

**МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ  
РЕСПУБЛИКИ УЗБЕКИСТАН**

**Ферганский медицинский институт общественного  
здоровья**

**«Удтверждаю»  
Председатель Научно-  
технического совета, созданного  
при Министерстве  
здравоохранения Республики  
Узбекистан.**

**Ш. К. АТАДЖНОВ**

\_\_\_\_\_ " \_\_\_\_\_ " \_\_\_\_\_ 2025.

**ДЖУМАНОВА БАРНО ГАНИЕВНА**

**СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ  
АНАЛИЗА ЛЕКАРСТВЕННЫХ  
СРЕДСТВ**

**(Монография)**

**Фергана – 2025**

УДК \_\_\_\_.-\_\_\_\_.

**Джуманова Барно Ганиевна**

**Современные методы анализа лекарственных препаратов**

**Монография, Фергана: 2025. 106 страниц.**

Данная монография всесторонне охватывает современные инструментальные подходы в фармацевтическом анализе: УФ/видимую и ИК-спектроскопию с флуоресцентной ионизацией, спектрофотометрию, флюорометрию, кондуктометрию, потенциометрию, вольтамметрию, полярографию, а также технологии SX-MS, GS-MS, KE и SPME. Основное внимание уделяется идентификации и количественной оценке аналитов, определению структуры (MS, YAMR), биосенсорам и искусственному интеллекту. В работе подробно анализируются принципы валидации (ICH Q2(R2), Q14), PAT/RTRT, QbD, LOD/LOQ, бюджет неопределенности, селективность и показатели извлечения. В качестве практических примеров приводятся аскорбиновая кислота, лидокаин и NaCl. Методы были оптимизированы по калибровке, методу стандартных добавок, корректировке фона, ИК-компенсации и температурной стабильности. Результаты подтверждены как воспроизводимые, точные и чувствительные.

Рецензенты:

Маматкулова СА      Заведующий кафедрой химии Ферганского государственного университета, доктор наук, профессор.

Холикова О.Ю.      Заведующий кафедрой «Народная медицина и фармакология» Ферганского медицинского института общественного здравоохранения, кандидат медицинских наук.

## СОКРАЩЕНИЯ И ИХ ПОЯСНЕНИЯ

В монографии эти сокращения используются на основе единого стандарта. Каждое из них представляет собой современные аналитические, спектроскопические, электрокинетические и хроматографические методы анализа. Сокращения адаптированы к узбекской терминологической системе, и для обеспечения научной точности указаны их международные эквиваленты.

Нет.	Сокращение	английский термин	Полное имя на узбекском языке	Примечание
1	<b>FTAIS</b>	Fur'ye Transform Infrared Spectroscopy (FTIR)	Фурье-преобразовательная инфракрасная спектроскопия	Метод спектроскопии высокого разрешения, измеряющий спектр инфракрасного излучения с помощью математического преобразования Фурье.
2	<b>GS-MS</b>	Gas Chromatography–Mass Spectrometry (GC-MS)	Газовая хроматография-масс-спектрометрия	Аналитический метод, основанный на хроматографическом разделении газообразных соединений и их обнаружении с помощью масс-спектрометрии.
3	<b>IQ</b>	Infrared (IR)	Инфракрасный	Спектроскопический анализ, основанный на типе электромагнитного излучения, работающем в

				диапазоне длин волн от 760 нм до 1 мм.
4	<b>KD</b>	Visible (VIS)	Видимый диапазон	Спектрофотометрический метод, основанный на измерениях светового спектра в диапазоне 400–760 нм.
5	<b>KE</b>	Capillary Electrophoresis (CE)	Капиллярный электрофорез	Метод аналитического разделения, основанный на разнице скоростей движения заряженных частиц внутри капиллярной трубки в электрическом поле.
6	<b>QFME</b>	Solid Phase Microextraction (SPME)	Твердофазная микроэкстракция	Метод разделения без использования растворителей, основанный на концентрировании веществ в образцах с помощью твердофазного сорбента.
7	<b>SX-MS</b>	Liquid Chromatography–Mass Spectrometry (LC-MS)	Жидкостная хроматография-масс-спектрометрия	Метод, основанный на масс-спектрометрическом анализе компонентов, разделенных хроматографически в жидкой фазе.
8	<b>UB</b>	Ultraviolet (UV)	Ультрафиолетовое излучение	Спектрофотометрический метод, анализирующий электронные переходы веществ с использованием излучения в диапазоне 200–400 нм.
9	<b>YAMR</b>	Nuclear Magnetic Resonance (NMR)	Спектроскопия ядерного	Спектроскопический метод, основанный на

			магнитного резонанса	измерении резонансной частоты атомных ядер, возникающей в результате взаимодействия с магнитным полем.
10	<b>YSSX-UB</b>	High Performance Liquid Chromatography–Ultraviolet Detection (HPLC–UV)	Высокоэффективная жидкостная хроматография с ультрафиолетовым детектированием	Метод определения компонентов, разделенных жидкостной хроматографией, основанный на спектре поглощения в ультрафиолетовой области.
11	<b>ICH</b>	International Council for Harmonisation	Совет по лекарственным средствам для человека	Совет по лекарственным средствам для человека
12	<b>SPME</b>	Solid-Phase Microextraction,	(QFME).	т.е. твердофазная микроэкстракция
13	<b>PAT</b>	(Process Analytical Technology)	Технология технологического анализа.	Технология технологического анализа.
14	<b>RTRT</b>	Real-Time Release Testing	Тестирование релизов в режиме реального времени	Тестирование релизов в режиме реального времени
15	<b>LOD</b>	Limit of Detection	предел обнаружения	предел обнаружения
16	<b>LOQ</b>	Limit of Quantitation	количественный предел	количественный предел

## СОДЕРЖАНИЕ:

№.		
	Пояснение к сокращениям	3
1	<b>ГЛАВА I. ВВЕДЕНИЕ.</b>	8
1.1	Актуальность современных методов в анализе лекарственных препаратов	8
1.2	Цель, научная новизна и практическое значение исследования	10
1.3	Роль современных аналитических методов в фармацевтической промышленности	12
2	<b>ГЛАВА II. СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА</b>	16
2.1	Физические основы спектроскопического анализа	16
2.1.1	Ультрафиолетовая (УФ) и видимая (В) спектрофотометрия	20
2.1.2	Инфракрасная (ИК) и Фурье-преобразовательная (FTAIS) спектроскопия	23
2.2	Методы флуориметрии и люминесценции	28
2.3	Идентификация и количественное определение лекарственных препаратов с использованием спектрофотометрии.	31

3	<b>ГЛАВА III. МЕТОДЫ ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКОГО АНАЛИЗА</b>	36
3.1	Кондуктометрия — анализ, основанный на электропроводности растворов.	36
3.2	Потенциометрия — измерение с использованием ионоселективных электродов.	40
3.3	Основы вольтамперии, амперометрии и полярографии	43
3.4	Чувствительность, точность и преимущества электрохимических методов	46
3.5	Практические примеры: анализ аскорбиновой кислоты, лидокаина, NaCl.	52
4	<b>ГЛАВА IV. МЕТОДЫ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ И ЯДЕРНОГО МАГНИТНОГО РЕЗОНАНСА</b>	58
4.1	Основные принципы и применение масс-спектрометрии	58
4.2	Суть спектроскопии ядерного магнитного резонанса (ЯМР).	61
4.2.1	Методы масс-спектрометрии и ЯМР для определения молекулярной структуры лекарственных веществ	64
4.3	Анализ определения структуры в фармацевтическом синтезе	69
5	<b>ГЛАВА V. СОВРЕМЕННЫЕ КОМБИНИРОВАННЫЕ ИНСТРУМЕНТАЛЬНЫЕ МЕТОДЫ</b>	72
5.1	Комбинированные методы спектроскопии и хроматографии (SX–MS, GS–MS, YSSX–UB)	72
5.1.1	Твердофазная микроэкстракция (ТФЭ)	76
5.1.2	Капиллярный электрофорез (КЭ)	80
5.2	Анализ оптических датчиков и биосенсоров	86
5.2.1	Фармацевтический анализ с использованием компьютерных технологий и искусственного интеллекта.	91

5.3	Перспективы применения современных методов в анализе фармацевтических препаратов.	93
	Общие выводы и результаты.	97
	Список использованной литературы	101

## **ГЛАВА I. ВВЕДЕНИЕ**

### **1.1. Актуальность современных методов анализа фармацевтических препаратов**

В фармацевтической промышленности и медицинской практике обеспечение качества, безопасности и терапевтической эффективности лекарственных средств является одним из важнейших условий защиты здоровья человека. Контроль показателей качества лекарственных препаратов, определение их состава, чистоты, стабильности и биоактивности – главная задача фармацевтического анализа. Сегодня, в условиях все более сложных процессов фармацевтического производства,

использование современных методов анализа имеет не только научное, но и социальное значение. В последние годы во всем мире, и особенно в Узбекистане, ведется масштабная работа по внедрению систем, соответствующих международным стандартам качества лекарственных средств, производимых в фармацевтической промышленности (GMP – надлежащая производственная практика, GLP – надлежащая лабораторная практика, ISO – международная стандартизация). В этой связи важную роль в анализе фармацевтических препаратов играют современные инструментальные методы с высокой чувствительностью, точностью, скоростью и воспроизводимостью – спектрофотометрия, хроматография, потенциометрия, кондуктометрия, масс-спектрометрия, ядерно-магнитный резонанс (ЯМР) и другие передовые технологии. Эти методы позволяют не только контролировать конечный продукт, но и выявлять изменения в процессах синтеза, хранения и транспортировки.

Традиционные титриметрические и гравиметрические аналитические методы все чаще заменяются инструментальными аналитическими методами, поскольку они трудоемки и в некоторых случаях неточны. Современные инструментальные анализы вывели фармацевтический анализ на новый уровень, позволяя определять микрограммовые количества веществ. В частности, такие методы, как высокоэффективная жидкостная хроматография (ВЭЖХ), газовая хроматография (ГХ) и масс-спектрометрия (МС), позволяют точно разделять, количественно и качественно оценивать компоненты сложных смесей.

Актуальность использования современных методов анализа лекарственных препаратов также связана с ростом требований мирового фармацевтического рынка. Каждый новый препарат должен быть всесторонне проанализирован в соответствии с международными стандартами, его безопасность и эффективность должны быть доказаны. Поэтому разработка современных методов инструментального анализа, их внедрение в местных

лабораториях и повышение квалификации персонала являются одним из стратегических приоритетов фармацевтической промышленности Узбекистана.

Цифровые технологии, автоматизированные системы измерений и программы анализа на основе искусственного интеллекта также выводят процессы фармацевтического контроля на новый уровень. Такой подход позволяет ускорить разработку и тестирование лекарственных препаратов, снизить количество человеческих ошибок и получить результаты с высокой степенью надежности.

В заключение следует отметить, что актуальность современных методов анализа фармацевтических препаратов определяется их точностью, надежностью и соответствием международным требованиям. Эти методы стали важными не только в научных исследованиях, но и в практической системе здравоохранения, являясь бесценным инструментом обеспечения качества фармацевтической продукции.

