

Analiza leków

W polskiej terminologii:

- leki,
 - farmaceutyki,
 - bioleki,
 - biofarmaceutyki (np. szczepionki).
-

Definicja leku:

definicję leku podają podstawowe akty prawne dotyczące farmacji;

w Polsce: ustawa - Prawo farmaceutyczne z 6 września 2001 r. (Dz.U. z 30 maja 2005 r. nr 94, poz. 787)

Lek, produkt leczniczy, to każda substancja, pochodzenia naturalnego lub syntetycznego wprowadzana do organizmu w celu osiągnięcia pożądanego efektu terapeutycznego lub w celu zapobiegania chorobie, podawana w ściśle określonej dawce.

Produkty homeopatyczne nie odpowiadają definicji leków.

-
- ✓ Środek farmakologiczny (lecniczy) to substancja aktywna biologicznie, znajdująca się w leku.
 - ✓ Preparat farmaceutyczny to - przygotowany według określonej receptury - lek lub zestaw leków.
-

Leki dzieli się na grupy najczęściej według:

- kryterium ich działania farmakologicznego,
- zastosowania w konkretnych jednostkach chorobowych.

- ✓ Leki uporządkowane są w klasyfikacji anatomiczno-terapeutyczno-chemicznej

Nazewnictwo leków:

używane są trzy rodzajów nazw

1. nazwy międzynarodowe (niezastrzeżone),
 2. nazwy producenta (zastrzeżone),
 3. nazwy chemiczne (niezastrzeżone).
-

Leki z punktu widzenia analityka

to mieszanina substancji zawierająca:

- jeden lub kilka składników (najczęściej);
- do kilkunastu składników (znacznie rzadziej).

Substancje są:

- związkami organicznymi (najczęściej/z reguły),
 - związkami metaloorganicznymi (stosunkowo rzadko),
 - związkami nieorganicznymi (bardzo rzadko),
 - mikroorganizmami (szczepionki).
-

Leki w postaci stałej:

- tabletki (drażetki),
 - kapsułki,
 - granulaty,
 - proszki.
-

Leki z punktu widzenia analityka:

w przypadku ciał stałych

- najczęściej substancje stałe „dokładnie porcjowane” (tabletki, kapsułki) – masa pojedynczej próbki leku odpowiada typowej masie próbki analitycznej,
 - masy próbek (tabletek, kapsułek) oraz ich skład są jednakowe w granicach tolerancji,
 - w przypadku wielu leków ważna jest postać krystalochemiczna substancji czynnej.
-

Leki w postaci roztworów:

- roztwory lecznicze,
 - płyny do wstrzykiwań,
 - syropy.
-

Leki w postaci układów rozproszonych:

- zawiesiny ciekłe,
 - zawiesiny suche,
 - mazidła,
 - żele,
 - maści,
 - aerozole lecznicze.
-

Leki - próbki:

- ✓ wiele leków to próbki w pełni homogeniczne,
 - ✓ pod względem chemicznym i fizycznym stabilne w czasie (określonym i charakterystycznym dla danego preparatu leczniczego).
-

Pobieranie próbek leków do analizy:

jest proste i łatwe:

- z punktu widzenia strategii próbkowania,
- z punktu widzenia samej operacji pobierania próbek,

bo

leki są produktem/substancją w postaci porcjowanej i opakowanej.

Badania analityczne:

1. substratów, półproduktów i finalnych preparatów leczniczych, substancji czynnych,
 2. stosowanych opakowań (szklanych, z tworzyw sztucznych, folii metalowych),
ponad to bada się
 3. pozostałości leków
 - w żywności,
 - w płynach ustrojowych człowieka.
-

Pozostałości leków w żywności:

- wynik leczenia zwierząt zwłaszcza antybiotykami - ale nie tylko, bo:
- powodowanie szybkiego przyrostu masy mięsnej za pomocą niektórych leków (np. sterydy, klenbuterol).

W wielu krajach jest to nielegalne.

Leki te (np. antybiotyki, sterydy) z pożywieniem przedostają się do organizmu człowieka (na tym poziomie można je wykryć).

Pozostałości leków:

1. pozostałości typu leki/specyficzne substancje chemiczne w płynach ustrojowych człowieka:
 - leki przeciwbólowe (niektóre z nich to narkotyki),
 - sterydy,
 - suplementy diety;

ich obecność jest „niedopuszczalna prawnie”/ regulowana w określonych warunkach;
 2. pozostałości leków i ich metabolity w próbkach środowiskowych.
-

Kwestie prawne:

1. farmakopee,
 2. dyrektywy i rozporządzenia Ministra Zdrowia,
 3. zalecenia WHO.
-

Pozostałości leków w żywności:

w roku 1986

Wspólnota Europejska wprowadziła dyrektywę, która zdefiniowała wymagania dotyczące badania zwierząt i żywności pod względem pozostałości leków i obowiązuje we wszystkich państwach członkowskich (Rada Wspólnoty Europejskiej, Dyrektywa Rady 469/EEC).

- czułe i efektywne pod względem kosztów metody monitorowania pozostałości leków w moczu zwierząt, w surowicy i w mięsie mają zasadnicze znaczenie dla zapewnienia utrzymania ich poziomu w określonych zakresach;
- testy muszą zapewnić możliwość badania zarówno małych, jak i dużych ilości próbek,
- metody skriningowe.

Specyfika:

zdarza się, że

lek jest dopuszczany do stosowania w „innym kraju” (systemie prawnym) niż „kraj”, w którym go wytworzono (inny system prawny)

- ✓ kluczowym jest w tym przypadku problem odwzorowania pomiarów i badań nad lekiem (*traceability in measurements*, spójność pomiarowa).
-

Walidacja:

jest bezwzględnie obowiązująca w przypadku:

1. stosowanych metod,
 2. otrzymanych wyników pomiarów.
-

Analiza leków

Badania wstępne i ogólne

Leki - rodzaje prowadzonych badań:

- analiza składu,
- analiza struktury (dotyczy ciał stałych, z reguły).

