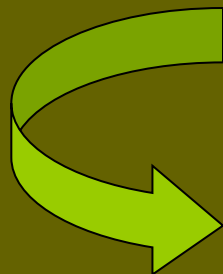


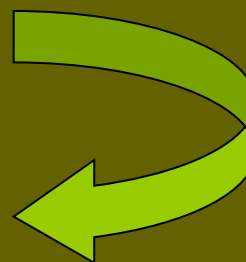
АНАЛИТИЧЕСКИЙ СКРИНИНГ

- - это научно обоснованная система поиска неизвестного яда, когда в процессе последовательных операций поэтапно «отсеиваются» (или определяются) отдельные группы веществ или индивидуальные соединения

Скрининг



Общий скрининг:
исследование веществ,
относящихся к разным
химическим и
фармакологическим
группам



Частный скрининг:
исследование веществ
внутри группы и
определение
индивидуальных
веществ

ТРЕБОВАНИЯ К МЕТОДАМ АНАЛИТИЧЕСКОГО СКРИНИНГА

- ❑ Универсальность
- ❑ Достаточная специфичность
- ❑ Высокая чувствительность
- ❑ Экспрессность
- ❑ Точность и воспроизводимость
- ❑ Простота и доступность
- ❑ Возможность сочетания с другими методами

Тонкослойная хроматография

Преимущества:

- ❑ Высокая чувствительность
- ❑ Экспрессность
- ❑ Возможность широкого выбора сорбентов и способов детектирования
- ❑ Простота исполнения
- ❑ Низкая стоимость анализа

Тонкослойная хроматография

- ❑ Разделение компонентов смеси
- ❑ Идентификация токсических веществ и их метаболитов в извлечениях из биоматериала
- ❑ Очистка выделенных веществ от соэкстрактивных соединений
- ❑ Количественное определение токсикантов

Пластинки

- Стекло
- Фольга
- Полимеры (например политерефталат)

Сорбенты

1. Для разделения липофильных веществ

- Силикагель
- Оксид алюминия (III)
- Ацетилованная целлюлоза
- Полиамид

2. Для разделения гидрофильных веществ

- Целлюлоза
- Ионообменники целлюлозные
- Кизельгур
- Полиамиды

Пластины для ТСХ

«Мерк»

«Силуфол»

«Силуфол УФ-254»

«Силуфол УФ-365»

«Сорбфил»

«Плазмахром»



Нормально - фазовый вариант ТСХ

Особенность:

поверхность
сорбента более
полярная, чем
элюент

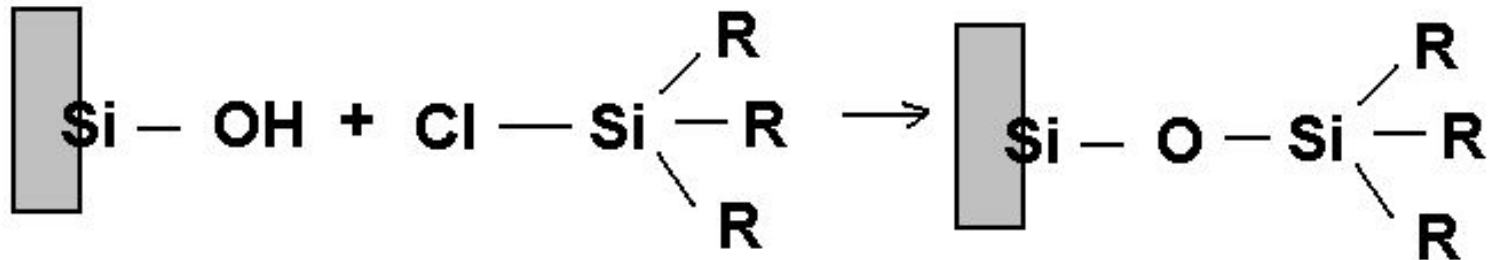


- НФ – немодифицированный силикагель
- ПФ – неполярные растворители (гексан, гептан, бензол, толуол, хлороформ...)

Обращенно – фазовый вариант ТСХ

Особенность:

сорбент неполярный, элюент полярный



- ❑ НФ – модифицированные силикагели (с привитыми алкильными группами C8, C10, C16, C18)
- ❑ ПФ – полярные растворители (вода, ацетонитрил, метанол, тетрагидрофуран)

**в основе разделения веществ в
тонкослойной хроматографии –
процессы
распределения и адсорбции**

Тонкослойная хроматография

- ❑ Подготовка пластинки, хроматографической системы, хроматографической камеры
- ❑ Нанесение проб на хроматографическую пластинку
- ❑ Хроматографический процесс
- ❑ Обнаружение (детектирование) компонентов на хроматограмме
- ❑ Идентификация компонентов на хроматограмме (при необходимости количественное определение)