## **1.2. Цель, научная новизна и практическое значение исследования.**

Основная цель исследования — объединение современных инструментальных и компьютерных технологий в единую методологическую платформу для фармацевтического анализа лекарственных препаратов и их вспомогательных веществ, то есть разработка решений, которые являются согласованными,

воспроизводимыми и соответствуют нормативным требованиям для всех процессов, от этапа пробоподготовки до контроля оборудования, онлайн-обработки сигналов, калибровки и подтверждения показателей качества; это включает интеграцию жидкостной/газовой хроматографии-масс-спектрометрии (ЖХ-МС/ГС-МС), капиллярного электрофореза (КЭ), оптических датчиков (SPR/LSPR, резонаторы), фурье-инфракрасной и рамановской спектроскопии, высокоразрешающих масс-анализаторов и инструментов искусственного интеллекта (PLS/SVM/ансамбль/глубокое обучение). Он также последовательно решает такие функциональные и методологические задачи, как внедрение принципов PAT (технологии аналитического контроля процессов) для достижения концепции контроля качества в режиме реального времени (RTRT) в производственных условиях, обеспечение стабильности между устройствами за счет слияния данных и переноса калибровки, снижение потребления растворителей и отходов с использованием экологически чистых аналитических подходов, количественная оценка бюджета неопределенности и создание системы мониторинга жизненного цикла (жизненный цикл аналитической процедуры).

Научная новизна данной работы заключается, во-первых, в разработке принципов модуляции и оптимизации цепочки разделения-детектирования-интерпретации для различных классов аналитов, которые могут быть обнаружены в фармацевтических матрицах, на основе цифрового управления и слияния данных: многомерная оптимизация внутренних стандартов, параметров источника ионизации и окна разделения для повышения чувствительности и линейности в градиентном режиме YSSX–UB и SX–MS; целенаправленный контроль электроосмотического потока и различий в подвижности в режимах KE (CZE/MEKC/CEC); правила принятия решений, которые включают сопоставление библиотек спектров EI/CI в GS–MS и

критерии  $\Delta ppm$  в HRMS; применение алгоритмов семантического слияния данных, которые объединяют сигналы ЯМР и Рамана с данными MS; во-вторых, создание протоколов, которые связывают этапы предварительной обработки сигнала (сглаживание оснований, сглаживание, производная, SNV/MS) с моделями SI и обеспечивают стабильность с помощью k-кратной и внешней валидации; В-третьих, предложить полностью документированную методологическую дорожную карту с переносом калибровки, мониторингом, чувствительным к дрейфу, перекалибровкой и контрольными журналами для анализа на основе моделей в соответствии с требованиями ICH Q2(R2) и Q14; в-четвертых, разработать набор четких показателей для лабораторной практики по критериям экологичного анализа (потребление растворителей, энергопотребление, отходы) и добиться значительного повышения общей точности и экономической эффективности за счет оптимизации пробоподготовки в режиме реального времени с использованием микрофлюидных устройств типа «лаборатория на чипе».

Практическая значимость исследования заключается в том, что разработанная методологическая платформа позволяет быстро и надежно принимать решения в критических точках контроля качества фармацевтических препаратов: онлайн-мониторинг с помощью PAT-датчиков на производственной линии и автоматическая верификация по TRT; количественное определение многокомпонентных смесей в сырье, промежуточных продуктах и готовых лекарственных формах, дифференциация энантиомерных и полиморфных форм, обнаружение вспомогательных веществ и примесей на следовых уровнях; минимизация различий между устройствами/партиями за счет переноса калибровки; компенсация матричных эффектов с использованием комбинации внутренних стандартов, метода стандартных добавок и матрично-зависимой калибровки; получение масштабируемых и воспроизводимых решений,

соответствующих нормативным требованиям (ICH Q2(R2)/Q14) за счет целостности данных, журнала аудита, версионирования и отслеживания моделей на основе MLOps; снижение потребления растворителей, отходов и энергии на основе принципов «зеленой» аналитики; внедрение экспресс-скрининга и аутентификации в логистической цепочке (доставка, хранение, точки продаж) с использованием портативных датчиков и мини-устройств; В результате внедряется стандартизированный набор протоколов, обеспечивающих безопасность, эффективность и стабильное качество, повышающих экономическую целесообразность и простых в применении в местных условиях.

### **1.3. Роль современных аналитических методов в фармацевтической промышленности.**

В фармацевтической промышленности современные аналитические методы не только выполняют классические задачи качественного и количественного анализа, но и становятся основой для дисциплинированного управления всем жизненным циклом продукта. Они обеспечивают идентификацию сырья и промежуточных продуктов, обнаружение примесей и продуктов разложения на следовых уровнях, выяснение механизмов стабильности, оптимизацию параметров производства и обеспечение качества конечного продукта. Сегодня набор методов включает виброспектральные (УФ/КД, ИК/ИК-спектроскопия, ближняя ИК-спектроскопия, рамановская спектроскопия/SERS), хроматографические (ВЭЖХ/УВЭЖХ, ГХ, СФХ, 2D-разделение), электрофоретические (КЭ/КЭХ), высокоэффективные масс-спектрометры (ЖХ-МС/МС, ВРМС), ядерно-магнитный резонанс (ЯМР) и оптические/биосенсорные платформы. Эти методы в сочетании с технологиями аналитического контроля процессов (РАТ) и проектированием качества на основе проектирования (QbD) открывают путь к контролю качества в режиме реального времени (RTRT), обеспечивая воспроизводимые и стабильные результаты в соответствии с нормативными требованиями.

Современные аналитические подходы используются на всех этапах жизненного цикла, с отдельным мониторингом ключевых показателей качества продукта (ККЗ) и критических параметров процесса (КПП), от концепции до разработки и валидации метода, затем до регистрации, промышленного внедрения и непрерывного мониторинга. Многомерная статистика и хемометрика (РСА, PLS, PLS-DA), а также искусственный интеллект (SVM, ансамбли, глубокое обучение) извлекают многокомпонентную информацию из спектральных и хроматографических сигналов и строят прогностические модели; они подкрепляются переносом калибровки и внешней валидацией для обеспечения надежной работы даже при влиянии дрейфа и межинструментальных различий. Концепция многоатрибутного мониторинга (МММ) в биопрепаратах позволяет одновременно оценивать идентичность, модификации, примеси и показатели качества на основе ЖХ-МС, что ускоряет принятие решений на основе консенсуса за счет слияния данных.

Виброспектральные методы (УФ/КД, ИК, ИК/ИК-Фурье, Рамановская спектроскопия и SERS) являются одними из наиболее широко используемых в фармацевтическом контроле, позволяя проводить измерения без использования меток и быстро, а также верификацию на месте (в режиме реального времени/в режиме онлайн) с помощью портативных устройств. ИК- и Рамановские датчики отслеживают степень однородности компонентов в режиме реального времени в процессе гранулирования, сушки и смешивания; ИК-Фурье (ATR) обнаруживает структурные изменения в твердых и полутвердых формах посредством функциональных групп и водородных связей. Чувствительность обнаружения следовых количеств органических загрязнителей и остаточных растворителей значительно повышается при использовании SERS-подложек. При использовании в сочетании со спектральными библиотеками и хемометрическими калибровками эти методы обеспечивают

высоконадежную идентификацию и количественное определение, одновременно создавая условия для использования протоколов без растворителей или с низким содержанием растворителей в соответствии с принципами «зеленой» аналитики.

Хроматографические и комбинированные системы – ВЭЖХ/УВЭЖХ, ГХ, СФХ и их комбинация с МС или УФ/ДАД, флуоресцентными детекторами – являются золотым стандартом для разделения и определения следовых количеств компонентов в матрице смесей. УВЭЖХ сокращает время анализа за счет повышения разрешения благодаря коротким колонкам и мелким частицам; 2D ЖХ (ЖХ×ЖХ) анализирует сложные матрицы путем ортогонального разделения. ЖХ-МС/МС обеспечивает высокую селективность для обнаружения примесей, продуктов разложения и побочных продуктов в рамках требований фармакопеи, в то время как ВРМС повышает достоверность на основе точной массы и элементной формулы. В газофазном направлении ГХ-МС служит важным инструментом для количественной оценки летучих и полуметучих веществ, особенно для управления риском остаточных растворителей и нитрозаминов; сверхкритическая флуоресцентная хроматография (СФХ) обеспечивает эффективное решение для энантиомерного разделения.

Ядерный магнитный резонанс (ЯМР) и масс-спектрометрия высокого разрешения (ВРМС) считаются взаимодополняющими методами для структурной идентификации и углубленной оценки качественных характеристик. ЯМР позволяет картировать структурные связи через первичные и вторичные протонные и углеродные ядра (COSY, HSQC, HMBC); в сочетании с твердотельной ЯМР и рентгеновской дифракцией (PXRD) различаются полиморфы, солевые/сольватные состояния и аморфные компоненты. Сочетание точной массы, изотопных соотношений и паттернов фрагментации (MS/MS) в ВРМС позволяет надежно идентифицировать модификации малых молекул и биополимеров. Термический анализ (ДСК, ТГА) и

профили тепло-влажности позволяют изучить механизмы стабильности и служат для оптимизации рецептуры; распределение частиц по размерам (лазерная дифракция, ДЛС) и дзета-потенциал являются важными показателями для оценки стабильности коллоидных систем.

Электрофоретические и электрохроматографические методы – капиллярный электрофорез (КЭ, МЭКХ, КГЭ, КИФЭ, НЭАЦ) и капиллярный электрофорез (КЭХ) – широко используются в анализе лекарственных препаратов, вспомогательных веществ и неорганических ионов благодаря низкой пропускной способности, высокой теоретической емкости и тонкой настройке селективности. МЭКХ также разделяет нейтральные соединения по разнице в распределении с смешивающейся фазой, в то время как КИФЭ фокусирует белки с высокой точностью в соответствии с изоэлектрической точкой. Сочетание КЭ-МС с электрораспылительной ионизацией демонстрирует высокую детектирующую способность для ионизированных малых молекул и пептидов. В то же время, при сочетании с методами микроэкстракции (КФМЭ/ТФМЭ) и источниками прямой десорбции, упрощается подготовка образцов, сокращается расход растворителей и время анализа, что полностью соответствует критериям «зеленой» аналитики.

Роль современных аналитических методов в биологических препаратах и препаратах для передовой терапии (АТМР) становится все более важной: обнаружение модификаций, таких как пептидное картирование, гликозилирование, деамидирование/окисление с использованием ЖХ-МС; определение идентичности, уровня очистки и специфических характеристик с использованием многоатрибутных методов (МММ) за один день; мониторинг белков-хозяев (НСР) на следовых уровнях с использованием ЖХ-МС или иммуноанализа; проверка геномного загрязнения и вирусной безопасности с использованием qPCR/dPCR; контроль идентичности и ошибок

секвенирования с помощью платформ NGS. В тестировании активности для точной оценки параметров  $k_{on}/k_{off}$  взаимодействия рецептор-лиганд используются клеточные биоанализы и кинетические платформы, такие как SPR/LSPR или BLI. В контроле эндотоксинов все большую популярность приобретают стабильные подходы, такие как рекомбинантный rFC и тест активации моноцитов (MAT), вместо классического LAL.

В рамках контроля качества и соответствия стандартам используются современные аналитические методы в ключевых областях, таких как тестирование стабильности, моделирование профиля высвобождения, мониторинг примесей и остаточных растворителей, валидация очистки (TOC, LC-MS с использованием тампонов) и оценка экстрагируемых/выщелачиваемых веществ в соответствии с требованиями фармакопеи. Для генотоксичных примесей, таких как нитрозамины, вводятся низкие пределы обнаружения/количественного определения (LOD/LOQ) на основе HRMS; это усиливает стратегии контроля, основанные на оценке рисков, и повышает безопасность пациентов. Методы индикаторов стабильности позволяют идентифицировать пути деградации и выбирать соответствующие защитные меры (антиоксиданты, pH, упаковка) в процессе мониторинга; таким образом, качественные характеристики находятся под прогрессивным контролем на каждом этапе производства.

