденої величини показника заломлення; якщо аналіз проводиться при температурі нижче 20 °С, поправки віднімають.

г) *за щільності рідини, визначеної за допомогою ареометра:* за алкоголеметричними таблицями ДФ знаходять відповідний вміст спирту у % за масою та об'ємом.

Визначення вмісту важких металів

У порцеляновій чашці випарюють досуха 5 мл рідкого досліджуваного препарату, потім залишок обережно спалюють у присутності сірчаної кислоти й прожарюють. Отриманий залишок обробляють при нагріванні 5 мл насиченого розчину амонію ацетату, фільтрують через беззольний фільтр і доводять до мітки 100 мл. 10 мл отриманого розчину повинні витримувати випробування на важкі метали (не більше 0,001 %).

Контроль якості **порошкових розтирань** (тритурацій) проводять за наступними параметрами:

- ***рівномірність розподілу лікарських речовин:*** порошки розглядають на відстанні 20—25 см за допомогою лупи або мікроскопа з окулярним мікрометром у прямому світлі: лікарська речовина повинна бути рівномірно розподілена у молочному цукрі;

- ***відповідність фарбування, смаку, запаху:*** у низьких розведеннях у пофарбованих, сильно пахучих і вихідних речовин, що мають різкий смак можна помітити відповідне фарбування й відчути своєрідний запах або смак;

- ***однорідність:*** основна маса готової тритурації повинна складатися із часток розміром 25 мкм і менш, не повинно бути часток розміром більше 50 мкм;

- ***величина зовнішньої питомої поверхні тритурації*** повинна бути не менш 0,65 м²/г, а молочного цукру – не менш 0,50 м²/г;

- ***розмір часток металевих та вугільних розтирань:*** на предметне скло наносять 0,02–0,03 г відповідного розтирання, додають 1–2

краплі води й викликають розчинення молочного цукру помірним нагріванням; потім (при не дуже високій температурі) розчин випарюють настільки, щоб залишився в'язкий, оліфоподібний залишок, що накривають покривним склом. Препарат розглядають під мікроскопом при збільшенні у 200 разів, а величину непрозорих металевих часточок визначають за допомогою окулярного мікрометра;

- **капілярний аналіз:** розтирання беруть у кількості 5 г, змішують приблизно з подвійною ваговою кількістю абсолютного етилового спирту й отриману суміш піддають капілярному аналізу як рідке розведення;

- **перекристалізація насичених розчинів:** зважену пробу речовини поміщають у мірну колбу з певною кількістю води, різним для кожної речовини, а колбу покривають невеликим кристалізатором. Розчинення досягають нагріванням закритої колби у киплячій воді або на відкритому полум'ї, потім повільно прохолоджують на повітрі.

АНАЛІТИЧНИЙ КОНТРОЛЬ ЯКОСТІ ОСНОВНИХ ГОМЕОПАТИЧНИХ ПРЕПАРАТІВ ЗА ДІЮЧИМИ РЕЧОВИНАМИ.

Аналітичний контроль проводять різними методами в залежності як від природи вихідних речовин, так і від того, чи є вони фармакопейними або нефармакопейними препаратами.

Контроль якості базисних гомеопатичних препаратів з рослинної сировини (есенції, настоянки) з метою їхньої подальшої стандартизації рекомендується проводити за вмістом БАР. Для цього використовують:

- якісні реакції на основні групи БАР;
- хроматографічний аналіз у різних системах розчинників;
- кількісне визначення інструментальними (газорідинна хроматографія, УФ- та ІЧ-спектрофотометрія, фотоколориметрія) та іншими методами.

Широко розповсюдженими в рослинній сировині класами сполук є: алкалоїди, кардіостероїдні (серцеві) глікозиди, флавоноїди, сапоніни, дубильні речовини, антраценпохідні, кумарини, вітаміни, полісахариди та

інші. Для виявлення основних груп БАР у рослинній сировині й препаратах найбільше часто використовують кольорові якісні реакції або реакції осадження.

Кількісний зміст БАР у матричних настоянках та інших базисних препаратах у статтях фармакопей закордонних країн вказується лише в рідких випадках, зокрема при аналізі настоянок, що містять отруйні й сильнодіючі речовини (аконіт, строфант, чилібуха, ігнація, беладона та інші).

У ДФУ включені сучасні методи аналізу, що дозволяють здійснювати контроль якості гомеопатичних лікарських засобів з урахуванням змісту БАР.

Для цієї мети можна використати газорідну хроматографію, спектрофотометрію, фотоколориметрію й інші інструментальні методи, у деяких випадках доцільно використати титриметричні методи аналізу.

Жирні олії (рослинні)

Кількість жирних олій у основних настоянках та розчинах визначають таким чином: залишок, отриманий при визначенні вмісту екстракту, змочується 1—2 мл води (інколи з підігріванням на водяній бані), а потім розтирається до здобуття однорідного порошку з 10 г прожареного гіпсу. Масу поміщають у гільзу з фільтрувального паперу і закривають ватним тампоном, який до цього служив для витирання скляної чашки. Потім гільзу поміщають в апарат Сокслета або в інший відповідний апарат для екстракції жирів і екстрагують протягом 2—3 годин злегка киплячим петролейним ефіром. Потім ефір відганяють, залишок сушать протягом 15 хвилин у сушильній шафі при температурі 105°C і потім зважують.