Хроматографические камеры

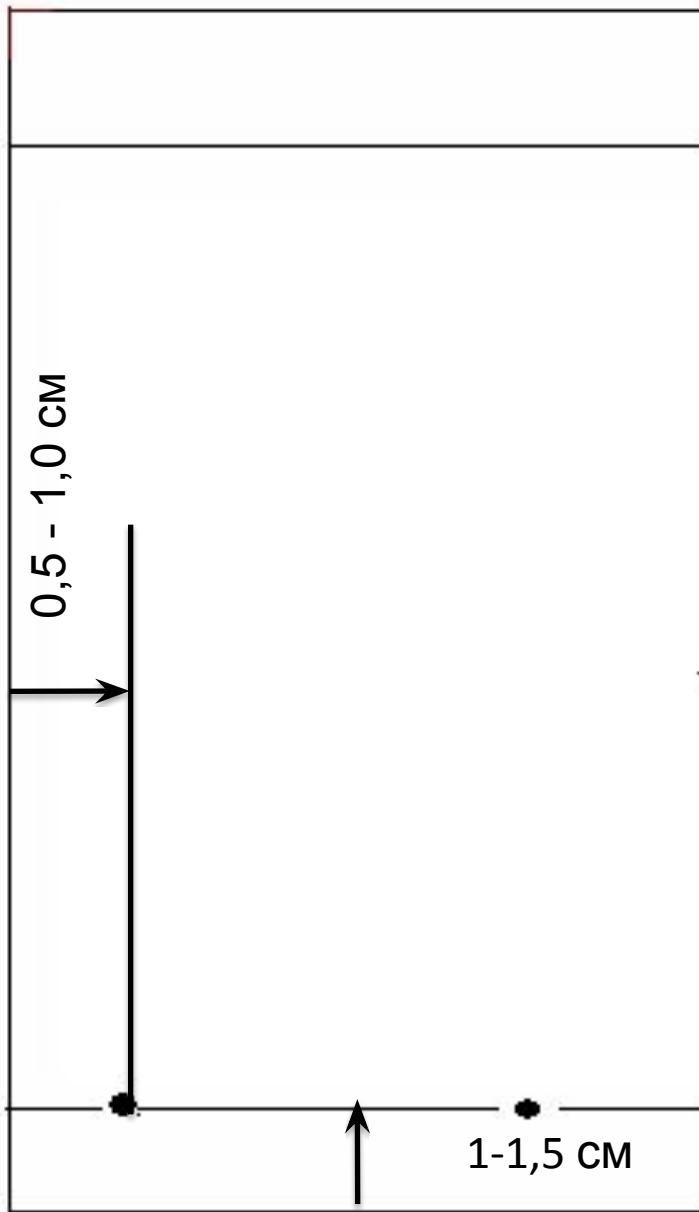


Трафарет для предварительной разметки хроматографических пластин



Нагревательное устройство УСП-1





**ЛИНИЯ
ФИНИША**

ЛИНИЯ СТАРТА

Тонкослойная хроматография

- ❑ Подготовка пластинки, хроматографической системы, хроматографической камеры
- ❑ Нанесение проб на хроматографическую пластинку
- ❑ Хроматографический процесс
- ❑ Обнаружение (детектирование) компонентов на хроматограмме
- ❑ Идентификация компонентов на хроматограмме (при необходимости количественное определение)