W szeregu przypadków analiza struktury jest tak samo ważna jak analiza składu

- własności fizykochemiczne i biologiczne - bioaktywność /moc leku - i inne są zależne od rodzaju i struktury substancji czynnej.
-

Analityka w badaniach laboratoryjnych:

- badania stabilności i degradowalności leku
 - czas,
 - temperatura,
 - badania czystości leku
 - substancje organiczne:
głównie typu pozostałości rozpuszczalników,
 - metale ciężkie i toksyczne.
-

Stosowane metody:

- chemiczne,
 - fizyczne i fizykochemiczne,
 - instrumentalne,
 - biochemiczne,
 - biologiczne.
-

Analityka w badaniach laboratoryjnych:

analiza

- substratów (i półproduktów),
 - substancji pomocniczych,
 - substancji leczniczych (czynne/aktywne),
 - produktu leczniczego (gotowego leku),
 - opakowań leku.
-

Określenie jednorodności próbki – substancja aktywna, lek:

szereg metod m.in.:

metody chromatograficzne,
metody spektroskopowe,
optyczne.

Ustalenie wzoru cząsteczkowego:

1. analiza elementarna,
 2. pomiar ciśnienia osmotycznego roztworu,
 3. ebulioskopia,
 4. krioskopia,
 5. metody spektroskopowe,
 6. spektrometria mas,
 7. NMR,
 8. spektrometria UV.
-

Ustalenie wzoru strukturalnego:

1. NMR,
 2. dyfrakcja rentgenowska,
 3. spektroskopia UV,
 4. spektroskopia IR,
 5. polarymetria,
 6. analiza termiczna,
 7. metody chemiczne – reakcje charakterystyczne dla grup funkcyjnych.
-

Metody i badania analityczne:

1. specyficzne dla danego rodzaju leku;
 2. obowiązujące dla wszystkich typów leków:
 - ✓ identyfikacja lub sprawdzenie tożsamości,
 - ✓ oznaczanie zawartości i badanie czystości,
 - ✓ określenie właściwości substancji/leku mających znaczenie technologiczne oraz znaczenie w zachowaniu trwałości,
 - ✓ badania farmakologiczne, farmakokinetyczne oraz biofarmaceutyczne.
-

Parametry identyfikujące substancję:

1. nazwa lub inne dane identyfikujące każdą z substancji
 - 1.1 nazwy chemiczne zgodne z nomenklaturą IUPAC lub inne międzynarodowe,
 - 1.2 inne nazwy (zwyczajowa, handlowa, skrót),
 - 1.3 numer substancji w wykazie EINECS lub ELINCS itp.,
 - 1.4 nazwa wg CAS i numer CAS (jeśli są dostępne),
 - 1.5 inne kody identyfikujące (jeśli są dostępne);
-

Parametry identyfikujące substancję:

2. informacje związane z wzorem cząsteczkowym i strukturalnym każdej substancji
 - 2.1 wzór cząsteczkowy i strukturalny (w tym zapis SMILES, jeśli jest dostępny),
 - 2.2 informacja o czynności optycznej substancji oraz typowych proporcjach izomerów przestrzennych (jeśli jest to możliwe i właściwe),
 - 2.3 masa cząsteczkowa lub zakres masy cząsteczkowej.
-

Sprawdzanie tożsamości:

1. metody spektroskopowe,
2. metody chromatograficzne,
3. metody optyczne,
4. metody chemiczne.

Bardzo często konieczne jest zastosowanie kilku różnych metod równocześnie.

Metody rozdziału i izolacji:

są stosowane w analizie leków, również w połączeniu z metodami instrumentalnymi

1. metody ekstrakcyjne,
 2. metody chromatograficzne,
 3. derywatyzacja,
 4. procesy chemiczne, np. typu hydroliza.
-

Badania wstępne substancji leczniczych:

przed przystąpieniem do ustalania tożsamości, należy przeprowadzić badania wstępne/ogólne.

Do badań wstępnych należą:

1. ocena organoleptyczna (stan skupienia, barwa, zapach),
 2. próby spalania i próby płomieniowe,
 3. badanie rozpuszczalności,
 4. analiza elementarna.
-

Badania fizyczne - przykłady:

- ✓ proszki: badanie stopnia rozdrobnienia,
 - ✓ zasypki i pudry – sypkość,
 - ✓ roztwory: klarowność, lepkość,
 - ✓ emulsje: stopień dyspersji, lepkość,
 - ✓ maści: stopień rozproszenia substancji leczniczej,
 - ✓ czopki: czas deformacji i szybkość uwalniania się substancji leczniczej,
 - ✓ aerozole: charakterystyka aerozolu (wielkości rozpylanych cząstek),
 - ✓ tabletki: odchylenia od przepisowej masy, ustalonych wymiarów (np. grubości), proporcji podziału (dla niektórych tabletek),
-

Badania fizyczne - przykłady:

- ✓ oznaczanie popiołu: całkowitego, nierozpuszczalnego w HCl, siarczanowego,
 - ✓ straty przy suszeniu.
-

Metody mikrometryczne:

=> pozwalają na określenie nominalnych rozmiarów cząstek

Metoda	zakres rozmiarów cząstek [μm]
• mikroskopia optyczna	3 - 1000
• mikroskopia transmisyjna elektronowa	0,002 - 1
• sedimentacja	0,05 - 100
• odwirowanie	0,05 - 100
• przesiewanie	0,05 - 10000

Metody mikrometryczne:

dają możliwość oszacowania:

- kształtu cząstek,
 - powierzchni właściwej,
 - porowatości,
 - gęstości.
-

Próby spalania i próby płomieniowe:

=> prowadzi się w celu wstępnego odróżnienia związków nieorganicznych od organicznych:

1. substancja nie zwęglą się, nie pali (ewentualnie zmienia barwę) - *związek nieorganiczny*,
 2. substancja zwęglą się lub spala częściowo, pozostaje barwny osad - *obecność metali i związku organicznego*,
 3. substancja lecznicza całkowicie zwęglą się i spala - *związki organiczne*.
-

Badanie rozpuszczalności:

- => określenie rozpuszczalności związku jest etapem w ustalaniu jego przynależności do odpowiedniej grupy analitycznej.
1. badanie rozpuszczalności prowadzi się w temperaturze pokojowej: zazwyczaj 0,1 g sproszkowanej substancji wytrząsa się z 3 ml rozpuszczalnika.
 2. stosowane najczęściej rozpuszczalniki:
 - woda,
 - roztwór NaOH (5%),
 - roztwór NaHCO₃ (5%),
 - roztwór HCl (5%).
-

Badanie rozpuszczalności:

Woda (rozpuszczalnik polarny)

- rozpuszcza związki hydrofilowe:

alkohole, cukry, hydroksykwasy, aminokwas, sole alkaliczne kwasów organicznych, sole zasad organicznych (chlorowodorki, siarczany).