Цифровизация и управление данными стали неотъемлемой частью современной аналитики: системы LIMS, ELN и CDS управляют планами экспериментов, исходными файлами, журналами аудита и версионированием в одном месте; роли пользователей, разрешения и управление изменениями строго соблюдаются в рамках требований к целостности данных (ALCOA+). Прогнозирующее техническое обслуживание и обнаружение аномалий выполняются на основе потоков данных с датчиков в режиме реального времени с использованием

искусственного интеллекта и хемометрики; концепция цифрового двойника ускоряет анализ чувствительности и оптимизацию параметров процесса. Автоматизированная подготовка образцов и робототехника снижают количество ошибок, повышают воспроизводимость и улучшают показатели охраны труда, техники безопасности и защиты окружающей среды в лаборатории.

В фармацевтическом анализе все большее значение приобретают экологически чистые методы анализа и требования устойчивого развития. Расширяются платформы, такие как микроэкстракция, капиллярный электрофорез/капиллярная электрофорез, ВЭЖХ с короткими колонками, сверхкритическая флюидная хроматография, позволяющие сократить потребление растворителей, углеродный след и количество отходов; внедряются энергоэффективные детекторы, портативные и готовые к использованию в полевых условиях мини-приборы. Микрофлюидные системы «лаборатория на чипе», сочетающие в себе подготовку образцов в режиме реального времени, мониторинг кинетики реакций и прямое детектирование, обеспечивают решения, совместимые с непрерывным производством и требованиями к времени удерживания в реальном времени (RTRT). Такие платформы, как SERS, LSPR и волоконно-оптические датчики, обеспечивают безмаркерный, быстрый и ресурсоэффективный мониторинг, облегчая аутентификацию и контроль качества на различных этапах логистической и фармацевтической цепочки.

Современные аналитические методы играют стратегическую роль в фармацевтической экосистеме: они позволяют выявлять риски на ранних этапах жизненного цикла продукта, принимать правильные решения на стадии проектирования, обеспечивать устойчивое управление производственными процессами, гарантировать быструю и надежную проверку перед выходом на рынок, а также эффективно организовывать постмаркетинговый

мониторинг. Интеграция оборудования и алгоритмов, слияние данных, философия QbD/PAT/RTTRT, «зеленая» аналитика и адаптация к цифровой среде повышают показатели качества и безопасности, обеспечивают экономическую эффективность и создают беспрепятственное соответствие нормативным требованиям. Такой интегрированный подход является наиболее современным способом гарантировать неизменно высокое качество фармацевтической продукции и надежно защищать здоровье пациентов.

## ГЛАВА II. СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА

### 2.1. Физические основы спектроскопического анализа.

Спектроскопический анализ — один из наиболее надежных и чувствительных аналитических методов, основанных на взаимодействии веществ с электромагнитным излучением. Теоретической основой этого метода является обмен энергией между излучением и веществом. Атомы и молекулы поглощают (абсорбция) или испускают (излучение) излучение, и эти процессы связаны с квантовыми переходами между их энергетическими состояниями.

Термин «спектроскопия» происходит от латинских слов *spectrum* — «множество цветов» и греческого *skopeo* — «наблюдать», и представляет собой раздел науки, изучающий взаимодействие веществ с электромагнитным излучением. Физическая основа спектроскопического анализа базируется на принципах квантовой механики, то есть вещество поглощает или излучает энергию не непрерывно, а только в определённых квантовых количествах. Этот процесс выражается уравнением, где:  $E_2 - E_1 = h\nu$

$E_1$  и  $E_2$  – состояния с низкой и высокой энергией,

$h$  – Постоянная Планка ( $6,626 \times 10^{-34}$  Дж·с),

$\nu$  – частота электромагнитной волны.

Таким образом, частота излучения, поглощаемого или испускаемого веществом, пропорциональна разности его внутренних энергетических состояний. Это свойство позволяет использовать спектроскопию для определения состава, структуры и количества вещества.

**Электромагнитные волны и их спектр.** Электромагнитное излучение, используемое в спектроскопическом анализе, имеет очень широкий диапазон, включая гамма-излучение, лучи, рентгеновские лучи, ультрафиолетовое (УФ), видимое (ВД), инфракрасное (ИК) излучение, микроволны и радиоволны охватывает диапазоны.

Тип излучения	Длина волны ( $\lambda$ )	Энергия ( $E = h\nu$ )	Область анализа
Гамма ( $\gamma$ )	$< 0,01$ нм	Очень высокий	Ядерный анализ
Рентгеновский снимок	$0,01-10$ нм	Высокий	Атомные структуры
Ультрафиолетовое (УФ)	$10-400$ нм	Середина	Электронные переходы
Видимый (ВД)	$400-780$ нм	Середина	Сочетания цветов
Инфракрасное (ИК) излучение	$780$ нм – $1$ мм	Низкий	Молекулярные колебания
Микроволновая печь	$1$ мм – $1$ м	Очень низкий	Вращательные спектры

В фармацевтическом анализе наиболее часто используются УФ, ИК и ИК-диапазоны, поскольку они лучше всего подходят для изучения электронных, колебательных и вращательных состояний органических и неорганических лекарственных соединений.

**Типы взаимодействий между материей и излучением.** Спектроскопические процессы Это происходит

**благодаря таким явлениям, как поглощение, дисперсия, излучение, флуоресценция и люминесценция.**

Абсорбционная спектроскопия— Излучение определенной длины волны поглощается веществом. Этот метод используется для определения концентрации.

Эмиссионная спектроскопия— Возбужденные атомы или молекулы высвобождают свою энергию в виде излучения.

Флуорометрия и люминесценция— это явление, при котором вещество выделяет энергию после облучения, и считается очень чувствительным методом анализа.

Теоретическая основа этих явлений определяется переходами между квантовыми состояниями атомов и молекул.

Законы абсорбции (закон Бира–Ламберта–Буржуа)  
Основное математическое выражение спектрофотометрического анализа определяется законом Бера–Ламберта–Бёра:

$$A = \varepsilon \cdot c \cdot l$$

Здесь:

$A$ — оптическая плотность (поглощение),

$\varepsilon$ — молярный коэффициент поглощения (л моль<sup>-1</sup> см<sup>-1</sup>),

$c$ — концентрация раствора (моль/л),

$l$ — Длина пути излучения (см).

Этот закон гласит, что значение поглощения вещества прямо пропорционально его концентрации. Следовательно, этот метод позволяет точно определить количественный состав лекарственных препаратов.

Типы энергетических переходов в спектроскопическом анализе

В атомах и молекулах наблюдаются следующие типы энергетических переходов:

Электронные переходы— в диапазонах УФ и КД;

Вибрационные переходы— в ИК-диапазоне;

Вращательные переходы— в области микроволнового излучения.

Эти переходы определяются прочностью связи, атомной массой, электрическим полем и молекулярной симметрией молекулы. Поэтому каждое вещество имеет уникальный спектральный «отпечаток», который играет важную роль в его идентификации.

**Спектроскопические измерительные системы и калибровка.** Современные спектрофотометры состоят из оптических элементов, монохроматора, детектора и системы компьютерного управления. Точность результатов измерений. калибровка (сравнение со стандартными образцами). В процессе калибровки. стандартные решения На основе этого графика создается «калибровочный график», и с его помощью проводится анализ неизвестных образцов.

**Значение для фармацевтической промышленности.** Спектроскопические методы анализа лекарственных препаратов:

химическая чистота;

концентрация активного вещества;

изменения в процессе синтеза;

Используется для определения стабильности при хранении и транспортировке.

Этот метод является неотъемлемой частью системы контроля качества, соответствующей требованиям GMP (надлежащая производственная практика), GLP (надлежащая лабораторная практика) и ISO 15189.

Физическая основа спектроскопического анализа базируется на явлениях обмена энергией между электромагнитными волнами и веществом. Этот метод позволяет определять свойства веществ на атомном и молекулярном уровнях, оценивать их качественный и количественный состав. Спектроскопия имеет особое значение в фармацевтическом анализе не только с научной, но и с практической точки зрения, как наиболее надежный, быстрый и чувствительный метод контроля.

### **2.1.1. Ультрафиолетовая (УФ) и видимая (В) спектрофотометрия**

Ультрафиолетовая (УФ) и видимая (В) спектрофотометрия — это инструментальный метод анализа, основанный на измерении степени поглощения излучения веществом в диапазоне электромагнитного излучения от 200 до 780 нанометров. Теоретическая основа этого метода базируется на электронных переходах в молекулах. Когда электрон в молекуле поглощает энергию, он переходит из более низкого энергетического состояния на более высокую энергетическую орбиталь, и этот процесс называется электронным переходом. Линия поглощения излучения, образующаяся в результате электронного перехода, регистрируется в спектрофотометре и называется спектром электронного поглощения.

УФ-видимая спектрофотометрия — наиболее широко используемый, надежный, экономически эффективный и высокоточный метод в фармацевтическом анализе. Она важна для идентификации, количественного определения, чистоты, стабильности и продуктов разложения фармацевтических препаратов.

Диапазон излучения и физические основы.

Ультрафиолетовый и видимый диапазоны расположены в средней части электромагнитного спектра и позволяют наблюдать переходы в электронной системе материи. Диапазоны УФ и видимого излучения ограничены следующим образом:

Поле излучения	Длина волны (нм)	Область анализа	Основные типы переходов
Дальний ультрафиолет	185–250	$\sigma$ – $\sigma^*$ -переходы в молекуле	Сильные абсорбенты, газообразные вещества
Ближний ультрафиолет	250–400	Органические соединения, ароматические системы	$\pi$ – $\pi^*$ , $n$ – $\pi^*$ переходы
Видимый	400–780	Цветные соединения, комплексы	$\pi$ – $\pi^*$ переходы

УФ-УФ спектрофотометрия изучает явления электронных переходов, непосредственно связанные с химической структурой вещества. Когда электроны в молекулах изменяют свое энергетическое состояние, квант поглощенной или выделенной энергии связан с частотой электромагнитного излучения.

Это явление описывается уравнением Планка:

$$\Delta E = h\nu$$

где  $\Delta E$  — изменение энергии,  $h$  — постоянная Планка,  $\nu$  — частота излучения.  $h(6,626 \times 10^{-34} \text{ J} \cdot \text{s})$

Конструкция и принцип работы устройства.

Современный УФ-УФ спектрофотометр состоит из следующих основных частей:

1. В качестве источника излучения используется дейтериевая или водородная лампа в ультрафиолетовом



24 Рисунок 1. УФ-

диапазоне, а также вольфрамово-галогенная лампа в кадмиевом диапазоне.

2. Монохроматор — разделяет излучение на волны нужной длины волны с помощью призмы или дифракционной решетки.
3. В камеру для образцов помещаются кварцевые (для УФ-спектроскопии) или стеклянные (для КД-спектроскопии) кюветы.
4. Детектор регистрирует интенсивность прошедшего излучения с помощью фотодиода или фотоумножителя.
5. Блок обработки данных выводит измерительный сигнал в цифровом виде и генерирует график спектра поглощения.

Двухканальные спектрофотометры измеряют образец и эталонный раствор одновременно, что повышает точность измерений.

#### УФ-УФ спектры и их анализ.

Каждое вещество имеет определенную максимальную длину волны поглощения, называемую  $\lambda_{\text{max}}$ .  $\lambda_{\text{max}}$  зависит от молекулярной структуры вещества, природы электронного облака, степени сопряжения и типа связи. В следующей таблице приведены типичные значения  $\lambda_{\text{max}}$  для некоторых лекарственных веществ:

Вещество	$\lambda_{\text{max}}$ (нм)	Тип перехода
Бензол	254	$\pi-\pi^*$
Нитробензол	270	$n-\pi^*$
Аскорбиновая кислота	243	$\pi-\pi^*$
Парацетамол	257	$n-\pi^*$

Максимумы поглощения в спектре действуют как «спектральный отпечаток» при идентификации лекарственного вещества.