Нанесение пробы



Наносимый объем извлечения – 1-10 мкл

Размер наносимого пятна не более 3 мм

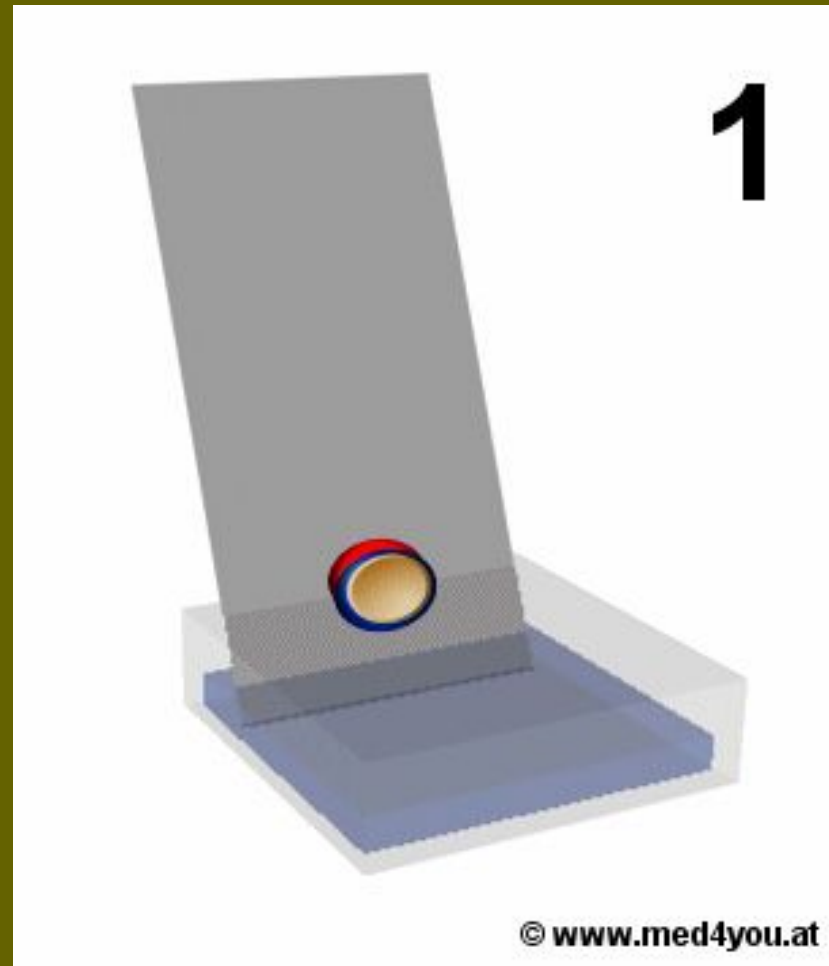
Тонкослойная хроматография

- ❑ Подготовка пластинки, хроматографической системы, хроматографической камеры
- ❑ Нанесение проб на хроматографическую пластинку
- ❑ **Хроматографический процесс**
- ❑ Обнаружение (детектирование) компонентов на хроматограмме
- ❑ Идентификация компонентов на хроматограмме (при необходимости количественное определение)