Знежирені сухі речовини

Кількість знежиреного сухого залишку визначається шляхом віднімання кількості жирних олій із загального вмісту сухого залишку.

Вміст алкалоїдів

Вміст алкалоїдів у есенціях, тинктурах і сировині визначають різними способами. Бюретка, використовувана для точних визначень, є, як вказано у ДФУ, бюретку завдовжки близько 60 см, ємкістю 10 мл, з мінімальним

діленням шкали, рівним 0,02 мл; під мікробюреткою розуміється бюретка завдовжки 50 см, ємкістю 5 мл, з мінімальним діленням шкали, рівним 0,01 мл.

Нерозчинний у воді осад у залишку есенції

25 г есенції випаровують на водяній бані та нетривалий час сушать у сушильній шафі при температурі 105 °С. Після охолодження залишок розбавляють водою, розтирають і фільтрують через точно зважений фільтр і промивають водою. Потім фільтр висушують та зважують. Вміст нерозчинного осаду обчислюють за відношенням до 100 частин осаду тинктур, що екстрагується.

Вміст відновників у есенціях, який виражений еквівалентно до кількості глюкози

Доводять об'єм екстракту, отриманого при визначенні нерозчинного у воді осаду, до 100 мл, потім змішують 30 мл розчину сульфату міді (концентрації 69,2 г/л) з 30 мл розчину гідрата калія і сегнетової солі (з концентрацією відповідно 250 і 346 г/л). Суміш нагрівають до кипіння і додають 2,5 г вищезгаданого розбавленого екстракту. Після однократного кип'ятіння рідину фільтрують через точно зважену азбестову або фарфорову фільтрувальну трубочку, потім фільтр промивають по черзі водою, винним спиртом і, нарешті, ефіром і протягом 15 хвилин витримують у сушильній шафі при температурі 105°С. Після охолодження фільтрувальну трубочку зважують і по кількості окису міді за таблицею обчислюють відповідну кількість глюкози. Цю величину множать на 16 і ділять на кількість екстракту (у г), що міститься в 100 частинах есенції. Якщо помножити отриману величину на 100, отримаємо безпосередньо % вміст відновника в екстракті, виражений через еквівалентну кількість глюкози. Якщо отримана кількість окису міді перевищує 0,522 г, то вищезгаданий водний екстракт потрібно розбавити рівною за об'ємом кількістю води і з 25 мл цього розбавленого розчину ще раз провести визначення. Кількість глюкози, знайдена при цьому, слід умножати на 32, а не на 16.

Забарвлення есенцій, тинктур і рідких розведень

Цілий ряд препаратів, особливо тих, які приготовані зі свіжих рослин, при тривалому зберіганні змінюють своє забарвлення. Наприклад, часто спостерігається зміна зеленого забарвлення в коричневу, викликана в більшості випадків змінами хлорофілу. Крім того, може також змінитися інтенсивність забарвлення в різних пробах одного і того ж препарату, не дивлячись на рівний вміст лікарської речовини, що особливо помітно в найвищих розведеннях. Ці факти необхідно враховувати при оцінці приведених відомостей про забарвлення різних речовин. Забарвлення спостерігають при денному світлі, помістивши кювет перед шматком білого картону або писального паперу і розглядаючи шар рідини завтовшки 10 мм. У разі потреби можна застосовувати пробірки діаметром 10 мм. Якщо порівнюють забарвлення двох різних рідин, то для цієї мети можна застосувати будь-який колориметр.

Питання для самоконтролю:

1. Гомеопатичні лікарські засоби рослинного походження.
2. Сировина та методи виробництва гомеопатичних лікарських засобів.
3. Вимоги ДФУ до гомеопатичних лікарських засобів рослинного походження.

Практична робота

Завдання 1. Визначити концентрацію спирту у настоянці кропиви собачої (температура кипіння настоянки кропиви собачої $80,9\text{ }^{\circ}\text{C}$, атмосферний тиск 1000 гПа (752 мм рт. ст.), різниця тисків $1011 - 1000 = 11\text{ гПа}$ ($760 - 752 = 8\text{ мм рт. ст.}$). Керуватись для вирішення завдання таблицями, які наведені у інформаційному матеріалі для розрахунку за температурою кипіння настоянок.

Практичні нотатки

--

Завдання 2. Визначити концентрацію спирту у гомеопатичному препараті рослинного походження за показником заломлення. Визначення показника заломлення проводили при 23 °С. Показання рефрактометра — 1,3541. Згідно табл. поправок на 1 °С для показника заломлення, близького за величиною до отриманого (1,35500), дорівнює $2,4 \cdot 10^{-4}$ (тобто 0,00024). Керуватись інформаційним матеріалом наведеним вище у розділі «за показником заломлення рідин».