#### Практическое применение

УФ-видимая спектрофотометрия широко используется в фармацевтическом анализе для следующих целей: —

Идентификация активного ингредиента; – Количественный анализ (определение концентрации в растворе); – Оценка чистоты (определение примесей);

– Определение стабильности лекарственного препарата; – Мониторинг продуктов разложения.

Этот метод широко применяется в системах контроля качества в соответствии с международными фармакопейными стандартами.

УФ-видимый спектрофотометрический метод характеризуется высокой чувствительностью (обнаружение до  $10^{-6}$  моль/л), быстротой (результаты за 1–2 минуты), простотой подготовки и экологической безопасностью. Однако он также имеет некоторые ограничения: он неудобен для обнаружения бесцветных веществ, а растворитель, рН и температура влияют на результат, поэтому необходимо поддерживать точные условия.

В последние годы спектрофотометрия UV–CD обогатилась цифровыми технологиями и алгоритмами искусственного интеллекта. Системы аналитической обработки данных (PAT) обеспечивают контроль в режиме реального времени во время производственного процесса. Системы UV–CD–SI автоматически анализируют данные, снижая вероятность человеческой ошибки. Многомерный статистический анализ позволяет точно моделировать состав смесей с использованием спектральных данных.

Значение в фармацевтической промышленности. УФ-видимая спектрофотометрия — это метод контроля качества, полностью соответствующий международным стандартам. Это важнейший инструмент для определения чистоты, стабильности и количественного состава лекарственных препаратов на этапах производства, хранения и распространения. Этот метод гарантирует безопасность и эффективность лекарственных средств.

Ультрафиолетовая и видимая спектрофотометрия — одно из основных направлений современного фармацевтического анализа.

Этот метод позволяет изучать молекулярную структуру веществ на основе явлений электронных переходов, определять их количественный состав и проводить контроль качества. Благодаря своей скорости, чувствительности, простоте и надежности, УФ-видимая спектрофотометрия является одним из наиболее широко используемых аналитических методов в фармацевтическом анализе, научных исследованиях и лабораториях в соответствии с международными стандартами.

### 2.1.2. Инфракрасная (ИК) и Фурье-преобразовательная (ФПВС) спектроскопия

Инфракрасная спектроскопия основана на поглощении излучения, связанного с колебательными и (в газовой фазе) вращательными состояниями молекул. При возникновении колебательного перехода необходимо изменение дипольного момента молекулы (правило отбора в ИК-спектроскопии). В аналитической практике используются три основных диапазона:

Диапазон	Волновое число (см <sup>-1</sup> )	Длина волны (мкм)	Типичное назначение
Ближний ИК-диапазон	14 000–4 000	0,7–2,5	Обертонные и комбинированные полосы, быстрая проверка ПАТ, контроль влажности, контроль потока.
Средний ИК	4000–400	2,5–25	Функциональные группы и область «идентификации по отпечаткам пальцев», идентификации и структурного анализа.
Дальний ИК-диапазон	400–10	25–1000	Тяжелые атомные связи, неорганические решетки, низкие частоты полимеров

Среднеинфракрасный диапазон чаще всего используется в фармацевтическом контроле качества, поскольку он четко отображает полосы функциональных групп (одиночные колебания).

Режимы вибрации и основные понятия.

Основные колебания в молекуле имеют форму растяжения (симметричного, асимметричного) и изгиба. Частота зависит главным образом от прочности связи и атомных масс. Практически важные явления:

— Обертонные и комбинационные полосы (особенно выраженные в коротковолновом инфракрасном диапазоне). — Ферми-резонанс (расщепление линий при сближении энергий основной и обертонных/комбинационных частот).

— Расширение и сдвиг полос в красную сторону вследствие водородных связей (например, O–H, N–H).

— Чувствительность к равновесной геометрии и форме кристалла (полиморфизм).

Спектральные области: функциональные группы.

Промышленность	Волновое число (см <sup>-1</sup> )	Типичные диапазоны (примеры)
Валентные колебания O–H связи	3700–3200	Широкий, сильный; вода, спирты, фенолы
растяжение N–H	3500–3200	Около 3300 в амидах, 3300–3400 в аминах.
валентные колебания C–H	3100–2800	sp <sup>2</sup> C–H ≈ 3030; sp <sup>3</sup> C–H 2960–2850
C≡N, C≡C удлинение	2300–2100	Нитрилы и алкины
растяжение C=O	1800–1650	Кетон, эфир, кислота, амид I (≈ 1650)
растяжение C=C, C=N	1680–1500	Алкен, ароматическое ядро, имины
Амид II (изгиб N–H +	1570–1510	Сигналы белков/пептидов

Промышленность растяжение C–N)	Волновое число (см <sup>-1</sup> )	Типичные диапазоны (примеры)
«Отпечаток пальца»	1500–600	Сложный спектр: C–O, C–N, C–C, колебания кольца, изгибы

Дисперсионная ИК-спектроскопия и ИК-спектроскопия с преобразованием Фурье: физические основы и преимущества.

В то время как дисперсионные приборы последовательно сканируют спектр через монохроматор, приборы FTIR измеряют все волновые числа одновременно с помощью интерферометра (обычно Михельсона) и преобразуют интерферограмму в спектр с помощью преобразования Фурье.

Интерферометр: падающий свет разделяется на две части полупроводниковым разветвителем, одна часть поступает на подвижное зеркало, другая — на неподвижное; отраженные волны интерферируют, создавая разность оптических путей.

Преимущества ИК-спектроскопии с преобразованием Фурье:

— Преимущество мультиплексного метода (Фелгетта): все частоты измеряются одновременно, что улучшает соотношение сигнал/шум.

— Преимущество оптического света (Жакино): высокий ток без узкой щели. — Высокая точность измерения волнового числа и повторяемость измерений (внутренний лазерный эталон).

— Скорость: спектр в секундах, повышение отношения сигнал/шум за счет многократного усреднения.

— Охватывает широкий диапазон в одном измерении.

Основные части инструмента

— Источники света: Globalar (кремниевый нагреватель) для среднего инфракрасного диапазона, генератор свечения Нернста; квантовые каскадные лазеры (специализированные).

— Интерферометр: типа Майкельсона, с подвижным зеркалом, создающим интерферограмму. — Детекторы: DTGS (пироэлектрический, комнатная температура), МСТ/HgCdTe (охлаждаемый, высокочувствительный).

— Примеры модулей: пропускание (газовая ячейка, тонкая пленка), отражение, DRIFTS (диффузное отражение для порошков), ATR.

#### 6. ATR-FTIR: приповерхностное зондирование

В методе ATR (ослабленное полное внутреннее отражение) полное внутреннее отражение генерируется в кристалле с высоким показателем преломления (алмаз, ZnSe, Ge); эванесцентная волна проникает в образец на несколько микрон. Глубина проникновения:

$$dp \approx \frac{\lambda}{[2n_1(\sin^2\theta - (\frac{n_2}{n_1})^2)^2]}$$

где  $n_1$  — показатель преломления кристалла ATR,  $n_2$  — показатель преломления образца,  $\theta$  — угол падения, а  $\lambda$  — длина волны. Метод практически не требует подготовки, позволяет быстро анализировать твердые, гелевые, пленочные и влажные образцы, а количественный анализ возможен при повторяемом давлении и контакте.

#### Подготовка образцов и методы измерения

Матрица	Метод	Примечание
Твердые вещества	Таблетка KBr (1–2 мг вещества + 200 мг KBr), мусс из нуйола, ATR, DRIFTS	KBr гигроскопичен; ATR — минимальный метод приготовления.
Жидкость	Тонкий слой между стеклами NaCl, CaF <sub>2</sub> и ZnSe; ATR	С учетом поглощения в поле растворителя
Газы	Газовая ячейка с	CO <sub>2</sub> , H <sub>2</sub> O управление

Матрица	Метод	Примечание
	длинным путем (10 см–10 м)	полосами

Количественный анализ: метод Бира-Ламберта и хемометрика.

В режиме передачи используется уравнение Бера-Ламберта:

$$A(\nu) = \varepsilon(\nu) cl$$

В методе АТR эффективная длина пути зависит от угла смачивания и относительного показателя преломления; поэтому калибровка строится в соответствии с матрицей образца. В многокомпонентных смесях полезны многомерные методы (PLS, PCR, MLR). Хемометрика особенно важна в ближнем инфракрасном диапазоне, поскольку обертоновые полосы слабые и широкие.

Меры предосторожности.

— Сильно поглощающая матрица (вода, CO<sub>2</sub>) может подавлять фоновый шум; для этого необходимы надлежащее разделение фонового шума, сушка или инертный поток.

— Толстые и сильно поглощающие пленки приводят к насыщению пропускания; следует использовать пленки с нарушенным полным внутренним отражением (АТR) или тонкие пленки.

— Полосы ближнего инфракрасного диапазона слабые и залипшие; простое интегрирование пиков без хемометрических методов недостаточно. — Метод АТR обладает высокой чувствительностью к поверхности; загрязнение поверхности или неравномерное давление ухудшают воспроизводимость.

Краткое руководство: Тест для идентификации фармацевтических препаратов

Настройка прибора с фоном (чистый кристалл/замкнутый оптический путь).

Поместите образец на кристалл АТR при том же давлении (или подготовьте таблетку КВr).

Разрешение  $4\text{ см}^{-1}$ , 16–64 сканирования, диапазон 4000–650  $\text{см}^{-1}$  (типичный контроль качества).

Сопоставление спектра с базовым уровнем; коэффициент соответствия должен быть выше лабораторного критерия.

1. При необходимости внесите поправки на содержание воды/ $\text{CO}_2$ , проверьте положения пиков и соотношение интенсивностей.
2. В отчете должны быть указаны условия, показатели соответствия, список вершин и заключение.

Например, содержание воды в сливках можно определить методом ATR-FTIR на основе широкой полосы O–H в области  $3400\text{ см}^{-1}$ . Калибровка: в эталонную матрицу сливок добавляют воду в известных процентных соотношениях, и для каждого образца записывается спектр; площадь полосы или модель PLS соотносится с процентным содержанием воды. Затем с помощью этой модели рассчитывается процентное содержание влаги в неизвестном образце. Испытания на прочность оценивают чувствительность к давлению, повторяемость и температуре.

Инфракрасная и ИК-спектроскопия — это надежный, быстрый и универсальный метод дифференциации полиморфизмов в фармацевтическом анализе, оценки влажности и примесей, а также оперативного управления технологическим процессом. Преимущества мультиплексной и оптической ИК-спектроскопии, модульной спектроскопии для конкретных образцов, такой как ATR/DRIFTS, а также хемометрического моделирования расширяют возможности количественного анализа. Высокая точность и воспроизводимость достигаются при надлежащей подготовке образцов, контроле фонового сигнала и валидированных рабочих процедурах.

## 2.2. Анализ лекарственных препаратов флуорометрическими и люминесцентными методами.

Методы флуорометрии и люминесценции основаны на явлении, при котором под воздействием возбуждающего излучения молекула переходит в высокоэнергетическое электронное состояние, затем за короткое время теряет часть энергии в виде тепла, а остальную часть испускает в виде излучения. Длины волн возбуждения и излучения обычно различны; длина волны излучения больше, что называется стоксовым сдвигом. Люминесценция наблюдается в двух основных формах: флуоролюминесценция (время пребывания порядка наносекунд) и фосфорлюминесценция (от микросекунд до секунд, иногда дольше).

Эффективность флуоресценции и время её пребывания.

Квантовая эффективность  $\phi$  — это отношение числа квантов, испускаемых излучением, к числу поглощенных квантов (от 0 до 1). Время жизни флуоресценции  $\tau$  представляет собой среднее время жизни возбужденного состояния. Вязкость среды, температура, природа растворителя, наличие кислорода, добавки тяжелых атомов и водородные связи оказывают существенное влияние на  $\phi$  и  $\tau$ . В анализе лекарственных препаратов высокие значения  $\phi$  и стабильные значения  $\tau$  повышают точность.