- związki te są nierozpuszczalne w eterze
 - bada się też pH roztworu wodnego, aby ustalić charakter chemiczny badanego związku.
-

Badanie rozpuszczalności:

5% roztwór NaOH

- rozpuszcza kwasy organiczne, fenole, imidy,

5% roztwór NaHCO₃

- rozpuszcza związki o słabszym charakterze kwaśnym,
- fenole, imidy, laktamy są w tym roztworze nierozpuszczalne.

5% roztwór HCl (zwykle)

- związki o charakterze zasadowym (np.: aminy alifatyczne i aromatyczne).
-

Badania trwałości leków:

obejmuje zmiany fizyczne, chemiczne i biologiczne

Przykłady zachodzących zmian/metody i procedury:

1. przegrupowania przestrzenne (racemizacja)
 - pomiar skręcalności optycznej,
 2. hydroliza – spektrofotometria,
 3. utlenianie – metody chemiczne,
 4. hydratacja i dehydratacja
 - spektrofotometria, niektóre metody chromatograficzne,
 5. dimeryzacja – metody chromatograficzne.
-

Metody chemiczne w analizie leków

Podstawę zastosowania metod chemicznych
w analizie farmaceutyków stanowią
REAKCJE CHARAKTERYSTYCZNE
dla niektórych grup funkcyjnych i układów
występujących w środkach leczniczych.

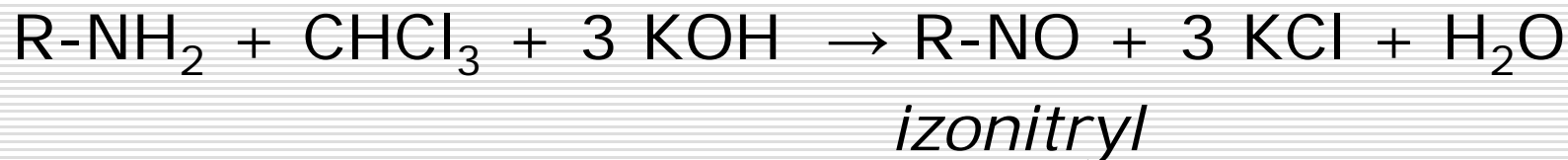
Aminy:

✓ Reakcja izonitrylowa

(charakterystyczna dla amin I-rzędowych):

=> *do roztworu substancji dodać 0,5 ml chloroformu oraz parę ml roztworu wodorotlenku sodowego i ogrzać do zniknięcia zapachu, chloroformu.*

Przy dalszym ogrzewaniu wydziela się bardzo nieprzyjemny zapach izonitrylu.



Aminy:

✓ Reakcje z kwasem azotowym (III):

=> *do roztworu aminy dodać 0,5 ml 10% kwasu solnego, a następnie kroplami roztworu azotanu (III) sodu, chłodząc wodą.*

Aminy:

Aminy alifatyczne w tych warunkach:

1. aminy I-rzędowe wydzielają obficie azot, tworząc równocześnie odpowiedni alkohol:



2. aminy II-rzędowe tworzą trudno rozpuszczalne nitrozoaminy:



3. aminy III-rzędowe nie reagują lub ulegają rozkładowi.
-

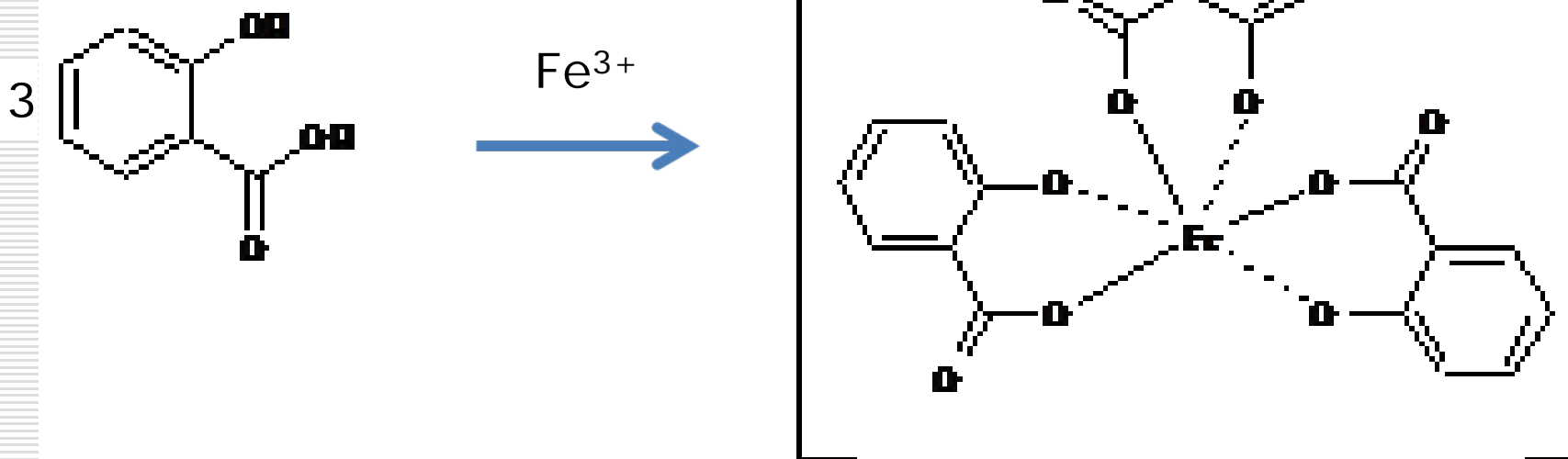
Aminy:

Aminy aromatyczne w tych warunkach:

1. aminy I-rzędowe dają sole diazoniowe, które po dodaniu roztworu b-naftolu tworzą pomarańczowe lub czerwone barwniki azowe,
$$\text{ArNH}_2 + \text{HNO}_2 + \text{HCl} \rightarrow [\text{Ar-N}=\text{N}] + \text{Cl}^-$$
 2. II-rzędowe aminy tworzą trudno rozpuszczalne nitrozoaminy,
 3. aminy III-rzędowe ulegają nitrozowaniu pierścienia.
-

Reakcje barwne z chlorkiem żelaza(III):

związki zawierające ugrupowanie fenolowe lub enolowe, dają z chlorkiem żelaza (III) zabarwienie fioletowe.