Практичні нотатки

Тести для виявлення кінцевого рівня знань

1. Які дози лікарських речовин використовуються у гомеопатії?
 - A. надзвичайно низькі
 - B. вищі разові та добові
 - C. максимально припустимі
 - D. в залежності від віку пацієнта
 - E. всі відповіді вірні
2. Сировина для виробництва гомеопатичних лікарських засобів може бути:
 - A. лише синтетичного походження
 - B. лише тваринного походження
 - C. лише природного походження
 - D. природного або синтетичного походження
 - E. лише рослинного походження
3. Гомеопатія це –
 - A. терапевтична система
 - B. вид фітотерапії
 - C. народна медицина
 - D. нетрадиційна медицина
 - E. наука про людину
4. Основний принцип гомеопатії:
 - A. застосування ліків тільки рослинного походження
 - B. лікування симптомів захворювання
 - C. «подібне лікується подібним»
 - D. врахування конституції людини
 - E. лікування хвороби як такої
5. Базисні гомеопатичні препарати рослинного, тваринного або людського походження зазвичай являють собою:
 - A. матричну настойку або гліцериновий мацерат

- В. тільки гліцериновий мацерат
 - С. матричну настойку, гліцериновий мацерат, безпосередньо саму речовину
 - Д. тільки матричну настойку
 - Е. Безпосередньо саму речовину
6. Відповідно ДФУ визначення – “переважно цілі, фрагментовані або ламані рослини, або частини рослин, у необробленому, зазвичай висушеному, іноді свіжому стані – відноситься до:
- А. лікарської рослинної сировини
 - В. біотехнологічних, імунобіологічних препаратів
 - С. гомеопатичних лікарських засобів
 - Д. дієтичних добавок
 - Е. стандартизованих лікарських засобів
7. До аптеки звернувся пацієнт з проханням рекомендувати рослинний лікарський засіб «Гінекохель» кровоспинної дії. Яка рослинна сировина може бути запропонована при його відсутності.
- А. Cormi Securinegae
 - В. Flores Chamomillae
 - С. Herba Ledi palustris
 - Д. Radices Glycyrrhizae
 - Е. Cortex Viburni
8. Пропонується назвати біологічно активні речовини, які при ультрафіолетовому освітленні флюоресціюють відтінками жовтого кольору:
- А. алкалоїди цитизин і стрихнін
 - В. кумарини, прості феноли
 - С. катехіни, вітамін К
 - Д. антраценпохідні, вітамін В₂
 - Е. алкалоїд берберин, хромони, флавоноїди
9. При яких хворобах застосовують настоянку з сировини трави горця пташиного?

- A. Сечокам'яній хворобі
- B. Серцевій недостатності
- C. Гіпертонії
- D. Безсонні
- E. Ревматизмі

10. Промислове фармацевтичне підприємство виготовляє гомеопатичні лікарські засоби з одного або більше видів лікарської рослинної сировини. Для забезпечення її мікробіологічної чистоти необхідно виконувати вимоги статті Державної Фармакопеї України:

- A. «Сторонні домішки»
- B. «Мікробіологічна чистота лікарських засобів»
- C. «Пестициди»
- D. «Стерильність»
- E. «Біологічні індикатори стерилізації»

ТЕМА 5. Особливості проведення контролю якості та підтвердження відповідності засобів лікувальної косметики рослинного походження

Мета: вивчення наявної аналітично-нормативної документації, що регламентують виготовлення, контроль якості та підтвердження відповідності засобів лікувальної косметики, лікарських рослин, що застосовуються для виготовлення лікувальної косметологічної продукції.

Форма та тривалість заняття: практичне (2 години)

Провізор-інтерн повинен уміти:

1. проводити відбір лікарських рослин з відповідними фармакологічними властивостями, що дозволяють застосовувати їх при виготовленні лікувальних косметичних засобів;

2. проводити аналіз ЛРС;
3. скласти документацію щодо відповідності якості лікарської рослинної сировини вимогам нормативної документації.

Мінімальний обсяг теоретичного матеріалу:

ПОНЯТТЯ КОСМЕЦЕВТИКИ ЯК ЛІКУВАЛЬНОЇ КОСМЕТИКИ. ТИПИ ЛІКУВАЛЬНОЇ КОСМЕТИКИ.

Термін «космецевтика» уперше був використаний американським дерматологом Альбертом Клігманом та утворений зі слів «косметика» і «фармацевтика» і позначав третю, проміжну категорію косметичних засобів.

Космецевтика – це науково розроблена група препаратів глибокої дії та є косметикою із широкими лікувальними можливостями, що особливо активно застосовуються при, проведенні дерматологічних лікувань та інше.

Відповідно до Закону України «Про лікарські засоби» (1996 р.) лікувальна косметика, як і лікарські субстанції, відноситься до лікарських засобів. Цим законом лікувальна косметика визначена як «лікарські косметичні засоби», тому засоби лікувальної косметики підлягають реалізації населенню аптечними підприємствами при наявності листка-вкладиша або інструкції про застосування.

Лікувальна косметика призначена для догляду за проблемною шкірою, за шкірою довкола очей, для відновлення шкіри після пластичних операцій, для лікування нігтів, зубів, волосся. При цьому вона не просто маскує дефекти, вона позбавляє від самої причини. Лікувальна косметика впливає на глибокий шар епідермісу, тоді як звичайні косметичні засоби лише на роговий. Основним критерієм приналежності до лікарських косметичних засобів є саме наявність в складі препарату діючих речовин (активних компонентів), що володіють терапевтично-лікувальним ефектом.