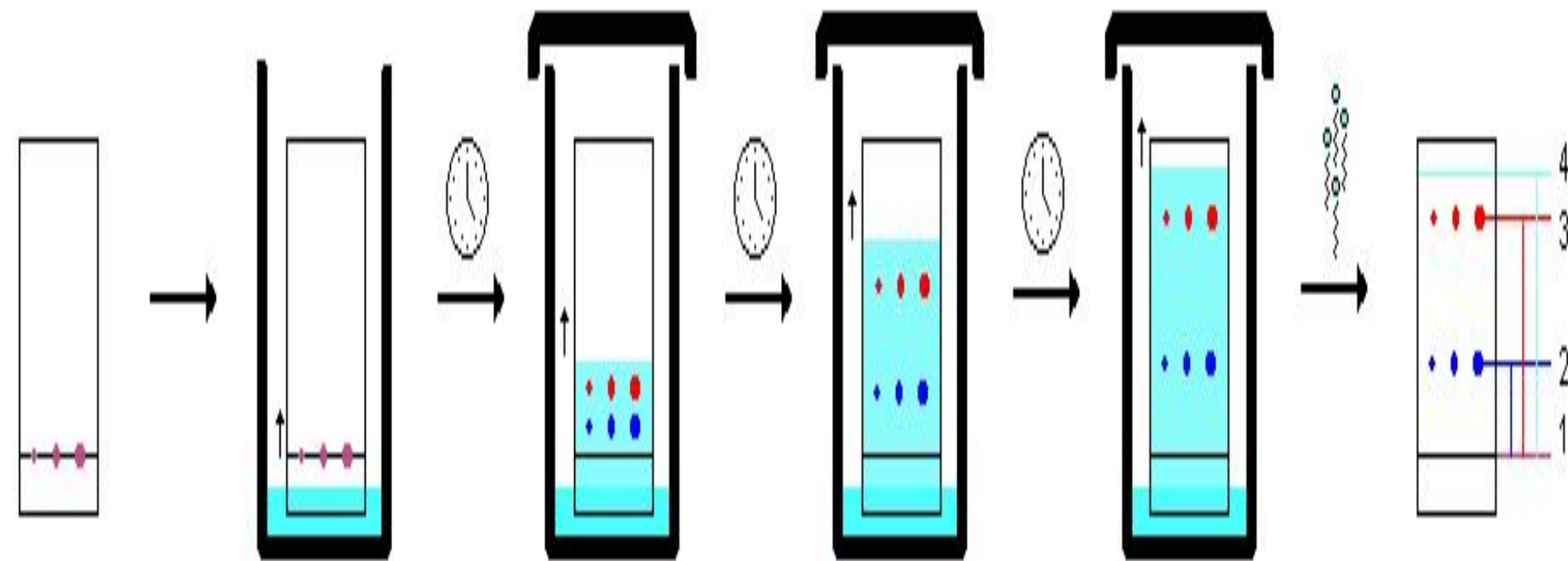
Типы ТСХ

- Восходящая
- Нисходящая
- Горизонтальная
- Радиальная

Хроматографический процесс



Восходящая ТСХ



1. линия старта
2. образец 1
3. образец 2
4. линия фронта

Тонкослойная хроматография

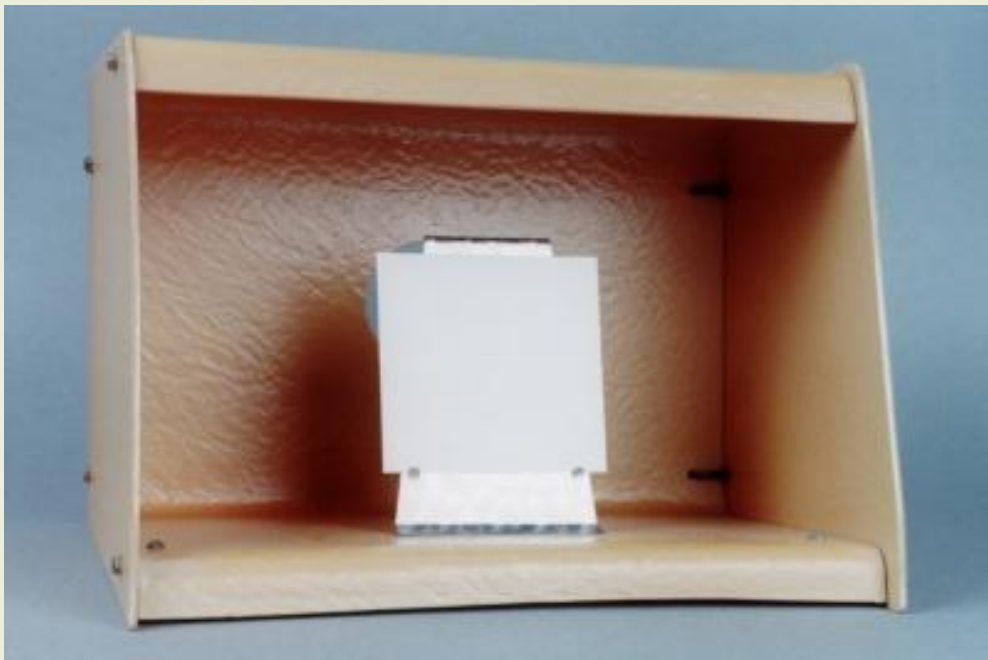
- ❑ Подготовка пластинки, хроматографической системы, хроматографической камеры
- ❑ Нанесение проб на хроматографическую пластинку
- ❑ Хроматографический процесс