ACIDUM ACETYLOSALICYLICUM, KWAS ACETYLOSALICYLOWY, POLOPIRYNA, ASPIRINA:

$C_9H_8O_4$ m.cz. 180,16

Biały krystaliczny proszek o nieznacznie wyczuwalnym zapachu kwasu octowego, łatwo rozpuszcza się w etanolu i 1M roztworze NaOH, rozpuszcza się w chloroformie i eterze; trudno rozpuszcza się w wodzie.

Temp. topn. 137-137°C

ACIDUM ACETYLOSALICYLICUM, KWAS ACETYLOSALICYLOWY, POLOPIRYNA, ASPIRINA:

Potwierdzenie tożsamości

1. substancja daje dodatnią reakcję estryfikacji,
 2. preparat łatwo ulega hydrolizie w wodzie i w środowisku alkalicznym; produkty rozkładu, takie jak kwas salicylowy lub kwas octowy, można identyfikować na podstawie charakterystycznych reakcji; reakcja z FeCl_3 po hydrolizie.
- ✓ *Okolo 0,1 g substancji gotować z 10 ml wody w ciągu 1 min., ochłodzić i dodać kroplę roztworu FeCl_3 ; powstaje ciemnofioletowe zabarwienie (patrz reakcje z FeCl_3).*
 - ✓ *Okolo 0,2 g substancji rozpuścić w 5 ml 1 M roztworu NaOH , gotować 3 min., ochłodzić, dodać 10 ml 0,5 M H_2SO_4 i przesączyć: po dokładnym przemyciu wodą i wysuszeniu osad topi się w temp. 158-161°C (kwas salicylowy), do przesączu dodać 3 ml 95° etanolu, 3 ml 96% H_2SO_4 i ogrzewać; powstaje zapach octanu etylu.*
-

PHENOBARBITALUM, FENOBARBITAL, LUMINAL, GARDENAL:

Kwas 5-etylo-5-fenylobarbiturowy

$C_{12}H_{12}N_2O_3$ m.cz. 234,24

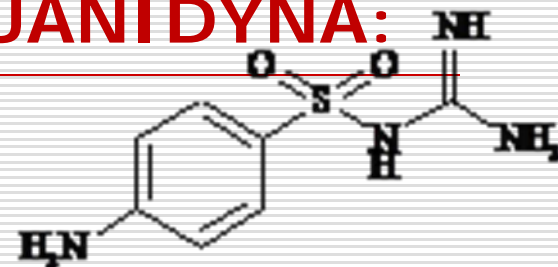
Biały, krystaliczny proszek o temp. topnienia
173-178°C

Potwierdzenie tożsamości:

1. reakcje charakterystyczne dla barbituranów,
 2. reakcje pierścienia fenylowego - tworzenie pochodnych nitrozowych.
- ✓ *Do 0,1 g substancji dodać 2 ml 96% kwasu siarkowego, dodać 10 mg azotynu sodu; powstaje żółte zabarwienie.*
 - ✓ *0,1 g substancji rozpuścić w 2 ml 96% kwasu siarkowego, dodać 5 kryształków azotanu sodu - powstaje żółte zabarwienie.*

SULFAGUANIDINUM, SULFAGUANIDYNA:

$C_7H_{10}N_4O_2S \cdot H_2O$ m.cz. 232.26



Drobnokrystaliczny proszek ciemniejący powoli pod wpływem światła. Temp. topn. bezwodnej substancji 190-193°C.

Potwierdzenie tożsamości:

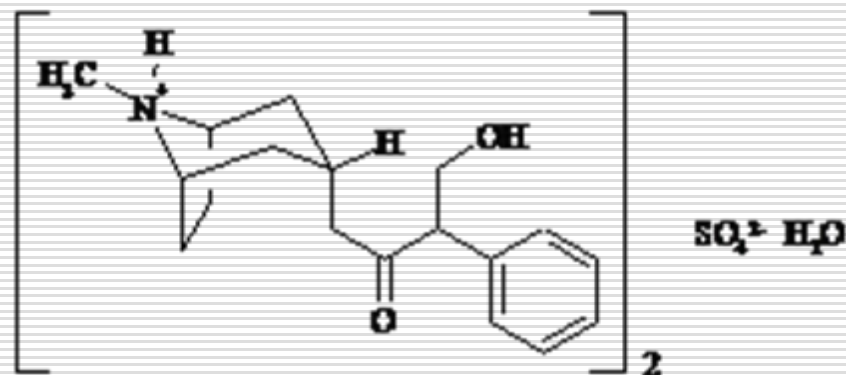
1. roztwór 1,0 mg substancji w 100 ml wody wykazuje maksimum absorpcji przy ok. 259 nm, które wynosi ok. 635 w warstwie 1 cm,
2. preparat nie rozpuszcza się na zimno w roztworach wodorotlenku sodowego, lecz dopiero po podgrzaniu, wydzielając zapach amoniaku (odróżnienie od innych sulfonamidów),
3. substancja ogrzewana ostrożnie w probówce daje stop fioletowoniebieski.

Oznaczenia ilościowe

analiza miareczkowa

Oznaczenia alkacymetryczne:

ATROPINUM SULFURICUM, ATROPINI SULFAS, SIARCZAN ATROPINY



Wykonanie oznaczenia:

Otrzymaną ilość substancji rozpuścić w 10 ml etanolu, dodać 20 ml chloroformu i miareczkować 0,1 M roztworem wodorotlenku sodu stosując jako wskaźnik fenoloftaleinę.