Лікувальна косметика знаходиться десь між лікарськими препаратами і звичайною косметикою. Випускається вона у вигляді шампунів, гелів,

кремів, зубних паст, олій, бальзамів, але головна її відмінність від звичайних косметичних засобів - наявність лікарських компонентів.

У свою чергу космецевтику поділяють на дерматологічну продукцію і таку, що використовується в лікувально-профілактичних цілях. Перша спрямована на усунення дерматологічних проблем, а друга - справляється з ліквідацією косметичних дефектів старіння шкіри, пігментації, а також виступає в якості профілактичних засобів.

Залежно від призначення бувають такі види лікувальних косметичних засобів:

- косметика для волосся, що створюється на натуральній основі в поєднанні з медикаментозними препаратами. До них відносять різні шампуні, лосьйони, маски. Вони вирішують ряд питань, пов'язаних із захворюванням волосся і забезпечують їм гарний і привабливий вигляд;

- косметика для обличчя призначена на усунення будь-яких проблем зі шкірою обличчя. Включають найрізноманітніші креми, маски, гелі та ін., які спрямовані на лікування та комплексний догляд за шкірою;

- лікувально-профілактичні (лікувальні) засоби по догляду за ротовою порожниною застосовують при захворюваннях пародонту та зазвичай містять антибактеріальні, протизапальні, протигрибкові препарати, вітаміни, мікроелементи. До них відносять зубні пасту, таблетки для догляду за порожниною рота та еліксири;

- косметика для тіла включає крем проти розтяжок, целюліту, жирових відкладень, скраби для тіла, цілющі грязі, спеціальні сироватки і багато іншого. Вони допомагають стежити за шкірою тіла і справлятися з багатьма завданнями, даючи відмінний результат;

- лікувальні засоби по догляду за нігтями застосовують при захворюваннях нігтевої пластинки та містять протигрибкові препарати. Косметична та фармацевтична промисловість випускає такі препарати у формі кремів, гелей, лаків, мазей, розчинів, сперів;

- дитяча косметика призначена для усунення проблем шкіри у дитячому віці. Даний тип косметичних засобів відрізняється різноманітністю за рахунок того, що до цієї групи відносяться лікувальні косметичні засоби як для тілу, так й волосся, обличчя та інші, але вони мають свої особливості у зв'язку з особливостями будови шкірних та слизових покривів дітей. Крім того, дитяча косметика поділяється у свою чергу лікувальні косметичні засоби різних вікових групах (до 1 року, 1-3 роки, 4-8 років, 9-12 років, 13-16 років).

До виробництва лікувальної косметики пред'являються не менш жорсткі вимоги, чим до випуску лікарських препаратів, і ефективність використання її може бути високою під наглядом спеціалістів дерматологов-косметологов.

Зазвичай лікувальну косметику виробляють фармацевтичні лабораторії, які використовують передові технології та мають власну дослідницьку базу. Лікувальні косметичні препарати в Україні виготовляють фармацевтичні компанії («Артеріум», «Червона зірка», «Фітофарм» та інші). До лікувальної косметики відносяться марки Laboratoire Bioderma, Ducray, La Roche - Posay, Galenic, Klorane, Isdin та інші.

ДЕРЖАВНЕ НОРМУВАННЯ ВИРОБНИЦТВА ТА КОНТРОЛЮ ЯКОСТІ ЛІКУВАЛЬНИХ КОСМЕТИЧНИХ ЗАСОБІВ.

Ринок лікувальної косметики зростає від року в рік, але практично немає спеціальних нормативних документів, які б стосувалися норм виробництва такої категорії косметичних засобів.

Згідно з Законом «Про лікарські засоби», засоби лікувальної косметики – це лікарські засоби та до них повинні бути вимоги як до лікарських засобів. За нормативно-правовими актами ЄС та Управління з контролю за харчовими продуктами та лікарськими засобами США (FDA) категорія засобів, яка містить речовини, що використовуються з терапевтичною чи профілактичною метою (що призводить до «нормалізації й активізації фізіологічних властивостей шкірних покривів») також відносять до

«лікарських засобів», для якої визначені чіткі вимоги доведення ефективності та безпеки, реєстрації та розміщення на ринку.

Для лікувальних косметичних засобів необхідно проводити реєстрацію як до лікувальних засобів та обов'язково сертифікувати. При проходженні цих етапів, лікувальні косметичні засоби отримують Свідоцтво про державну реєстрацію та вносяться до Державного реєстру лікарських засобів. Кожна партія такої продукції повинна мати сертифікат якості.

Відповідно до вимог стандартів лікувальна косметична продукція повинна повністю відповідати вимогам безпеки за хімічними, токсикологічними, клінічними, мікробіологічними показникам.