Механизмы вымирания и их разделение

Динамическое тушение. Возбужденное состояние молекулы гасится нерадиационным путем из-за столкновений с частицами в растворе. Применяются уравнения Штерна–Вольмера:

$$\frac{I_0}{I} = 1 + K_{SV}[Q]$$

Здесь  $I_0$  и  $\tau_0$  — значения в отсутствие тушителя,  $I$  и  $\tau$  — значения в присутствии тушителя,  $[Q]$  — концентрация тушителя, а  $K_{sv}$  — коэффициент Штерна–Вольмера.

Статическое затухание. Оно связано с образованием нерадиационного комплекса в основном состоянии. При статическом затухании интенсивность уменьшается, но время пребывания остается практически неизменным. Поэтому для различения динамического и статического затухания полезно измерять как интенсивность, так и время пребывания.

Резонансная передача энергии. Передача возбужденной энергии между молекулами на расстоянии может происходить; данный анализ показывает влияние близлежащих акцепторных групп.

Внутренний фильтр, самопоглощение и геометрия.

Если образец сильно поглощает свет в области возбуждения или излучения, возникает эффект внутреннего фильтра, искусственно уменьшающий сигнал. Для его уменьшения рекомендуется поддерживать низкую концентрацию (обычно поглощение не должно превышать 0,05–0,10), укоротить путь кюветы и использовать оптические фильтры. Классическая компоновка прибора такова, что оси возбуждения и излучения расположены под прямым углом; это уменьшает рассеянный свет.

Многие фармацевтические вещества обладают слабой или отсутствующей естественной люминесценцией. В таких случаях применяются методы химического образования с использованием люминофорообразующих реагентов.

Альдегидные реагенты. О-фталальдегид образует сильный люминофор с первичными аминами (в присутствии тиола); используется при анализе аминокликозидов и аминокислот.

Производные сульфонилхлорида. Дансилхлорид и аналогичные реагенты дают стабильные люминесцентные производные с аминами и фенолами; полезны при анализе сульфонамидов и местных анестетиков.

Хелатные комплексы. Лиганды с хромофорными свойствами образуют комплексы с ионами, такими как алюминий(III) и цинк(II), обеспечивая сильную люминесценцию; используются для некоторых флавоноидов и производных хинолина.

Люминесценция с временным разрешением. Люминофоры, образованные с помощью долгоживущих ионов (например, комплексов иттрия, самария, европия), отделяются от фонового шума во времени; это большое преимущество в сложных смесях.

Подготовка образцов и стабилизация условий

Растворитель должен быть оптически прозрачным, pH должен строго контролироваться, а ионная сила и возможность образования комплексов должны учитываться. Кислород имеет тенденцию к тушению флуоролюминесценции; при необходимости используется продувка инертным газом. Повторяемость сигнала повышается, если температура поддерживается постоянной в пределах 20–25 градусов. Кюветы должны быть чистыми и без царапин; загрязненная с одной стороны кювета увеличит эффект внутреннего фильтра и рассеяние.

Применение в фармацевтике: типовые инструкции.

Прямой анализ активного вещества. Соединения с естественной флуоресценцией (например, рибофлавин, некоторые производные хинолона, бензимидазол и бензодиазепины) могут быть количественно определены.

Обнаружение путем образования. Амины, пептиды, аминогликозидные антибиотики, некоторые сульфаниламиды и местные анестетики образуются с помощью вышеуказанных реагентов и подвергаются чувствительному флуорометрическому анализу.

Непрямой анализ. Некоторые лекарственные препараты подавляют или усиливают флуоролюминесценцию определенного люминофора; количественную оценку можно провести с использованием подхода Штерна-Вольмера.

## Показатели качества и валидация методов

Проверяются линейность (количество калибровочных точек 5–7 или более), точность, правильность, воспроизводимость и межпробная воспроизводимость, предел обнаружения и предел количественного определения, робастность (стабильность при изменении рН, температуры, замены растворителя, времени). При необходимости результаты сравниваются с эталонными методами, такими как высокоэффективная жидкостная хроматография.

Флуорометрические и люминесцентные методы обеспечивают высокую чувствительность, быстроту и селективность для обнаружения лекарственных препаратов, количественного определения следовых количеств, мониторинга деградации и стабильности, а также управления производственными процессами. Высокая точность и воспроизводимость достигаются за счет надлежащего контроля процессов затухания, внутренних фильтров и факторов окружающей среды, выбора соответствующих реагентов для генерации химических веществ и строгого соблюдения требований к калибровке и валидации метода.

### **2.3. Идентификация и количественное определение лекарственных препаратов с использованием спектрофотометрии.**

При спектрофотометрическом измерении интенсивность излучения, прошедшего через образец, оценивается относительно интенсивности падающего излучения. Основные величины:

$$T = \frac{I}{I_0}$$
$$A = \lg\left(\frac{I_0}{I}\right) = -\lg T$$

Здесь  $I_0$  — интенсивность падающего света,  $I$  — интенсивность света, прошедшего через образец,  $T$  — коэффициент пропускания, а  $A$  — поглощение (оптическая плотность). В практическом анализе поглощение выражается как  $A(\lambda)$  как функция длины волны, а количественные расчеты выполняются при выбранной  $\lambda$ . В смесях при определенных условиях вклад поглощения может быть аддитивным; поэтому для многокомпонентных смесей строятся линейные комбинации с использованием калибровочных коэффициентов  $k_i(\lambda)$ :

$$A(\lambda) = \sum k_i(\lambda) \cdot c \cdot l$$

Условия подготовки образцов и измерения. Растворитель: оптически прозрачный, прозрачный в диапазоне поглощения. pH и ионная сила растворов поддерживаются постоянными; при необходимости используется буфер. Твердые образцы готовят в виде раствора или дисперсии. Материал кювет: кварц в ультрафиолетовом диапазоне, стекло в видимом диапазоне. Кюветы должны быть чистыми, без царапин, пузырьков, мутности и взвеси. Перед измерением устанавливается нулевая линия с помощью подходящего эталонного раствора.

Количественные методы. Абсорбция измеряется для серии стандартных растворов, приготовленных в одинаковых условиях. Калибровочная кривая:

$$A = a \cdot c + b$$

Здесь  $a$  — отклонение (отношение величин),  $b$  — точка пересечения с осью  $Y$ . Неизвестная концентрация образца:

$$c = (A - b) / a$$

При необходимости применяются взвешенная регрессия, анализ остатков и проверка линейности.

Метод стандартных добавок. При сильном матричном эффекте к раствору образца последовательно добавляют известное количество стандарта, и каждый раз измеряют поглощение. Проводят линию, определяющую количество добавленного стандарта, в зависимости от его поглощения, а точка пересечения

с осью абсцисс показывает неизвестную концентрацию. Для однократного добавления также возможен двухточечный расчет:

$$c_x = \frac{A_x}{A_{x+st} - A_x} \cdot c_{st} \cdot \frac{V_{st}}{V_{umumiy}}$$

Метод внутреннего стандарта. Образец и стандарт добавляются в раствор одновременно. Матричные и инструментальные вариации компенсируются в коэффициенте измерения:

$$c_x = \frac{A_x}{A_{is}} \cdot \frac{k_{is}}{k_x} \cdot c_{is}$$

Здесь представлен внутренний стандарт,  $k_x$  и  $k_{is}$  — коэффициенты калибровочного отношения.

Производная спектрофотометрия. С помощью производных спектра (первого и второго порядка) разделяются перекрывающиеся линии, устраняется влияние одной компоненты в точках пересечения с нулевой отметкой, и измеряется амплитуда другой.

Оптимизируются параметры сглаживания и оконной обработки.

Метод спектров отношений. Неизвестный спектр делится на соответствующий эталонный

спектр, и получается спектр отношений. При использовании в сочетании с производной селективность в смесях повышается.

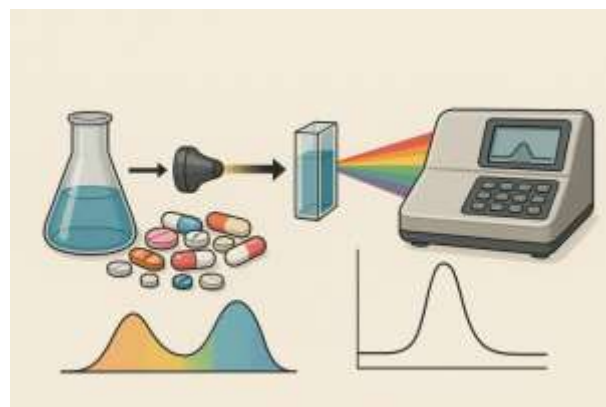


Рисунок 2

Используя точку поглощения. имеют общее значение поглощения на определенной длине волны (точке поглощения). Общая концентрация определяется при одной длине волны  $\lambda$ , а разница между компонентами — при другой длине волны  $\lambda$ . Решив два уравнения, находим  $c_1$  и  $c_2$ .

Многоволновая регрессия. Значения параметра  $A$ , измеренные при нескольких  $\lambda$ , обрабатываются в матричной форме:

$$[A] m \times 1 = [K] m \times n \cdot [c] n \times 1$$

Здесь элементы [К] представляют собой калибровочные коэффициенты при соответствующем  $\lambda$ . [с] определяется методом наименьших квадратов. Эффективно в многокомпонентных смесях лекарственных препаратов.

Критерии идентификации. Оцениваются форма спектра, максимальная длина волны поглощения, относительные коэффициенты поглощения  $A\lambda_1/A\lambda_2$ , нулевые точки в производном спектре и ширина линий. Коэффициент согласования со спектрами библиотеки должен быть достаточным. Спектральные сдвиги могут возникать в результате изменений растворителя и pH; поэтому условия идентификации строго повторяются.

Впитываемость и проницаемость:

$$T = \frac{I}{I_0}$$

$$A = \lg \frac{I_0}{I} = -\lg T$$

Для двухкомпонентной смеси на двух длинах волн:

$$A(\lambda_1) = k_{11} c_1 + k_{12} c_2$$

$$A(\lambda_2) = k_{21} c_1 + k_{22} c_2$$

Решив эту систему, мы находим  $c_1$  и  $c_2$ :

$$c_1 = \frac{A_1 k_{22} - A_2 k_{12}}{k_{11} k_{22} - k_{12} k_{21}}$$

$$c_2 = \frac{A_2 k_{11} - A_1 k_{21}}{k_{11} k_{22} - k_{12} k_{21}}$$

Пределы обнаружения и количественного определения:

$$LOD = 3,3 \cdot \frac{s}{a}$$

$$LOQ = 10 \cdot \frac{s}{a}$$

Здесь  $s$  — стандартное отклонение сигнала низкого уровня, а  $a$  — отклонение калибровочной линии.

Частота рецидивов:

$$\text{RSD (\%)} = 100 \text{ ср} / \text{с}$$

Источники ошибок и способы их уменьшения. Инструментальные: рассеянный свет, неправильный выбор ширины спектральной щели, насыщение детектора, точность длины волны монохроматора. Решение: выбор соответствующей ширины щели, соответствующего режима работы детектора в низком или высоком диапазоне, проверка и корректировка длины волны.

Оптические признаки: загрязненная кювета, царапины на стенках, пузырьки, диспергированные частицы. Оптимальные признаки: очистка кюветы, фильтрация или центрифугирование, удаление пузырьков.

Химические факторы: влияние рН и растворителя, комплексообразование, окисление или гидролиз, светочувствительность. Растворы: подходящий буфер, инертная среда, стабилизатор, работа в темноте, быстрое измерение.

Матрица: Влияние вспомогательных веществ или субстанций, проходящих через упаковку. Решение: Методы стандартного добавления, внутреннего стандарта, соотношения или производные методы.