1 ml 0,1 M roztworu wodorotlenku sodu odpowiada **0,03384 g** bezwodnego siarczanu atropiny.

Oznaczenia alkacymetryczne:

ACIDUM SALICYLICUM, KWAS SALICYLOWY

$C_7H_6O_3$ m. cz. 138,12

kwas 2-hydroksybenzenokarboksyłowy



Wykonanie oznaczenia:

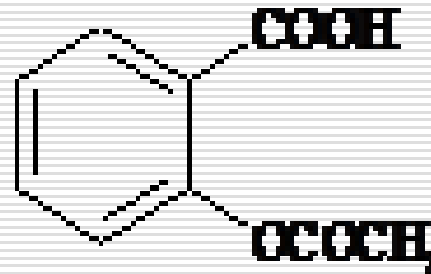
Odważyć dokładnie około 0,25 g substancji, rozpuścić w 15 ml etanolu i miareczkować 0,1 M roztworem wodorotlenku sodu stosując jako wskaźnik fenoloftaleinę.

1 ml 0,1 M roztworu wodorotlenku sodu odpowiada **0,0138 g** kwasu salicylowego.

Oznaczenia alkacymetryczne:

ACIDUM ACETYLOSALICYLICUM, KWAS
ACETYLOSALICYLOWY, POLOPIRYNA, ASPIRINA

$C_9H_8O_4$ m.cz. 180,16
kwas 2-acetoksybenzoesowy



Wykonanie oznaczenia:

Odważyć dokładnie około 1,5 g substancji, rozpuścić w 50 ml 0,5 M roztworu NaOH i ogrzewać 15 min. na łaźni wodnej pod chłodnicą zwrotną; ochłodzić i **nadmiar wodorotlenku sodu odmiareczkować 0,25 M kwasem siarkowym wobec fenoloftaleiny**. Wykonać ślepą próbę.

1 ml 0,25 M roztworu kwasu siarkowego odpowiada **0,04504 g** polopiryny.

Oznaczenia argentometryczne:

TOLAZOLINUM HYDROCHLORICUM, TOLAZOLINI
HYDROCHLORIDUM, CHLOROWODOREK
TOLAZOLINY, PRIDAZOL, PRISCOL

$C_{10}H_{12}N_2 \cdot HCl$ m. cz. 196,7

Chlorowodorek 2-benzylo-2-imidazoliny

Wykonanie oznaczenia:

Do otrzymanego do analizy płynu dodać 5 ml 10 % kwasu azotowego i 10 ml 0,1 M roztworu azotanu srebra. Nadmiar 0,1 M roztworu azotanu srebra odmiareczkować 0,1 M roztworem rodanku amonowego wobec siarczanu żelazowo-amonowego.

1 ml 0,1 M roztworu azotanu srebra odpowiada **19,67 mg** chlorowodoru tolazoliny.

Oznaczenia bromianometryczne:

ETHYLUM HYDROXYBENZOICUM, ETHYLIS
HYDROKSYBENZOAS, HYDROKSYBENZOESAN
ETYLU, ASEPTYNA A, NIPAGINA A

$C_9H_{10}O_3$ m. cz. 166,18
4-hydroksybenzoesan etylu

Oznaczenia bromianometryczne:

ASEPTYNA A, NIPAGINA A

Wykonanie oznaczenia:

Odważyć dokładnie około 0,1 g substancji do kolby stożkowej z doszlifowanym korkiem, rozpuścić w mieszaninie 3 ml 10 % NaOH i 6 ml H₂O, ogrzewać 15 min na wrzącej łaźni wodnej i ochłodzić. Dodać 25 ml 0,0167 M (0,1 N) bromianu potasu, 1 g bromku potasu, 20 ml 16 % H₂SO₄, zmieszać i pozostawić na 15 min. Następnie dodać 1 g jodku potasu i po 5 min miareczkować 0,1 M roztworem tiosiarczanu sodu wobec skrobi (wskaźnik dodać pod koniec miareczkowania). Wykonać równocześnie próbę ślepa, pozwalającą oznaczyć całkowitą ilość bromu powstającą w warunkach oznaczenia.

1 ml 0,0167 M roztworu bromianu potasu odpowiada **0,0276 g** Aseptyny A.

Oznaczenia jodometryczne:

NORAMINOPHENAZONUM METHANOSULPHONICUM
NATRIUM (FP V), METAMIZOLUM NATRIUM,
METAMIZOL SODU, PYRALGINUM, NOWALGINA,
ANALGIN

$C_{13}H_{16}N_3NaO_4S \cdot H_2O$ m. cz. 351,35
N-metylo-N-[1-fenyl-2,3-dimetylo-5-
ketopirazolinyl(4)]-aminometylosiarczyn sodowy

Wykonanie oznaczenia:

Odważyć dokładnie około 0,2 g substancji, rozpuścić w 5 ml wody, dodać 5 ml 0,02 M kwasu solnego oraz parę kropli skrobi. Miareczkować 0,05 M roztworem jodu.

1 ml 0,05 M roztworu jodu odpowiada **0,01667 g** bezwodnego metamizolu.

Oznaczenia kompleksometryczne:

CALCII GLUCONATIS TABULETTAE, TABLETKI GLUKONIANU WAPNIA

Wykonanie oznaczenia:

Odważyć dokładnie masę sproszkowanych tabletek, odpowiadającą ok. 0,3 g glukonianu wapnia, dodać 1 ml kwasu solnego (281 g/l) i 100 ml wody, doprowadzić do wrzenia i ochłodzić. Dodać 3 ml roztworu wodorotlenku sodu (175 g/l), 0,1 g mieszaniny mureksydu z chlorkiem sodu i miareczkować roztworem wersenianu disodowego (0,05 mol/l) do zmiany zabarwienia różowego na fioletowoniebieskie.

1 ml 0,05 M wersenianu disodowego odpowiada **22,42 mg** jednowodnego glukonianu wapnia.