Інгредієнти, що застосовуються при виготовленні даної продукції, повинна відповідати вимогам ДФУ, ДСТУ, ГОСТ та іншим нормативним документам. Аналіз основних характеристик лікувальних косметичних засобів свідчить, що хоча лікувальна косметика має лікувальну дію, вона за деякими характеристиками відрізняється від лікувальних засобів у зв'язку із застосуванням у своєму складі специфічних допоміжних речовин, які характерні лише для косметичних засобів. Тому, при розробці нового лікувального косметичного засобу обов'язково потрібно враховувати вимоги про неприпустимість введення до складу речовин, заборонених до застосування в Україні. Список таких речовин наведено в нормативних документах Міністерства охорони здоров'я України.

У зв'язку з високою активністю біологічно активних речовин, що входять до такої групи косметичних засобів, можливістю їх проникнення через шкірний бар'єр і слизову оболонку, а також подальшим впливом на окремі органи і системи з метою встановлення їх нешкідливості, лікувальні косметичні засоби необхідно піддавати обов'язковій спеціальній експериментально-клінічній перевірці.

Обов'язковим при дослідженні нових лікувальних косметичних засобів є визначення як гострої токсичності та загальнотоксичної дії, так алергізуючої дії. Але при виготовленні парфумерно-косметичної продукції,

рекомендовано ще проведення визначення шкірно-резорбтивної та подразнюючої дії, що дуже важливо саме для цієї категорії лікарських засобів.

При вивченні механізму дії і розробки показань і протипоказань до застосування лікувального косметичного засобу, необхідно використовувати обов'язкові фізіологічні та біохімічні тести, що характеризували би стан шкіри.

Особлива увага повинна приділятися визначенню показників мікробної чистоти лікувальних косметичних засобів.

Якщо лікарський косметичний засіб внесено до Державного реєстру лікарських засобів, то він є повноцінним лікарським засобом, котрий пройшов відповідні доклінічні та клінічні випробування та експертизу реєстраційних матеріалів Державним фармакологічним центром України, оскільки окремого особливого порядку процедури реєстрації лікарських косметичних засобів не існує.

Однією з вимог безпеки лікувальних косметичних засобів є виробництво згідно з принципами належної виробничої практики GMP (Good Manufacturing Practice), що передбачають чітку регламентацію всіх виробничих процесів і контроль за випуском готової продукції на усіх етапах виробництва, які можуть впливати на якість кінцевого продукту.

Тобто, процес створення нового лікувального косметичного засобу багатоступеневий, ґрунтується на принципах доказовості та регулюється численними нормативно-правовими документами на кожному етапі, які не відрізняються від тих, що діють для лікувального засобу.

ЗАСТОСУВАННЯ ЛІКАРСЬКИХ РОСЛИН ТА ЇХ ПРОДУКТІВ ПРИ ВИГОТОВЛЕНІ ЛІКУВАЛЬНИХ КОСМЕТИЧНИХ ЗАСОБІВ.

Одними з найпопулярніших трендів останнього десятиліття є органічна та натуральна косметична продукція, виготовлена на основі природних компонентів.

Лікувальні косметичні засоби з рослинної сировини зараз дуже часто застосовуються у косметології та дерматології для усунення проблем шкіри та слизових оболонок. Перевагою застосування лікарських рослин у дерматології є біологічна спорідненість між БАР рослин і організму людини та їх полівалентністю (різносторонньою спрямованістю дії).

Фітокосметика - це високоякісний продукт, виготовлений на натуральній основі рослинного походження.

Лікарські рослини проявляють всі свої корисні і цілющі властивості завдяки складному набору хімічних сполук, які є в їх складі. Серед них можна назвати білки, жири, вуглеводи, вітаміни, ферменти, ефірні олії, мінеральні речовини і пр. Наприклад, алкалоїди чистотілу (холерітрин, гомохелидонин і ін.) у помірних дозах є засобом для знищення бородавок, кондилом і папілом. Дубильні речовини виявляють в'язучу, антисептичну та протизапальну дію (кореневище бадану, змійовику, родовику, в траві звіробою, шавлії, деревію, в дубовій корі) та застосовують при жирній себорей, себорейній дерматитах, вугрових висипках.

Більшість лікувальних косметичних засобів розроблена для боротьби з різноманітними грибковими захворюваннями (мікози стоп, трихомікози волосся, нігтевій лишай та інші). Дана група продуктів повинна у своєму складі включати активні інгредієнти, що володіють антимікотичними властивостями.

Рослини містять багато біологічно активних сполук із потенційними протигрибковими властивостями. До лікарських рослин, що виявляють доведену фунгістичну активність, відносять препарати з хвої ялиці, евкаліпта, тополі чорної, чистотілу великого, гірчиці сарептської, м'яти перцевої. Виражені фунгіцидні властивості має дьоготь (березовий або сосновий). Частіше для лікування дерматологічних хворих використовують дьоготь у чистому вигляді або в комбінації із сіркою, саліциловою кислотою, нафталаном. З трави маклеї виділено речовину сангвіритрин, яка має

активність до дріжджеподібних грибів роду *Candida albicans* та золотистого стафілококу.