- ❑ Обнаружение (детектирование) компонентов на хроматограмме
- ❑ Идентификация компонентов на хроматограмме (при необходимости количественное определение)

Детектирование компонентов на хроматограмме

- ❑ Визуально
- ❑ Облучение в УФ – свете
- ❑ С помощью хромогенных реагентов

Облучатель хроматографический УФС-254/365





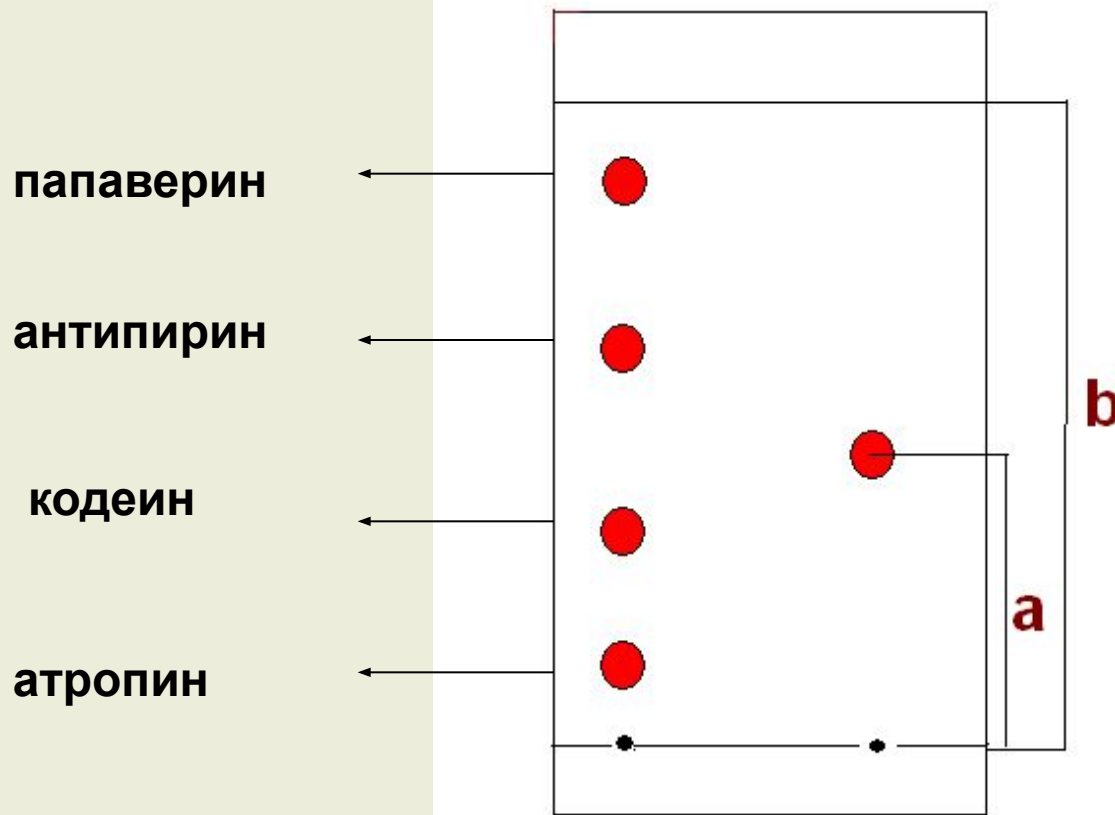
**Камера для опрыскивания
хроматографических пластин**