Линейность: Калибровочная серия не менее 5–7 точек, анализ остатков и оценка R2. Точность: Воспроизводимость (в один день, в одинаковых условиях), междневная воспроизводимость (в разные дни, у разных операторов). Правильность: Рекомендуемый процент извлечения должен находиться в диапазоне 98–102%. Селективность: Возможность измерения в смесях, определяемая изоабсорбционным или производным методами. Пределы обнаружения и количественного определения определяются по вышеуказанным формулам. Стабильность: Оценка влияния изменений рН, доли растворителя, температуры и времени.

Применение в производстве и управлении.

Идентификация поступающего сырья, оценка состава промежуточных продуктов, проверка количества активного

вещества в конечном продукте, мониторинг стадий разложения в ходе испытаний на стабильность. В рамках аналитического контроля процесса технологические параметры контролируются экспресс-измерениями.

Практическое руководство (шаг за шагом)

1. Выбор соответствующего диапазона длин волн и растворителя для анализируемого вещества.
2. Обнуление прибора с помощью эталонного раствора.
3. Подготовьте серию стандартных образцов и неизвестный образец; условия должны оставаться неизменными.
4. Измерьте поглощение при выбранной длине волны  $\lambda$ ; при необходимости используйте несколько  $\lambda$ .
5. Постройте калибровочную кривую:  $A = a c + b$ ; вычислите  $c$  для неизвестного вещества.
6. Если имеется смесь, решите систему уравнений в двух или более  $\lambda$ -диапазонах или используйте методы производных и отношений.
7. Проверка показателей валидации; расчет LOD, LOQ, степени извлечения, RSD.
8. Отчет: условия измерения, спектры, графики, расчеты, выводы.

Спектрофотометрия представляет собой быстрое, надежное и экономически эффективное решение для идентификации и количественного определения фармацевтических препаратов. Количество активных ингредиентов в однокомпонентных и смешанных соединениях определяется с помощью калибровки и многоволновых методов, основанных на измерениях поглощения и пропускания. Методы стандартных добавок и внутреннего стандарта эффективны при наличии матричных эффектов, производные и спектры отношений — при наличии перекрытия линий, а многоволновая регрессия — в случаях многокомпонентных соединений. Требования к поддержанию

стабильных условий, контролю источников ошибок и полной валидации обеспечивают высокую точность и воспроизводимость.

## **ГЛАВА III. МЕТОДЫ ЭЛЕКТРОХИМИЧЕСКОГО АНАЛИЗА**

### **3.1 Кондуктометрия — анализ, основанный на электропроводности растворов.**

Кондуктометрия — это аналитический метод, основанный на измерении электропроводности растворов в зависимости от подвижности и концентрации ионов, позволяющий быстро, экономично и воспроизводимо определять содержание ионов, противоионов, остаточных ионов во вспомогательных



веществах, компонентов буферных растворов и продуктов разложения в сырье и готовых лекарственных формах в фармацевтическом анализе. В основе метода лежит соотношение между удельной электропроводностью (каппа,  $\kappa$ ) раствора и удельным сопротивлением ( $\rho$ ), которое является обратной величиной электропроводности; измерения обычно проводятся в режиме переменного тока (АС) в ячейке с платинированными платиновыми или графитовыми электродами в диапазоне частот, подходящем для снижения поляризации электродов. В фармацевтической практике кондуктометрия используется для решения множества задач, таких как точное определение точек эквивалентности на кривых титрования, мониторинг качества воды (в сочетании с UMS/TOC), мониторинг остаточных растворенных веществ и ионной силы, оценка полиэлектролитов и систем поверхностно-активные вещества/сетчатые материалы, дополнительная проверка потенциометрических измерений на основе ионоселективных электродов, а также проверка приготовления буферных растворов перед капиллярным электрофорезом или хроматографией.

Метрологическая надежность кондуктометрических измерений зависит от точной калибровки постоянной ячейки (Kcell), температурной компенсации, надлежащей подготовки поверхности электрода и проверки с помощью стандартных растворов. Постоянная ячейки определяется геометрическим отношением ( $L/A$ ) и используется для преобразования измеренной проводимости ( $G$ ) в удельную проводимость; практическая калибровка часто проводится с использованием стандартов KCl при 25 °C, а  $K_{cell} = \kappa_{std} / G_{std}$  определяется из  $G_{std}$ , после чего рассчитывается  $\kappa$  в образце =  $K_{cell} G$ . Благодаря своей доступности и оперативности, быстрому отклику и отсутствию сложной установки, кондуктометрия является предпочтительным инструментом скрининга и контроля тока во многих фармацевтических лабораториях; однако из-за ошибок, которые

могут быть вызваны ион-ионными взаимодействиями, поляризацией электрода и изменениями температуры, необходимы строгий контроль и регулярная проверка. Ниже описаны основные физико-химические соотношения метода и механизмы его применения в фармацевтическом анализе.

Теоретическая модель проводимости растворов основана на подвижности и заряде ионов: полная проводимость  $\kappa$  — к, которая определяется подвижностью иона  $i$   $u_i$ , зарядом  $z_i$  и концентрацией  $c_i$ , описывается как сумма вкладов ионов; единицами измерения являются  $\text{С} \cdot \text{м}^{-1}$  в системе СИ, а производные величины, такие как молярная ( $\Lambda_m$ ) и эквивалентная ( $\Lambda_{eq}$ ) проводимость, широко используются в фармацевтических расчетах. При низких концентрациях предельный закон Кольрауша–Онсагера для сильных электролитов дает линейную зависимость  $\Lambda_m$  от квадратного корня из концентрации, тогда как для слабых электролитов закон разбавления Оствальда позволяет определить степень диссоциации ( $\alpha$ ) и константу кислотно-основной диссоциации ( $K_a$  или  $K_b$ ) по кондуктометрическим данным. На практике в кондуктометрическом титровании точка эквивалентности определяется в точке пересечения касательных линий; Этот подход позволяет получать линии, направленные в разные стороны, в зависимости от ионизационных свойств титранта и аналита (сильная кислота – сильное основание, сильная кислота – слабое основание, слабая кислота – сильное основание, титрование осаждением и т. д.).

Температура оказывает существенное влияние на проводимость: из-за повышенной подвижности ионов в вязких средах  $\kappa$  часто увеличивается с повышением температуры по линейному закону или, в некоторых системах, подчиняется экспоненциальному закону типа Аррениуса. Поэтому в фармацевтической практике рекомендуется калибровка и измерение при эталонной температуре  $25^\circ\text{C}$  или работа с автоматической температурной компенсацией; в растворах могут

наблюдаться сильные явления ионного парного взаимодействия и ассоциации, а также отклонения от линейности при высоких ионных концентрациях. При серийных измерениях необходимо многократно проверять постоянную ячейки и температурную чувствительность, очищать поверхности электродов от загрязнений и минимизировать поляризационные эффекты.

$$\kappa = \frac{1}{\rho}$$

Взаимосвязь между относительной диэлектрической проницаемостью и относительным сопротивлением.

$$K_{cell} = \frac{L}{A}$$

Постоянная ячейки — определяется геометрией (L/A).

$$\kappa = K_{cell} \cdot G; \quad G = \frac{1}{R}$$

Расчет относительной проницаемости на основе измеренной проницаемости.

$$\Lambda_m = \frac{\kappa}{c}$$

Определение молярной проводимости ( $C \cdot m^2 \cdot \text{моль}^{-1}$ ).

$$\Lambda_m = \Lambda_m^0 - K \sqrt{c}$$

Закон Кольрауша-Онсагера (сильные электролиты, низкая концентрация).

$$\Lambda_m = \Lambda_m^0 - (A + B \Lambda_m^0) \sqrt{c}$$

Подход Дебая-Хюкеля-Онзагера.

$$\kappa = F \sum z_i u_i c_i$$

Проводимость определяется подвижностью ионов (где F — постоянная Фарадея).

$$\kappa_T = \kappa_{T0} [1 + \alpha (T - T0)]$$

Линейная модель для температурной компенсации.

$$\kappa = \kappa_0 \exp\left(-\frac{E_a}{RT}\right)$$

Представление зависимости от температуры по Аррениусу.

$$\alpha = \frac{\Lambda_m}{\Lambda_m^0}$$

Скорость диссоциации  $\alpha$  (по данным кондуктометрии).

$$K_a = \frac{c \alpha^2}{1 - \alpha}$$

$K_a$  для слабых электролитов (закон Оствальда).

Аналитическая ценность кондуктометрического титрования основана на различии ионизационных свойств титранта и аналита. В случае пары сильная кислота-сильное основание (HCl–NaOH) в процессе нейтрализации высокоподвижные ионы  $H^+$  и  $OH^-$  превращаются в воду, и общая проводимость раствора уменьшается вблизи точки эквивалентности, а затем снова увеличивается за счет избытка ионов титранта; точка пересечения прямых линий, проведенных вдоль линии, дает значение  $V_{eq}$ . В парах сильная кислота-слабое основание или слабая кислота-сильное основание этот профиль асимметричен и определяется образованием буферов, степенью ионизации и константами диссоциации; однако при титровании осаждением наблюдается резкое уменьшение/увеличение проводимости, и точка эквивалентности также точно определяется дифференциальными методами. В фармацевтическом анализе такое титрование эффективно для количественной оценки чистоты исходного материала, количества противоионов, консервантов и компонентов буфера.

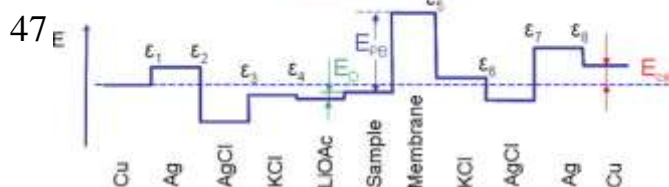
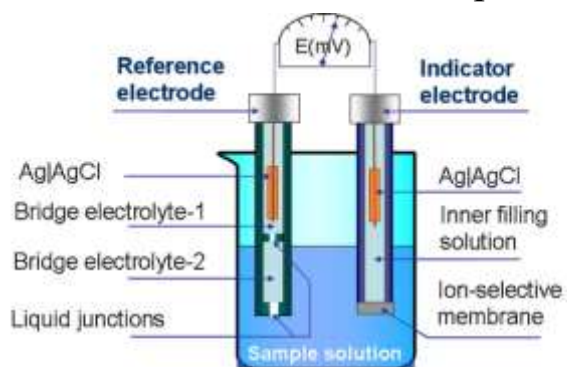
Для получения методологически надежных результатов рекомендуется использовать следующие методы: (i) калибровку константы ячейки  $K_{cell}$  с помощью растворов KCl (например, 0,01; 0,1; 1,0 моль·л<sup>-1</sup>) при 25 °С; (ii) поддержание постоянной температуры с точностью до  $\pm 0,1$  °С или использование автоматической компенсации; (iii) платинирование поверхности электрода, удаление загрязнений с помощью циклов  $HNO_3/HCl$ /этанол; (iv) выбор частоты переменного тока в оптимальном диапазоне, минимизирующей поляризацию; (v)

оценку матричных эффектов (высокая ионная сила, поверхностно-активные вещества, белки) и, при необходимости, подбор матрицы разбавления/шаблона. Кондуктометрия легко автоматизируется: проточные ячейки, роботизированная подача титранта, интеграция с LIMS/ELN и онлайн-мониторинг облегчают интеграцию в фармацевтическую производственную цепочку (PAT).