Крім того, останнім часом проводиться багато досліджень антимікотичних властивостей різних ефірних олій. Ефірні олії мають широкий спектр активності: від пригнічення росту грибків до інгібування продукції ними токсинів. Наприклад, ефірні олії з різних видів полину застосовуються у традиційній дерматології та косметології завдяки протигрибковим властивостям. Ефірна олія, що отримана із лемонграсу, проявляє виражену фунгіцидну дію щодо грибків роду *Candida* и рекомендовано застосувати для терапії кандидозів ротової порожнини. Ефірна олія базилику виявляють виражені протигрибкові властивості та рекомендована як альтернатива синтетичним протигрибковим засобам під час лікування мікозів. Ефірна олія чайного дерева також застосовується при лікуванні паразитарних та грибкових захворюваннях шкіри.

Антифунгальні властивості ефірних олій рослин проявляються також під час застосування сумішей із декількох компонентів, що суттєво підвищує їхню ефективність.

Іншою великою групою лікувальних косметичних засобів є препарати для лікування акне та інших вад шкіри. Акне - хронічне генетично обумовлене захворювання сальних залоз, пов'язане з їх підвищеною активністю у відповідь на стимуляцію андрогенами, фолікулярним гіперкератозом, життєдіяльністю мікроорганізмів, запальною реакцією тканин, що проявляється виникненням на ділянках шкіри, багатих на сальні залози, незапальних (відкриті та закриті комедони) та запальних (папули, пустули) елементів. Для місцевого застосування використовують рослини, що виявляють антибактеріальні та антисептичні властивості (витяжки з кореневищ аїру, кори дуба, трави звіробою, трави чабрецю, листя шавлії, сік каланхое, ефірну олію чайного дерева, прополіс, екстракт календули та ін.). Розроблено препарат «Угрин» для лікування акне, що містить настойки (1:10)

з суміші лікарської рослинної сировини деревію трава; м'яти листя; нагідків квітки; пижма квітки; лаванди трава; чистотілу трава; ромашки квітки.

У цілому, фітотерапія повинна сприяти опору організму та його десенсибілізації. Тому при лікуванні деяких типів хвороб, потрібно застосовувати лікарські рослини не тільки місцево, але й перорально. При місцевої фітотерапії застосовують лікарські рослини для приготування примочок, мазей, аплікацій. Перорально при дерматологічних хворобах необхідно приймати препарати, що зміцнюють імунітет (препарати елеутерокока), корегують діяльність нервової системи (препарати коренів валеріани, листя меліси, м'яти, квіток ромашки), виявляють протиалергійну (трава череди, кореневища айру, трава кропиви), регенеруючу дію (трава деревію, квіти ромашки, листя алое, квіти календули).

Питання для самоконтролю:

1. Поняття космецевтики як лікувальної косметики. Типи лікувальної косметики.
2. Державне нормування виробництва та контролю якості лікувальних косметичних засобів.
3. Застосування лікарських рослин та їх продуктів при виготовленні лікувальних косметичних засобів.

Практична робота

Завдання 1. Вивчити склад інгредієнтів лікувального косметичного засобу та вказати косметологічна активність кожного інгредієнту, що входить до цього засобу. Приклад виконання завдання подано у першому рядку.

Лікувально-гігієнічний засіб для догляду за шкірою обличчя «Угрин», що містить настойки (1:10) з суміші лікарської рослинної сировини деревію трава; м'яти листя; нагідків квітки; пижма квітки; лаванди трава; чистотілу трава; ромашки квітки.

компонент	Косметологічна дія
Деревію трава	позбавляє від підвищеної сальності та жирності, очищує і звужує пори, знімає запалення, бадьорить і тонізує в'ялу шкіру
М'яти листя	
Нагідків квітки	
Пижма квітки	
Лаванди трава	
Чистотілу трава	
Ромашки квітки	

Завдання 2. Дайте характеристику косметичного засобу бальзам для волосся складу: олійні екстракти кореня лопуха, трави календули і кропиви, шишок хмелю; ефірна олія ялини. Опишіть косметичний ефект кожного компонента. Приклад виконання завдання подано у першому рядку.

компонент	Косметичний ефект
Екстракт кореня лопуха	має виражену протизапальну та антибактеріальну дію; протигрибковий ефект; знімає роздратування шкіри, усуває свербіння і лущення; застосовується для лікування лупи; живить і зміцнює волосся; добре очищає і звужує пори, матує жирну шкіру; застосовується у профілактиці акне, вугрової висипки
Екстракт трави календули	

Екстракт трави кропиви	
Екстракт шишок хмелю	
Ефірна олія ялини	

Тести для виявлення кінцевого рівня знань

1. Дієтичні добавки до продуктів харчування, що містять ананас, відносяться до групи дієтичних добавок

- A. Для осіб, які контролюють масу тіла
- B. Що впливають на функції ЦНС
- C. Що підтримують функцію імунної системи
- D. Що впливають на функцію ССС
- E. Джерела мінеральних речовин

2. Вкажіть для чого у харчовій промисловості використовують картопляний крохмаль?

- A. Загущувач
- B. Розріджувач
- C. Розпушувач
- D. Емульгатор
- E. Консервант

3. Означити, що може вважатися дієтичною добавкою.