**Пульверизатор для
хроматографических пластин**

Тонкослойная хроматография

- ❑ Подготовка пластинки, хроматографической системы, хроматографической камеры
- ❑ Нанесение проб на хроматографическую пластинку
- ❑ Хроматографический процесс
- ❑ Обнаружение (детектирование) компонентов на хроматограмме
- ❑ Идентификация компонентов на хроматограмме (при необходимости количественное определение)



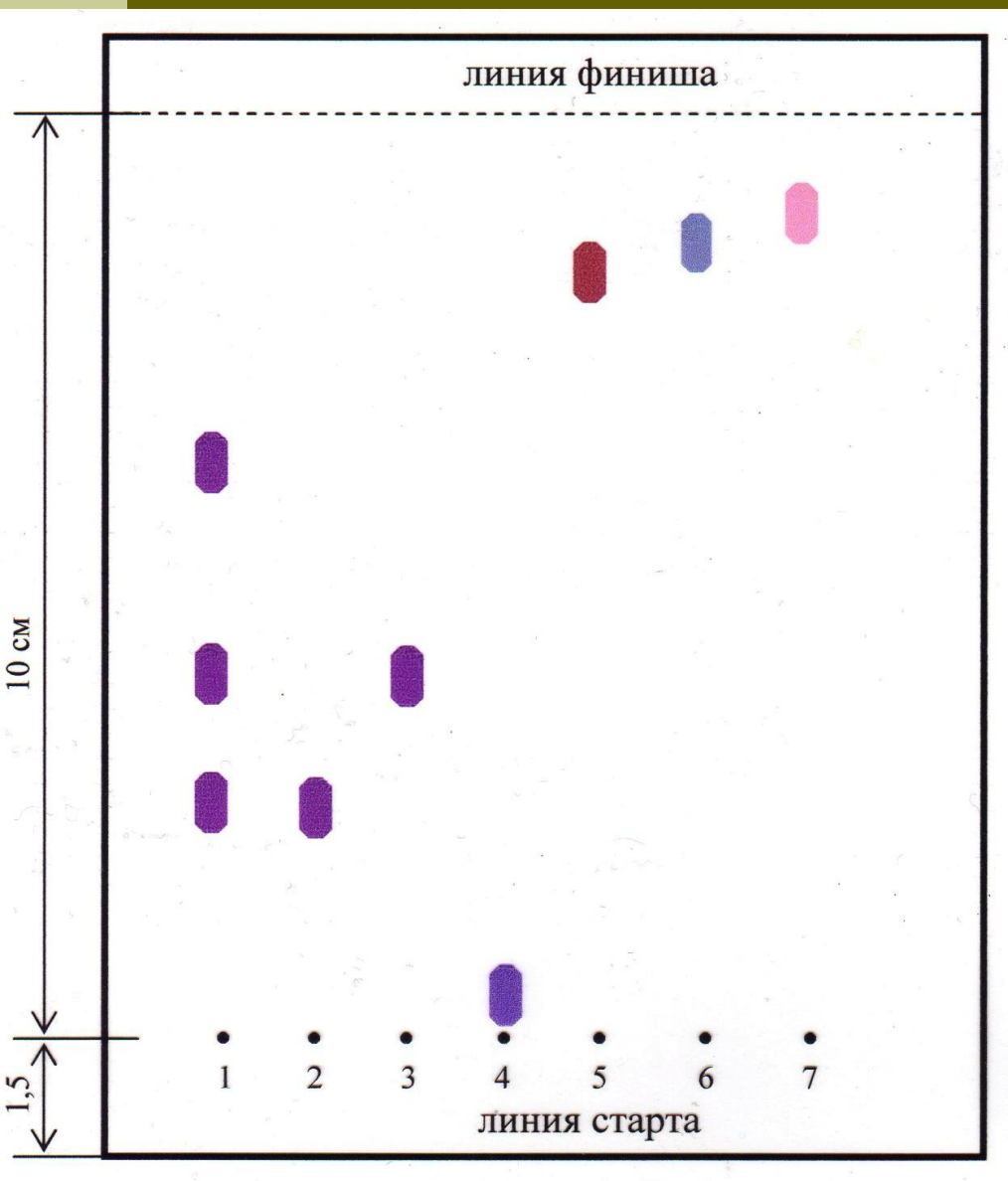
$$R_f = \frac{a}{b}$$

$$R_{st} = \frac{R_f \text{ вещества}}{R_f \text{ метчика}}$$

Факторы, влияющие на величину R_f :

техника работы, качество и толщина слоя сорбента, чистота растворителей, температура...

ТСХ веществ кислого и слабоосновного характера

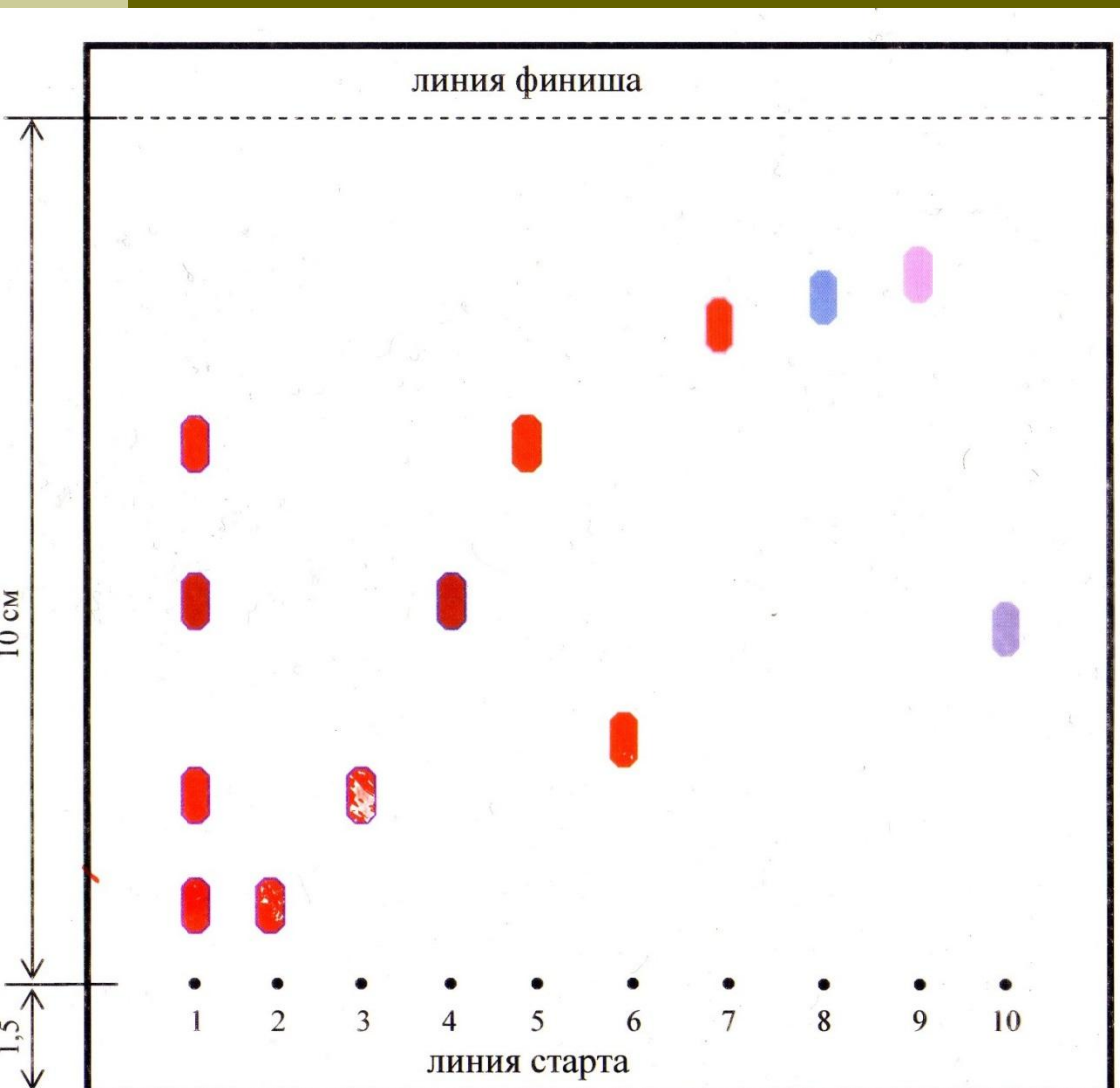


Система: хлороформ:
н-бутанол: 25 % р-р аммиака
(70: 40: 5)