Спектр применения широк: контроль качества воды и растворителей (в сверхчистой воде  $\kappa \approx 0,055 \text{ мкСм}\cdot\text{см}^{-1}$ ), мониторинг остаточных ионов, количественная оценка противоионов в солях лекарственных препаратов, проверка приготовления буферных растворов, мониторинг процессов ионного обмена, титрование полиэлектролитов, определение критической концентрации мицеллообразования (ККМ) поверхностно-активных веществ, мониторинг изменений подвижности ионов в гелях и полутвердых веществах. Кондуктометрия часто используется в сочетании с потенциометрией, спектрофотометрией или хроматографией для повышения эффективности принятия решений; например, путем определения профиля загрязнения с помощью ЖХ-МС и выбора стабильных условий разделения путем мониторинга ионной силы в реальном времени с помощью кондуктометрии.

### 3.2 Потенциометрия — измерение с использованием ионоселективных электродов.

Потенциометрия — это метод, основанный на измерении потенциала электрода относительно активности целевого иона ( $a_i$ ) в растворе, и используется в фармацевтическом анализе для определения pH, pNa, pK, pCa,



галогенидов,  $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{ClO}_4^-$ , органических катионов и анионов, отличающийся высокой скоростью, экономичностью и практически полным отсутствием воздействия на окружающую среду. Мембрана рабочего электрода (ионоселективного электрода, ИСЭ) избирательно взаимодействует с целевым ионом; электрод сравнения ( $\text{Ag}/\text{AgCl}$  или каломель) выступает в качестве стабильного источника потенциала. Результат измерения подчиняется закону Нернста и, благодаря своей логарифмической зависимости, калибруется в виде  $\log a_i$  или  $p_{\text{Ion}}$ ; здесь разница активности и концентрации учитывается с помощью приближения Дебая–Хюккеля. Поскольку может существовать потенциал границы раздела фаз ликвидуса (ГФЛ), регулируется ионная сила (ИСА), используется солевой мостик, и температура поддерживается постоянной; тогда наклон  $S$  будет близок к теоретическим значениям.

Типы ионоселективных электродов (ИСЭ): стеклянные (рН), твердотельные (на основе  $\text{LaF}_3$  для  $\text{F}^-$ , на основе  $\text{Ag}_2\text{S}$  для  $\text{S}^{2-}/\text{Cl}^-$ ), жидкостные мембраны с полимерной (ПВХ) матрицей (ионофоры: валиномицин для  $\text{K}^+$ , 18-краун-6 для  $\text{NH}_4^+$ , кальциферофор для  $\text{Ca}^{2+}$ ) и нано/композитные слои. Поверхность мембраны и внутренние связи вызывают изменение химического потенциала целевого иона; селективность описывается уравнением Никольского–Эйсмана с учетом влияния притягиваемых ионов. На практике строго соблюдаются следующие правила: подготовка электрода, очистка/регенерация поверхности, обновление внутреннего раствора, повторное смачивание при хранении в сухом состоянии и температурная стабильность ( $\pm 0,1$  °С); в противном случае наблюдаются ухудшение наклона, дрейф и гистерезис. Калибровка обычно проверяется в трех или более точках в логарифмическом диапазоне с  $r^2 \geq 0,995$  и  $S$  в пределах  $\pm(2-3)$  мВ/дек от теории.

Метод стандартных добавок эффективен для компенсации матричных эффектов: неизвестная активность/концентрация

определяется с помощью соотношения  $\Delta E = S \log(a_2/a_1)$ , при этом вводится поправка на объемное расширение. Потенциал связывания жидкости оценивается с помощью уравнения Хендерсона и может быть значительным между растворами с большими различиями в ионной силе; соответствующая конфигурация электрода (гелевый мостик из KCl) и выбор фонового электролита уменьшают этот эффект. Потенциометрия в фармацевтических матрицах успешно используется для проверки буфера, определения противоионов (например, Cl<sup>-</sup>), мониторинга соотношений Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>/Ca<sup>2+</sup>, мониторинга в реальном времени профилей pH/pIon в процессах стабильности и передачи сигнала в системы PAT; она часто используется в сочетании с УФ/ИК-спектроскопией, кондуктометрией и ЖХ/КЭ.

$$E = E_0 + \frac{RT}{zF} \ln a_i$$

Нернст (натуральный логарифм).

$$E = E_0 + \frac{2.303 RT}{zF} \log_{10} a_i$$

Нернст (десятичный логарифм).

$$S = \frac{2.303 RT}{zF}$$

Теоретический наклон S.

$$E = E_0 + \frac{RT}{z_i F} \ln (a_i + \sum K_{i,j}^{pot} (a_j)^{z_i/z_j})$$

Уравнение Никольского–Эйзмана.

$$E_j = \frac{RT}{F} \sum (t_i z_i) \ln \left( \frac{a_{i,2}}{a_{i,1}} \right)$$

Хендерсон — это граничный потенциал жидкостей.

$$I = \frac{1}{2} \sum c_i (z_i)^2$$

Ионная сила I.

$$\log_{10} \gamma_i = - \frac{A (z_i)^2 \sqrt{I}}{1 + B a_i \sqrt{I}}$$

Расширенная версия уравнения Дебая–Хюккеля.

$$\Delta E = S \log \left( \frac{a_2}{a_1} \right)$$

Соотношение двух точек.

$$pH = -\log_{10} a_{H^+}$$

Определение pH.

При измерении pH контролируются диапазон рабочих температур стеклянного электрода, щелочная ошибка (интерференция Na<sup>+</sup>), кислотная ошибка, восстановление смачивающего слоя и старение мембраны; для F<sup>-</sup>-электрода на селективность могут влиять комплексообразование (Al<sup>3+</sup>, Fe<sup>3+</sup>) и pH-зависимые равновесия HF/F<sup>-</sup>. При сравнении коэффициентов селективности  $K^{pot}_{i,j}$  целесообразно использовать протоколы IUPAC (SSM, FIM, MTM); калибровка часто проводится в условиях соответствующей фоновой ионной силы, а изменения активности и концентрации основаны на параметрах Дебая–Хюккеля. При сравнении электродов и переносе между устройствами используются контрольные карты (Shewhart, CUSUM) для раннего обнаружения дрейфа и отклонений; журналы аудита, версионирование и воспроизводимые скрипты (LIMS/ELN) обеспечивают целостность лаборатории.

В заключение, потенциометрия характеризуется высокой селективностью, быстротой измерения, низкой стоимостью эксплуатации и низкими требованиями к ресурсам в фармацевтическом анализе. При правильном выборе ионоселективных электродов, химического состава и подготовки мембран, стратегии калибровки, контроля LJP и ионной силы, стабилизации температуры и корректной интерпретации данных метод может эффективно применяться в широком спектре задач, от мониторинга pH/pI<sub>on</sub> до количественного определения противоионов и управления в реальном времени в технологиях аналитического контроля процессов; что позволяет надежно гарантировать качество фармацевтической продукции в соответствии с философией QbD/PAT/RTTR.

### 3.3 Основы вольтамметрии, амперометрии и полярографии.

Электрохимические методы анализа, такие как вольтамметрия, амперометрия и полярография, обладают рядом преимуществ в фармацевтической аналитике: низкие пределы обнаружения, высокая селективность, быстрая реакция, сохранение чувствительности даже в сложных матрицах и возможность работы с малыми количествами растворителей и реагентов. В вольтамметрии потенциал электрода контролируется во времени (линейное сканирование, циклический режим, прямоугольная волна, дифференциальный импульс, анодный/катодный импульс), и регистрируется токовый отклик ( $i-E$ ); в амперометрии потенциал поддерживается на заданном значении, а концентрация определяется по зависящему от времени токовому сигналу; полярография исторически основана на изменении потенциала на ртутных электродах, таких как капельный ртутный электрод (ДМЭ) или висячая ртутная капля (ВМДЭ), и регистрации диффузионной токовой пластины. Механизм процессов определяется балансом между массопереносом (диффузия, конвекция, миграция), обменом электронов (кинетика) и поверхностными процессами (адсорбция, катализ); Применяемый щелочной электролит подавляет миграцию, массоперенос в основном ограничивается диффузией, поэтому ток измеряется как прямая функция концентрации аналита. В качестве примеров фармацевтических препаратов можно привести аскорбиновую кислоту, парацетамол, кофеин, лидокаин, антиоксиданты и следы тяжелых металлов; для обеспечения высокой селективности используются модифицированные углеродные электроды (нафион, многостенные углеродные нанотрубки, графен, наночастицы золота/серебра).

Циклическая вольтамметрия (ЦВ, СВ) очень удобна для диагностики обратимых и необратимых процессов в электродах:

пиковый ток ( $i_p$ ) зависит от квадратного корня из скорости сканирования ( $v$ ) и подчиняется соотношению Рэндлса–Севчика в процессах, контролируемых диффузией; в обратимых процессах разница между пиковыми потенциалами анода и катода близка к теоретическому значению, тогда как в квазиобратимых и кинетически ограниченных процессах  $\Delta E_p$  увеличивается. В хроноамперометрической форме амперометрии действует закон Коттрелла — ток обратно пропорционален квадратному корню из времени; это объясняется развитием диффузионного слоя. В полярографии диффузионный ток ( $i_d$ ) выражается уравнением Илковича и зависит от параметров массового расхода капли ДМЭ (скорость потока ртути  $m$  и время падения капли  $t$ ); константы приводятся к практически удобной форме при 25 °С. В случае вращающегося дискового электрода (ВДЭ) уравнение Левича позволяет определить предельный ток на границе конвективной и диффузионной процессов; анализ Коутецкого-Левича служит для разделения кинетического и диффузионного вкладов.

Общее описание электродных процессов дается уравнением Батлера–Вольмера; это уравнение представляет собой экспоненциальную сумму скоростей обмена зарядами в анодном и катодном направлениях при перенапряжении ( $\eta$ ). При больших  $|\eta|$  справедливы уравнения Тафеля, а наклон ( $\beta$ ) линий  $\log i - \eta$  связан с коэффициентом обмена зарядами ( $\alpha$ ) и числом электронов ( $n$ ); эти параметры используются для количественного анализа электродной кинетики, сравнения эффективности катализаторов и мониторинга изменений поверхности. В практических измерениях необходимо компенсировать омическое падение напряжения (падение  $iR$ ), вызванное сопротивлением раствора ( $R_u$ ); в противном случае измеренный потенциал будет отклоняться от истинного электродного потенциала. В то же время, ток заряда двойного слоя ( $i_c$ ) присутствует в качестве фонового сигнала, и разделение  $i_f - i_c$  в дифференциальной импульсной и прямоугольной вольтамперометрии повышает чувствительность;

методы стандартных добавок, корректировка фона и измерения холостых проб важны для контроля степени извлечения в фармацевтических матрицах.

$$i = i_0 \left[ \exp\left(\frac{\alpha n F \eta}{R T}\right) - \exp\left(-\frac{(1 - \alpha) n F \eta}{R T}\right) \right]$$

Уравнение Батлера–Вольмера — электродная кинетика.

$$\eta = \frac{2.303 R T}{\alpha n F} \log_{10} \left(\frac{i}{i_0}\right)$$

Уравнение Тафеля — кинетические параметры.

$$i_p = 2.69 \times 10^5 (n)^{3/2} A (D)^{1/2} C (v)^{1/2}$$

Рэндлс-Севчик — в условиях обратимого диффузионного контроля (25 °C).

$$i(t) = n F A C \left(\frac{D}{\pi t}\right)^{1/2}$$

Закон Коттрелла — хроноамперометрия.

$$i_d = k n (D)^{1/2} (m)^{2/3} (t)^{1/6} C; \quad k \approx 607$$

Уравнение Илковича — ДМЕ-полярография (мкА, 25 °C).

$$i_L = 0.620 n F A (D)^{2/3} (\omega)^{1/2} (v)^{-1/6} C$$

Уравнение Левича — конвективно-диффузионный предельный ток (РДТ).

$$\frac{1}{i} = \frac{1}{i_k} + \frac{1}{i_L}$$

Кутецкий–Левич — кинетический и диффузионный вклады.

$$E_{true} = E_{meas} - i R_u$$

Компенсация омического падения напряжения ( $iR$ ).

$$m = \frac{M i t}{n F}$$

Закон Фарадея — это масса электролиза.