A. Відповідно до ДФУ дієтичні добавки – це вітамінні, вітамінно-мінеральні або трав'яні добавки окремо та /або в поєднанні в формі пігулок, таблеток, порошків, що вживаються до їжі в межах фізіологічних норм для додаткового порівняно із звичайним харчуванням вживання цих речовин

B. рідкі лікарські засоби, які звичайно виготовляють, використовуючи 1 частину лікарської рослинного (або тваринного) матеріалу і 10 частин екстрагенту

С. розчини, емульсії або суспензії, які приймають малими об'ємами-краплями за допомогою підходящого дозуючого пристрою

Д. стерильна водна суспензія штаму або штамів вірусу грипу типів А або В або суміші штамів 2 типів

Е. рідка лікарська форма, в якій звичайно 1 частина з масою або об'ємом еквівалентна 1 частині за масою вихідної висушеного рослинного (або тваринного) матеріалу

4. Проаналізувати низку рослин: Бобівник трилистий (*Menyanthes trifoliata*), Льон посівний (*Linum usitatissimum*), Крушина ламка (*Frangula alnus*), Бузина чорна (*Sambucus nigra*). Назвати основну фармакологічну дію означених об'єктів:

- А. послаблююча
- В. гепатопротекторна
- С. протизапальна, протимікробна
- Д. кардіотонічна
- Е. обволікаюча

5. Пропонується назвати біологічно активні речовини, які при ультрафіолетовому освітленні флюоресціюють відтінками жовтого кольору:

- А. алкалоїд берберин, хромони, флавоноїди
- В. кумарини, прості феноли
- С. катехіни, вітамін К
- Д. антраценпохідні, вітамін В₂
- Е. алкалоїди цитизин і стрихнін

6. Який із запропонованих виразів не має відношення до особливостей хроматографічного аналізу?

А. ґрунтується на здатності забарвленого азобарвника поглинати монохроматичне світло при певній довжині хвилі

В. універсальність (можливість використання для розділення та ідентифікації природних сполук у будь-якому стані – твердому, рідкому чи газоподібному)

C. можливість проводити як якісний, так і кількісний аналіз біологічно активних сполук

D. можливість автоматизації процесу контролю

E. встановлення ступеню чистоти фітопрепарату

7. При змочуванні рослинного матеріалу хлор-цинк-йодом спостерігається пожовтіння. У процесі мікросублімації проходить жовтувата возгонка, яка від розчину метилату натрію забарвлюється у червоний колір. До відношенню до якого активного фармацевтичного інгредієнту (АФІ) можливо провести цю мікрохімічну реакцію?

A. терпеноїди

B. слиз

C. флавоноїди

D. буфадієноліди

E. інулін

8. ТОВ «Гернофарм» виробляє Суху мікстуру від кашлю (*Mixtura sicca contra tussim pro infantibus*). Означити види фітоекстрактів, за якими проводять стандартизацію:

A. екстракт алтейного кореня, екстракт солодкового кореня

B. екстракт подорожника, екстракт плюща

C. екстракт беладонни, екстракт алтейного кореня

D. екстракт чебрецю, екстракт первоцвіту

E. екстракт солодкового кореня, екстракт подорожника

9. На підставі знань діагностичних ознак вегетативних органів рослин описати особливості продихового апарату тетраперигенного типу (визначення наведено у відповідній монографії Державної Фармакопеї України).

A. продихи оточені чотирма навколопродиховими клітинами; з них дві клітини розташовані латерально, а інші дві – полярно; або всі клітини латеральні, по дві з кожного боку *

В. продихи мають шість навколопродихових клітин, з них дві полярні, чотири латеральні

С. продихи оточені трьома навколопродиховими клітинами, одна з яких значно менша чи більша за інші

Д. продихи оточені двома навколопродиховими клітинами, розташованими латерально відносно замикаючих

Е. продихи не мають типових продихових клітин

10. Вказати можливі сторонні домішки до лікарської рослинної сировини, перелік яких наведено у відповідній монографії Державної Фармакопеї України:

А. сторонні органи рослини (що не вважаються лікарськими) та домішки рослинного чи мінерального походження, що не мають відношення до цільової рослини

В. сторонні органи рослини, що не підлягають збиранню

С. отруйні рослини

Д. домішки мінерального чи органічного походження

Е. ззовні схожі рослини або їх органи

Рекомендована література

Нормативно-законодавчі документи

1. ДСанПіН 2.2.9.027-99 Санітарні правила і норми безпеки продукції парфумерно-косметичної промисловості. Державні санітарні правила та норми.

2. ДСТУ 2472: 2006 Продукція парфумерно-косметична. Терміни та визначення понять

3. Закон України від 06.09.2005 № 2809-IV «Про внесення змін до Закону України «Про якість та безпеку харчових продуктів та продовольчої сировини» // Офіційний вісник України. - 2005. - № 42. - Ст. 2641. - С. 125–133.

4. Наказ МОЗУ від 27.12.2013 р. № 1114 «Про затвердження Гігієнічних вимог до дієтичних добавок» [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://zakon2.rada.gov.ua/laws/show/z2231-13>

5. Настанова 42-5.1-2011. Лікарські засоби. Належна практика зберігання / О. Соловійов, І. Демченко, О. Кропивний та ін. – Вид. офіційне. – К.: МОЗ України, 2011. – 18 с.