Детекция: ДФК + HgSO_4 , FeCl_3
Метчик: фенобарбитал,
барбитал, барбамил

1. фенобарбитал $R_f=0,27$
2. барбитал $R_f=0,41$
3. салициловая кислота $R_f=0,08$
4. антипирин $R_f=0,82$
5. амидопирин $R_f=0,87$
6. аминазин $R_f=0,90$

ТСХ веществ основного характера



Система: диоксан:

хлороформ: ацетон: 25% р-р
аммиака (47,5: 45: 5: 2,5)

Метчик: атропин, кодеин,
антипирин, папаверин

Детекция: УФ → FeCl₃ →
р. Драгендорфа → H₂SO₄

1. Атропин Rf=0,21
2. Кодеин Rf=0,32
3. Антипирин Rf=0,48
4. Папаверин Rf=0,65
5. Хинин Rf=0,35
6. Димедрол Rf=0,82
7. Амидопирин Rf=0,86
8. Аминазин Rf=0,88
9. Кофеин Rf=0,46

Идентификация

- ❄ Сравнение значения R_f анализируемого вещества с R_f метчика
- ❄ Использование табличных значений R_f веществ, полученных в аналогичных условиях (на данном сорбенте, в данной хроматографической системе)

Способы количественного определения

- ❑ Непосредственно на хроматограмме (планиметрия, денситометрия)
- ❑ После элюирования вещества с хроматограммы подходящим физико-химическим методом

Денситометр "Sorbfil"



Методы тонкослойной хроматографии в определении подлинности и чистоты лекарственных средств

Анализ таблеток анальгина 0,5 г

- Анализ проводят по ФСП 42 – 0306 – 1435 – 01
- Серия: 1101 2014
- Аналитический паспорт: №1102 от 20.02.2014 г.

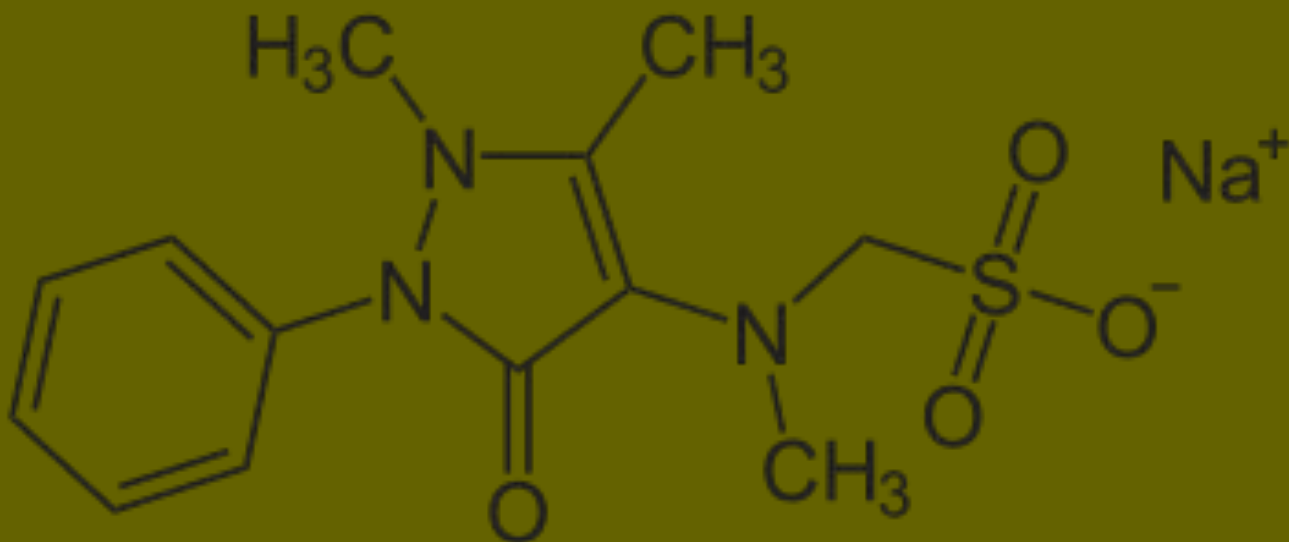
Оценить качество таблеток **анальгина 0,5 г**
по показателям:

- «Описание»
- «Посторонние примеси»

Метамизол натрия (анальгин)

Химическое название:

[(1,5-Диметил-3-оксо-2-фенил-2,3-дигидро-1H-пиразол-4-ил)(метил)амино]-метансульфонат натрия, моногидрат



1. Описание

Метод определения - визуальный

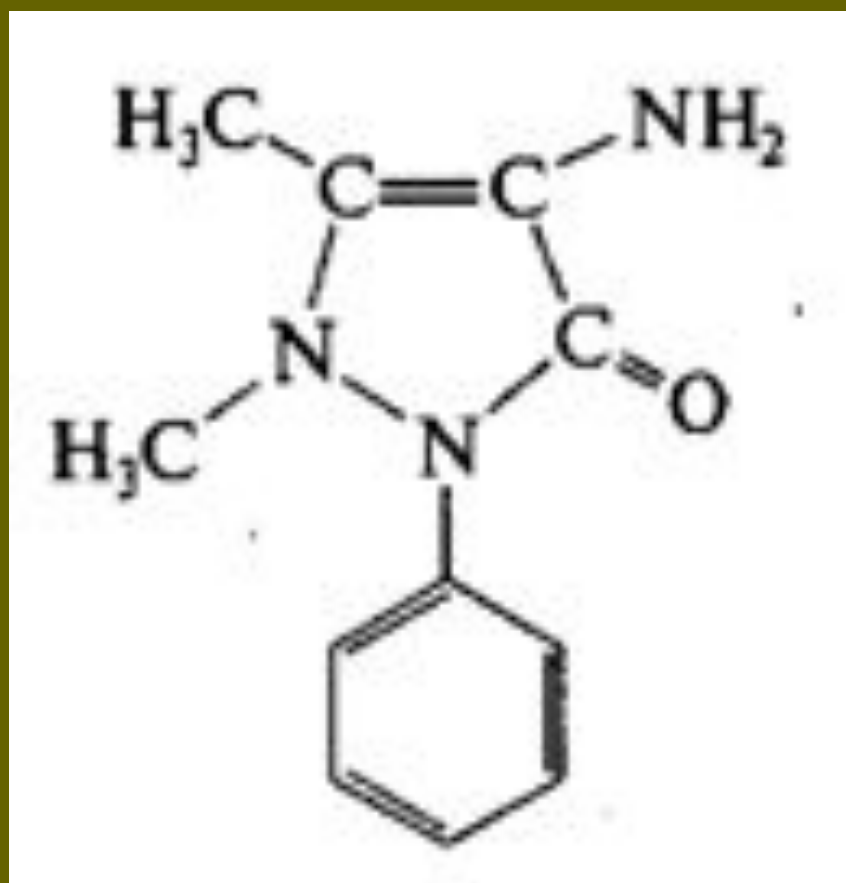
Таблетки белого цвета плоскоцилиндрической формы с фаской и риской.

Соответствует ФСП.

2. Посторонние примеси

| Показатель | Метод | Требования |
|---------------------|----------------------------------|-------------------|
| Посторонние примеси | Тонкослойная хроматография (ТСХ) | Не более 0,5 % |

Методика определения
посторонней примеси:
4-аминоантипирина



Методика:

Система растворителей:

хлороформ-спирт метиловый (9:1)

Заливается в камеру, насыщение парами -30 мин.

1,1г порошка растертых таблеток (точная навеска) помещают в колбу на 50 мл, прибавляют 25 мл хлороформа, встряхивают 5 мин., фильтруют через бумажный фильтр.

$a = 1,0995$

-
- 200 мкг – 0,005 мл полученного фильтрата наносят микрошприцом на линию старта пластинки Силуфол УФ-254
 - Рядом наносят 0,005 мл 0,02% раствора стандартного образца вещества свидетеля (4-аминоантипирин в хлороформе) - СОВС

-
- Фронт подвижной фазы – 15 см
 - После хроматографирования пластинку сушат в токе воздуха и просматривают в УФ-свете при длине волны 254 нм

Rf анальгина -

$$\frac{0,41}{15,0} = 0,03$$

(наблюдали одно четкое пятно, пятно примеси на уровне СОВС не обнаружили)

Rf 4-аминоантипирина (СОВС) –

$$\frac{4,4}{15,0} = 0,29$$

(наблюдали одно четкое пятно)

Соответствует ФСП (не более 0,5 % в препарате)

Заключение

Таблетки **анальгина по 0,5 г** соответствуют требованиям ФСП по показателям «Описание», «Подлинность», «Средняя масса таблеток», «Количественное содержание».