Oznaczenia instrumentalne:

SPEKTROFOTOMETRYCZNE OZNACZENIE KWASU SALICYLOWEGO

$C_7H_6O_3$ m. cz. 138,12

ACIDUM SALICYLICUM, KWAS SALICYLOWY

Wykonanie oznaczenia:

Do 5 kolb miarowych na 100 ml odmierzyć 1, 2, 3, 4, 5 ml roztworu wzorcowego kwasu salicylowego (0,0005 g/ml) i dodać po 10 ml $Fe(NO_3)_3 \cdot 9H_2O$, zmieszać oraz uzupełnić wodą destylowaną do kreski. Podobnie wykonać reakcję z roztworem badanym. Następnie wykonać pomiary absorpcji roztworów wzorcowych i badanych przy długości fali $\lambda_{max} = 510 \text{ nm}$. Sporządzić krzywą wzorcową ($A = f(c)$) i na jej podstawie określić stężenie badanej próbki.

Badanie polimorfizmu farmaceutyków

Badania strukturalne substancji stałych

Polimorfizm:

zjawisko występowania związków naturalnych i syntetycznych w różnych odmianach krystalicznych

= wielopostaciowość związku chemicznego,

odmiany polimorficzne nie są różnymi stanami skupienia,
ale transformacja jednej formy w inną jest uważana za przejście fazowe (tzw. przemiana pierwszego rzędu).

Polimorfizm - leki:

występowanie polimorfizmu jest bardzo ważną cechą każdej substancji aktywnej leku – nie wszystkie formy są bioaktywne.

Przejścia jednych form polimorficznych w drugie:

1. nie zachodzą w ściśle określonych temperaturach,
2. są zależne od tzw. „termicznej historii próbki/substancji”

co oznacza, że dany związek może występować w różnych odmianach polimorficznych w tej samej temperaturze.

Polimorfizm - leki:

1. producenci leków prowadzą badania mające na celu wykrywanie i projektowanie form polimorficznych substancji aktywnych i pomocniczych,
 2. przedstawienie wyników takich badań jest wymagane jest również w dokumentacji rejestracyjnej leków,
 3. każda firma farmaceutyczna badając (produkując) dany farmaceutyk musi potwierdzić fakt występowania lub brak odmian polimorficznych substancji aktywnej.
-

Polimorfizm - leki:

1. polimorfy, tzw. „rzeczywiste” polimorfy
= substancje aktywne występujące w dwóch lub więcej fazach krystalicznych, które mają różne ułożenie i/lub konformację cząsteczek w komórce kryształu,
 2. solwaty (pseudopolimorfy)
= formy krystaliczne zawierające stechiometryczną lub niestechiometryczną ilość rozpuszczalnika.
Jeśli rozpuszczalnikiem jest woda są to hydraty.
-

Formy polimorficzne różnią się:

1. siecią krystaliczną,
2. lub parametrami komórki elementarnej.

Substancja farmaceutyczna posiada/może posiadać:

1. różne struktury krystaliczne,
 2. mogą one być metastabilne i stabilne.
-

Formy polimorficzne i pseudopolimorficzne

różnią się właściwościami fizycznymi:

1. kolor, kształt kryształu,
 2. temperatura topnienia i sublimacji,
 3. gęstość,
 4. twardość,
 5. prężność par,
 6. współczynnik załamania światła,
 7. rozpuszczalność, szybkość i ciepło rozpuszczania,
 8. stabilność,
 9. higroskopijność,
 10. własności mechaniczne.
-

Formy polimorficzne i pseudopolimorficzne

różnią się również właściwościami chemicznymi i biochemicznymi:

1. biodostępność - co uwzględnia biofarmaceutyczna klasyfikacja leków (BCS, ang. Biopharmaceutics Classification System),
2. toksyczność,
3. reaktywność.

Odmiany polimorficzne niektórych związków (przy podaniu doustnym) charakteryzują się różnym stężeniem w surowicy krwi dochodzącym do 70%.

Polimorfizm substancji farmaceutycznych

Wpływ na powstawanie odmian polimorficznych ma:

- ✓ rodzaj rozpuszczalnika i innych substancji,
- ✓ mieszanie,
- ✓ stosowanie różnych stężeń reagentów,
- ✓ szybkość krystalizacji.

Zmiana jednego z tych czynników może doprowadzi do transformacji form polimorficznych:

1. nieodwracalnych,
 2. odwracalnych.
-

Proces transformacji jednego polimorfu w drugi może zachodzić również podczas:

1. suszenia,
2. przechowywania substancji,
3. procesu przetwarzania np. podczas ucierania czy tabletkowania.

Pojawianie się lub zanikanie wybranej formy polimorficznej może prowadzić do poważnych farmaceutycznych konsekwencji.

Przykłady leków, w przypadku których występują różne formy krystaliczne:

- ✓ barbiturany,
 - ✓ steroidy,
 - ✓ sulfonamidy,
 - ✓ antybiotyki (faza stała może zawierać więcej odmian polimorficznych),
 - ✓ niesterydowe leki przeciwzapalne,
 - ✓ pochodne uracylu i miejscowych anestetyków.
-

Metody analizy form polimorficznych:

1. pomiary właściwości fizycznych

- rozpuszczalność,

3. metody mikroskopowe

- mikroskopia skaningowa,
- mikroskopia stereoskopowa,

3. metody rentgenowskiej analizy dyfrakcyjnej

- dyfraktometria proszkowa (X-ray Powder Diffraction),
 - rentgenowska dyfrakcyjna analiza strukturalna monokryształów (X-ray Diffractonal Monocrystal Structure Analysis).
-

Metody analizy form polimorficznych:

4. metody spektroskopowe

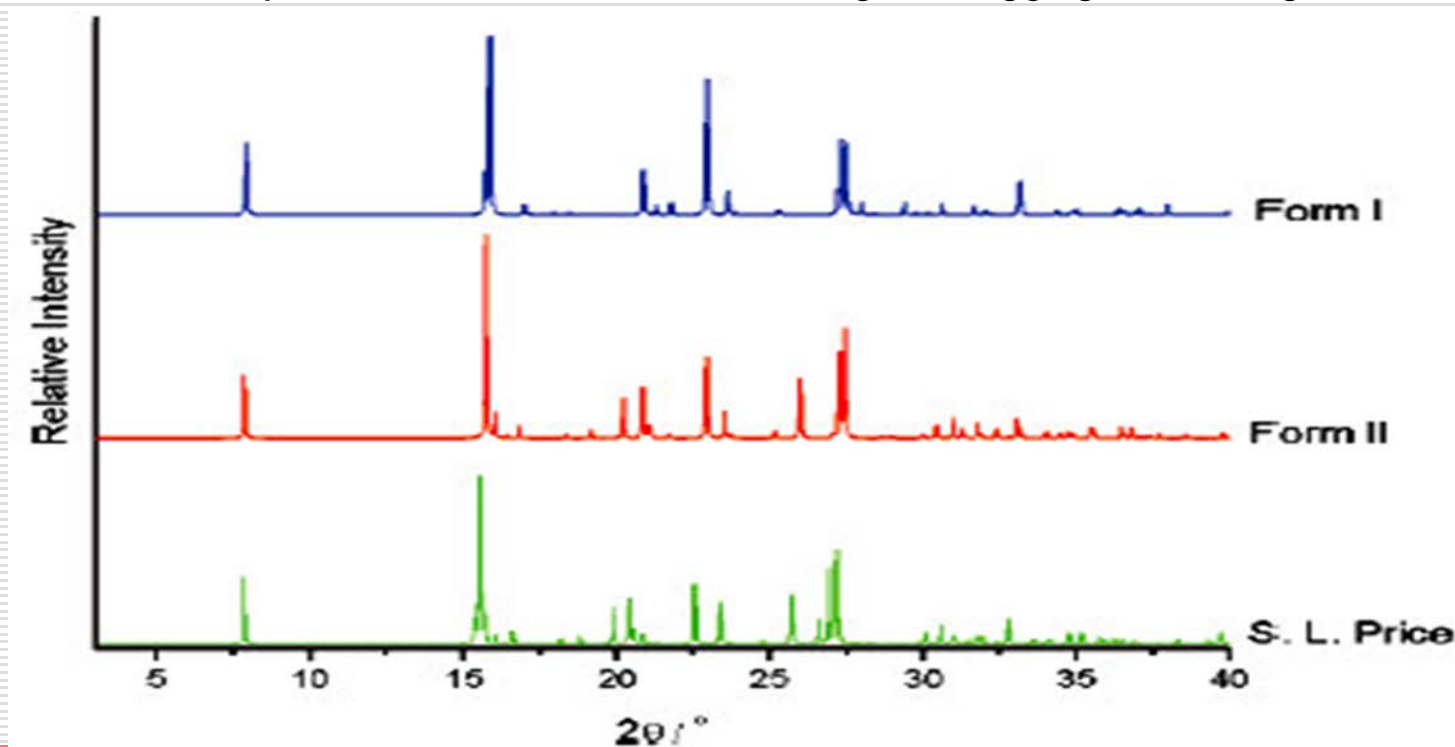
- spektroskopia w podczerwieni IR ,
- spektroskopia NMR (ang. Nuclear Magnetic Resonance),
- spektroskopia Ramanowska,

5. metody analizy termicznej

- różnicowa kalorymetria skaningowa (DSC, ang. Differential Scanning Calorimetry),
 - analiza termooptyczna,
 - termogravimetria (TG, ang. Thermogravimetry).
-

Dyfraktogramy proszkowe odmian polimorficznych:

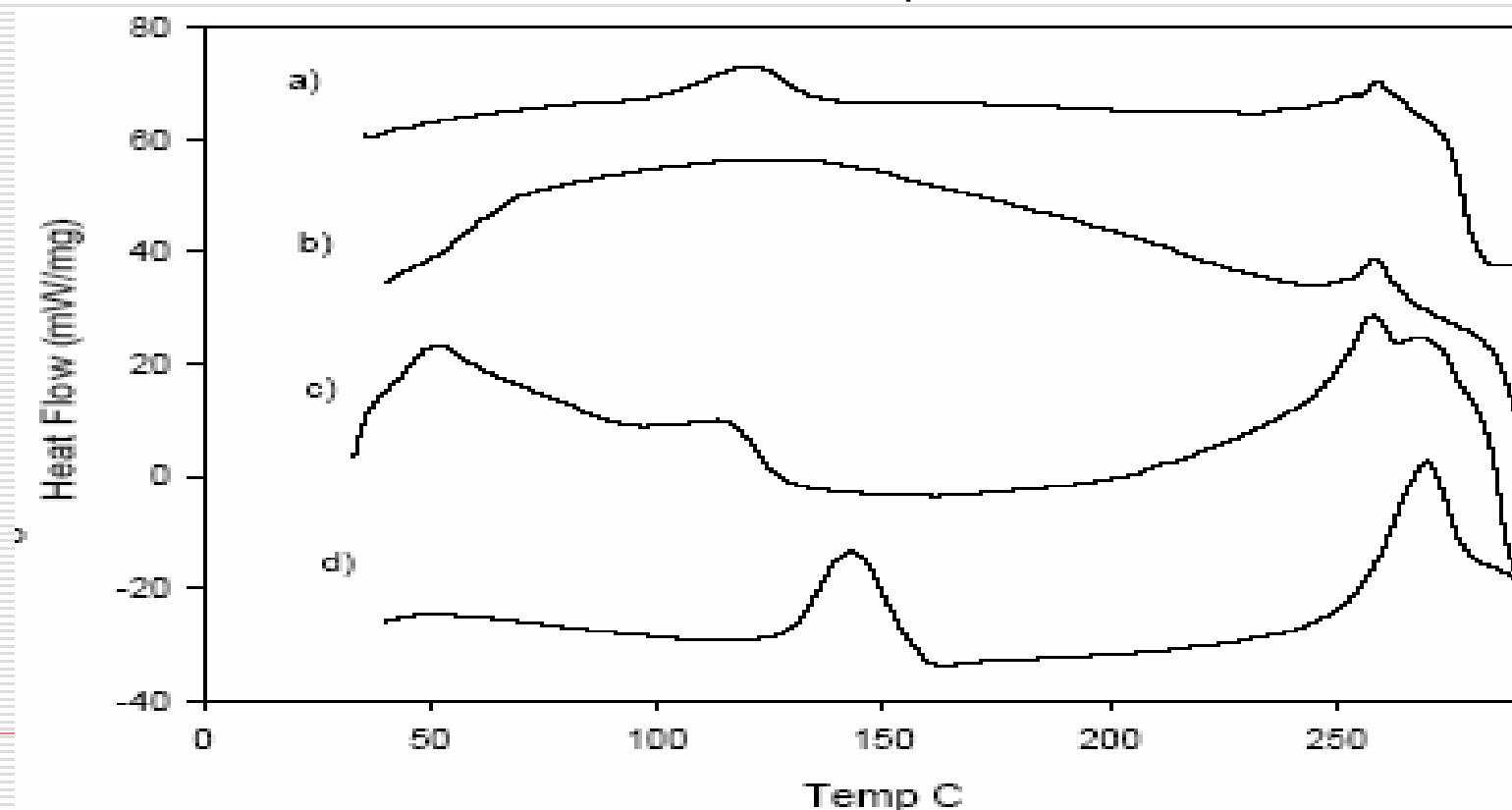
Na dyfraktogramie formy II oraz S.L. Price można zauważyć dodatkowy pik w obrębie 2θ : 20 i 26° w porównaniu z obrazem dyfrakcyjnym formy I