6. Настанова 42-4.5:2012. Лікарські засоби. Належна практика культивування та збирання вихідної сировини рослинного походження / О. Серета, Л. Глущенко, С. Сур та ін. - Вид. офіційне. – К.: МОЗ України, 2012. – 18 с.

7. Про якість та безпеку харчових продуктів і продовольчої сировини. Закон України від 23.12.1997 р. №771/97 // Офіційний вісник України. - 1998. - №3. - Ст. 705. - С. 13–25.

8. Проект постанови КМУ “Про затвердження Технічного регламенту щодо безпеки косметичної продукції” [Електронний ресурс]. – Режим доступу: http://www.moz.gov.ua/ua/portal/Pro_20100808_0.html.

Основна

1. Державна Фармакопея України : в 3 т. / Держ. п-во „Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів”. – 2-е вид. – Х. : Держ. п-во „Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів”, 2015. – Т. 1. – 1128 с.

2. Державна Фармакопея України : в 3 т. / Держ. п-во „Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів”. – 2-е вид. – Х. : Держ. п-во „Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів”, 2014. – Т. 3. – 732 с.

3. Державна Фармакопея України / Держ. п-во «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». – 2-е вид. – Доповнення 1. - Х. : Держ. п-во «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2016. – 360 с.

4. Державна Фармакопея України / Держ. п-во «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів». – 2-е вид. – Доповнення 2. - X. : Держ. п-во «Український науковий фармакопейний центр якості лікарських засобів», 2018. – 336 с.

5. Руководящие принципы ВОЗ по надлежащей практике культивирования и сбора (GACP) лекарственных растений : монография / Всемирная организация здравоохранения (Женева). - Женева : ВОЗ, 2003. - 86 с.

6. Фармакогнозія : базовий підруч. для студ. вищ. фармац. навч. закл. (фармац. ф-тів) IV рівнів акредитації / В. С. Кисличенко [та ін.] ; за ред. В. С. Кисличенко ; рец.: О. В. Мазулін, О. Ю. Коновалова, Я. В. Рожковський ; МОЗ України, Нац. фарм. ун-т. - X. : НФаУ Золоті сторінки, 2015. - 736 с.

7. Фармацевтичне ресурсознавство з основами інтродукції рослин: навчальний посібник для інтернів вищ. мед. та фармац. навч. закл. III–IV рівнів акредитації / О. В. Мазулін, О. Ю. Коновалова, Г. П. Смойловська [та ін.]. – Вид. 3-тє, доопрац. і доп. – Запоріжжя : ЗДМУ, 2017. – 208 с.

Додаткова

1. Живодерников Е. Косметика в аптечном сегменте рынка Украины / Е. Живодерников // Косметический рынок СЕГОДНЯ. – 2014 - № 1. - С. 32-36.

2. Карпук В.В. Фармакогнозия: Учеб. пособие / В.В. Карпук. – Минск: ИЦ БГУ, 2011. – 340 с.

3. Лекарственное растительное сырье и фитосредства: учеб. пособие / П.И. Середа, Н.П. Максютин, Е.Н. Струменская и др.; под. ред. проф. П.И. Середы. – К. : ВСИ «Медицина», 2010. – 271 с.

4. Мінарченко В. М. Ресурсознавство. Лікарські рослини : навч. посіб. / В. М. Мінарченко; Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, Інститут ботаніки імені М. Г. Холодного НАН України. – К. : Фітосоціоцентр, 2014. – 214 с.

5. Немченко А.С. Аналіз нормативно-правових актів регулювання обігу парафармацевтичних товарів в Україні / А.С. Немченко, В.І. Міщенко, С.В. Тімлієєв // Ліки України. - 2016. - № 4 (29). – С. 30 – 33.

6. Сучасна фітотерапія : навч. посібник / С.В. Гарна, І.М. Владимірова, Н.Б. Бурд та ін. – Х. : «друкарня Мадрид», 2016. – 580 с.

7. Фітотерапія. Навчальний посібник для практичних і семінарських занять курсу за вибором для студентів 4 курсу медичного факультету / Л.В. Андріюк, Т.П. Гарник, І.В. Магулка та ін. – Львів: вид-во «Папуга», 2013. – 169 с.

Інформаційні ресурси

1. Газета «Аптека» [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://www.apteka.ua/>

2. Державний реєстр лікарських засобів України [Електронний ресурс] // Режим доступу: www.drlz.com.ua.

3. Журнал «Провізор» [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://www.provisor.com.ua/>

4. Законодавство України [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://zakon.rada.gov.ua/>

5. Компендіум OnLine [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://compendium.com.ua/>

6. Определитель растений on-line [Электронный ресурс] . - Режим доступа: <http://www.plantarium.ru>

7. Перелік лікарських засобів згідно Національного переліку основних лікарських засобів і виробів медичного призначення [Електронний ресурс]. – Режим доступу: http://www.moz.gov.ua/ua/portal/register_naclist/

8. Сайт Міністерства охорони здоров'я України [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://www.moz.gov.ua/>

9. Фармацевтична енциклопедія [Електронний ресурс]. – Режим доступу: <http://www.pharmencyclopedia.com.ua>