kwask acetylosalicylowy (aspiryna)

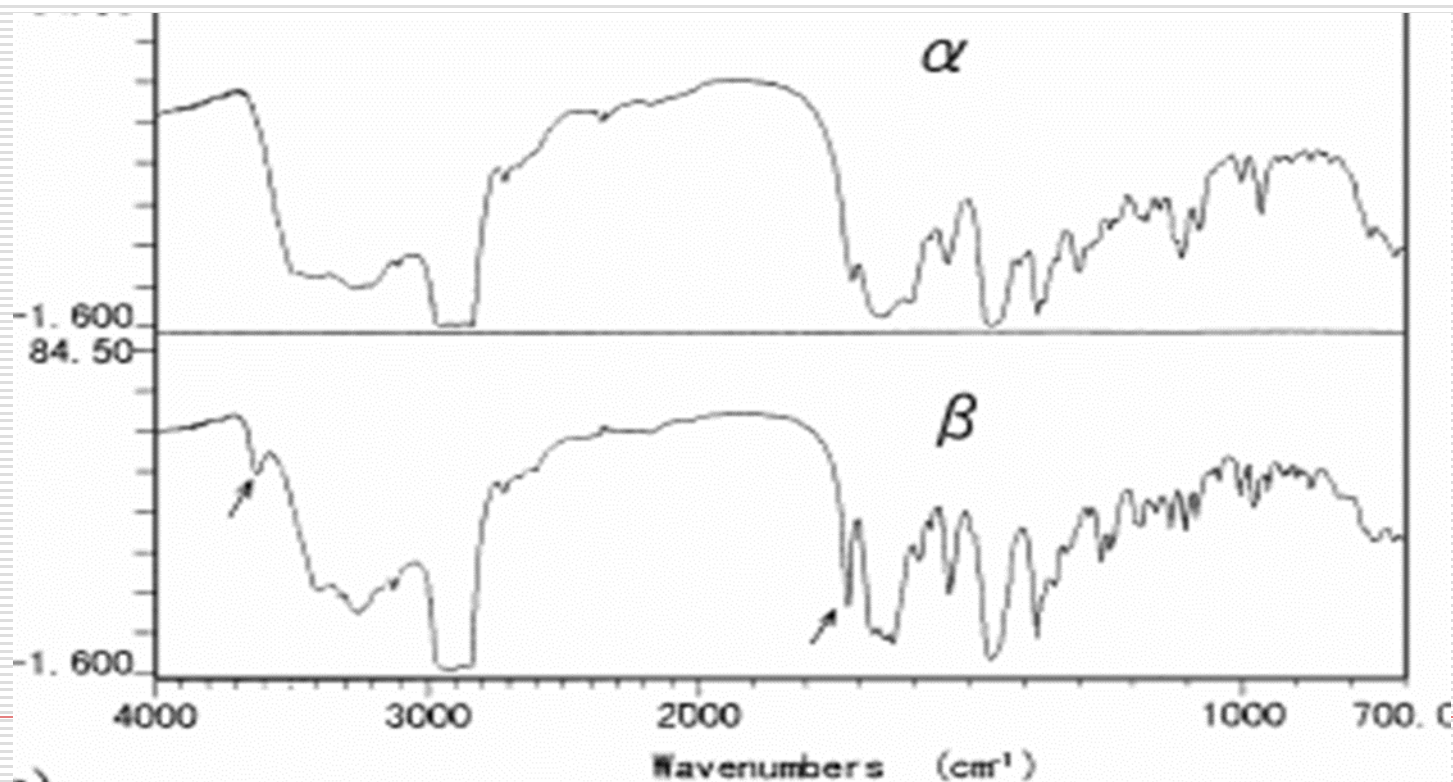
Krzywe DSC BupiwakainyHCl:

wykrystalizowanej z a) wody, b) acetonitrylu, c) metanolu, d) izopropanolu - różne przypadki desolvatacji - piki endotermiczne, w zakresie temperatur 50 - 200°C.



Formy polimorficzne substancji taltirelin - metoda IR:

Charakterystyczne piki absorpcji formy β przy 3600 cm^{-1} i ostry pik o przy 1670 cm^{-1} (wiązanie $\text{C} = \text{O}$) wyższy niż dla formy α .



Leki w tabletkach lub kapsułkach:

- ✓ dla dużej liczby farmaceutyków formy polimorficzne są znane i identyfikacja formy badanej substancji jest oparta na danych literaturowych,
- ✓ dla wielu farmaceutyków formy polimorficzne nie zostały dotąd zbadane,
- ✓ gdy próbki (stałe) różnią się widmami IR, może to wskazywać na istnienie różnych odmian polimorficznych danej substancji,
- ✓ zdarza się, że dyfraktogramy proszkowe próbek tej samej substancji się różnią, natomiast widma IR są identyczne - przykład: indobufen.

Dziękuję za uwagę!