На практике при адаптации вольтамметрических/амперометрических методов к фармацевтическим матрицам важны выбор основного электролита (ионная сила и стабильность рН), удаление растворенного кислорода (продувка азотом), поверхностная активность и чистота

загрязнений, адсорбция и контроль каталитических реакций в базовом слое. Параметры сканирования (начальный  $E$ , конечный  $E$ , возвратный  $E$ , скорость сканирования  $v$ , амплитуда импульса, шаг по времени), материал электрода (стеклоуглерод, легированный бором алмаз, золото, платина, электроды, полученные методом трафаретной печати) и модификации (слой нафтона, катализ оксидами металлов/наночастицами, молекулярно импринтированные полимеры) значительно улучшают соотношение аналитической и фоновой составляющих сигнала. Интервал линейности выбирается на основе физико-химических моделей (Рэндлса-Севчика, Коттрелла), а не логарифмической или квадратичной регрессии; в мутных матрицах предпочтительны методы стандартного добавления и определения степени извлечения. При оценке пределов обнаружения/количественного определения используются отношение сигнал/шум, дисперсия фонового сигнала и строгие протоколы (ICH Q2(R2)); регулярно проводятся проверки системы (симметрия пиков, стабильность фонового потока, воспроизводимость).

Современные тенденции: экспресс-скрининг на месте с использованием микроэлектродных матриц и портативных датчиков, напечатанных на экране; интеграция смешивания-реакции-детектирования в микрофлюидные платформы «лаборатория на чипе»; субмкМ-диапазон за счет разделения  $i_f - i_c$  в вольтамперометрии с прямоугольным импульсом и дифференциальной импульсной вольтамперометрии; повышение селективности с использованием каталитических маркерных реакций в амперометрии с инъекцией тока; усиление сигнала путем предварительной электрохимической окислительной экстракции или химической дериватизации; классификация кривых циклической вольтамперометрии с использованием искусственного интеллекта, автоматическое извлечение механизма из соотношений  $\Delta E_p$  и  $i_p$ , онлайн-контроль дрейфа и

загрязнения поверхности. В контексте аналитических технологий процессов (PAT) амперометрические/гальваностатические датчики используются для мониторинга в реальном времени и служат решениями RTRT; результаты представляются в согласованной и воспроизводимой форме, наряду с журналами аудита, версионированием, переносом калибровки и процессами MLOps для соответствия нормативным требованиям.

### **3.4 Чувствительность, точность и преимущества электрохимических методов**

Электрохимические методы анализа – вольтамметрия, амперометрия, потенциометрия, кондуктометрия и полярография – занимают особое место в фармацевтической промышленности с точки зрения чувствительности, точности, скорости и ресурсоэффективности; эти методы позволяют работать с малыми объемами образцов, устанавливать онлайн/встроенный контроль, снижать расход растворителей в соответствии с принципами «зеленой» аналитики и обеспечивать аутентификацию по всей логистической цепочке с помощью портативных датчиков. Повышение чувствительности в первую очередь связано с правильным контролем механизма генерации сигнала – кинетики электронного обмена, пределов массопереноса и поверхностных процессов: при диффузионном контроле пиковый ток пропорционален квадратному корню из скорости сканирования согласно соотношению Рэндлса-Севчика, а при хроноамперометрии – обратно пропорционален квадратному корню из времени согласно закону Коттрелла; в конвективном режиме предельный ток выражается уравнением Левича. Методы предварительной концентрации, такие как вольтамперометрия с электрохимическим растворением, при которых аналит собирается на стадии адсорбционного обогащения или электроконцентрирования, а затем растворяется в дифференциальном импульсном или прямоугольном режиме,

позволяют снизить чувствительность до уровня ниже  $\text{мкг}\cdot\text{л}^{-1}$ ; это является большим преимуществом для обнаружения фармацевтических примесей, следов тяжелых металлов и продуктов разложения активных ингредиентов на следовых уровнях. Кроме того, контроль отношения сигнал/шум (S/N), дисперсии фонового сигнала, компенсация омического падения ( $iR$ -падения), снижение тока двойного слоя ( $i_c$ ) и согласование с фоном значительно повышают точность и воспроизводимость.

Точность и достоверность часто обеспечиваются калибровкой на основе физико-химических моделей: например, для контроля диффузии в циклической вольтамперометрии используется подход Рэндлса–Севчика, для хроноамперометрии — подход Коттрелла, для вращающегося дискового электрода — подход Левича, а для кинетического ограничения — подход Коутецкого–Левича; в потенциометрии основными являются законы Нернста и Никольского–Эйзмана, а в кондуктометрии — законы Кольрауша и Оствальда. В случаях нелинейной калибровки вместо преобразований выбираются регрессии с физически значимыми параметрами; при сильном влиянии дисперсии фонового сигнала и матричных эффектов приоритет отдается протоколу стандартного добавления. Валидация документируется с точки зрения линейности, диапазона линейности, степени извлечения, воспроизводимости, промежуточной точности, стабильности и селективности в соответствии с требованиями ICH Q2(R2); В состав бюджета неопределенности входят стандартные ошибки наклона и пересечения калибровочной кривой, шум измерений, изменчивость поверхности электрода, колебания температуры и ошибки подготовки объема/концентрации. Расширенная неопределенность оценивается по формуле  $U = k \cdot u_c(y)$  и определяет пределы принятия решения для метода (зона стабильной работы анализа).

Практические способы повышения чувствительности: (i) модификация поверхности — покрытие стеклоуглерода слоем

Nafion, графена/MWCNT, наночастиц золота/серебра, катализаторов на основе оксидов металлов, молекулярно-импринтированных полимеров; (ii) повышение массопереноса – истончение диффузионного слоя с помощью вращающегося дискового электрода (RDE/RRDE), микроэлектродных матриц или микрофлюидных каналов; (iii) концентрирование – адсорбция или осаждение амальгамы/твердой фазы (анодное/катодное растворение); (iv) химическая дериватизация – повышение селективности и амплитуды сигнала с использованием электроактивных меток; (v) регулировка фонового сигнала – рН буфера, ионная сила, органические добавки (ацетонитрил/метанол) и снижение содержания растворенного кислорода (продувка азотом); (vi) удаление поверхностных загрязнений путем ИК-компенсации и электрохимической очистки (циклирование потенциала). Кроме того, выбор параметров на электроде в соответствии с изотермами адсорбции (Лангмюра, Темкина) максимизирует чувствительность адсорбционного растворения; импульсные режимы выбираются для преодоления диффузии в пленке и кинетических барьеров в ограниченном пространстве. Эти подходы снижают влияние фоновых примесей в фармацевтических матрицах — сиропах, растворах для инъекций, кремах/гелевых основах, экстрактах в таблетках — и обеспечивают низкие значения LOD/LOQ.

Каждый звено в цепочке измерений важен для обеспечения точности и воспроизводимости: правильный выбор материала электрода (алмаз, легированный бором – широкий потенциальный диапазон, золото – тиол/серная химия, платина – каталитическая активность, стеклоуглерод – универсальная поверхность), соответствие базового электролита и буфера (рН, ионная сила, вязкость), минимизация растворенного кислорода, поддержание стабильной температуры, контроль ошибок массы и объема при подготовке образцов. Параметры прибора также играют ключевую роль: такие факторы, как скорость сканирования, амплитуда и

ширина импульса, время шага, скорость вращения вращающегося дискового электрода, геометрия ячейки, расстояние и механика смешивания, влияют на воспроизводимость. Протоколы, интегрированные с системами LIMS/ELN, гарантируют контрольный журнал, версионирование и воспроизводимость; контрольные карты Шеухарта или CUSUM помогают выявлять изменения дрейфа на ранних стадиях и планировать профилактическое обслуживание (полировка/кондиционирование электродов).

Селективность — ещё одно преимущество электрохимических методов. Выбирая диапазон потенциалов, комплексообразующие реагенты, рН и ионную силу, можно дифференцировать окислительно-восстановительные потенциалы мешающих компонентов, а также избирательно адсорбировать целевой аналит посредством модификации электрода. Дифференциальное разделение фонового зарядового слоя в вольтамперометрии с прямоугольной волной и дифференциальной импульсной вольтамперометрии, использование время- и потенциально-селективного режима на стадии растворения, а также использование каталитических маркерных реакций (ферментов, медиаторных систем) в амперометрии повышают селективность. В фармацевтическом анализе эти подходы позволяют улучшить дифференциацию пиков активных ингредиентов, таких как парацетамол/аскорбиновая кислота/кофеин, индексацию полифенолов и антиоксидантов, а также мониторинг продуктов окислительной деградации в тестах на стабильность; при этом обнаружение следов тяжелых металлов в режиме растворения гарантирует безопасность.

Подход, основанный на бюджете неопределенности, позволяет качественно оценить общую точность метода: суммарная стандартная неопределенность  $u_c(y)$  рассчитывается как корень из суммы квадратов компонентов по правилу распространения ошибок; крупные составляющие — неопределенность наклона и

пересечения калибровочной кривой, изменчивость поверхности электрода, колебания температуры, дисперсия фонового шума — оцениваются отдельно. Расширенная неопределенность  $U = k \cdot u_c(y)$  (обычно  $k \approx 2$ ) определяет уровень уверенности в принятии решений; LOD/LOQ оценивается на основе критериев  $3\sigma/m$  и  $10\sigma/m$  ( $\sigma$  — дисперсия фонового шума,  $m$  — наклон калибровочной кривой). При практической оценке LOD/LOQ также используется отношение сигнал/шум (S/N); в нижних диапазонах важны преобразования, чувствительные к фоновому шуму, и тесты на процентное восстановление. Компенсация матричного эффекта методом стандартного добавления, электрофильтрация выбросов (сужение потенциального окна) и использование адаптивных буферов снижают конечную неопределенность.

Преимущества электрохимических методов: (i) низкие пределы обнаружения/количественного определения и широкий динамический диапазон — субмикронные и даже наномолярные уровни при использовании вольтамперометрии с отслаиванием и импульсных режимов; (ii) быстрота — результаты в течение секунд/минут; (iii) портативность и низкое энергопотребление — аутентификация в полевых условиях; (iv) экологичность анализа — низкое содержание растворителей, мало отходов; (v) прямая интеграция с процессом — PAT/RTRT; (vi) частично недорогие устройства — микроэлектроды, электроды, изготовленные методом трафаретной печати; (vii) высокая селективность и возможность индивидуальной настройки — за счет химии мембран и модификации поверхности. Однако существуют и ограничения: загрязнение и пассивация поверхности, помехи от растворенного кислорода, выпадение ИК-излучения, дрейф; тем не менее, при наличии соответствующих протоколов (очистка, продувка, компенсация, контрольная диаграмма) их можно контролировать. В процессе фармацевтической валидации электрохимические методы в сочетании со спектральными и хроматографическими

методами повышают надежность принятия решений и логически связаны с концепцией многоатрибутного мониторинга (МAM).

Современные тенденции включают интеграцию вольтамметрии/амперометрии с микрофлюидными системами «лаборатория на чипе», автоматическое извлечение механизмов из кривых циклической вольтамметрии с использованием ИИ, мониторинг дрейфа в реальном времени и адаптивное управление компенсацией ИК-излучения, анализ каталитических циклов (медиаторов, окислительно-восстановительных циклов) с помощью вращающегося дискового электрода, дифференциальное измерение потребления кислорода на дыхательных электродах с использованием ферментативной амперометрии, преобразование молекулярного распознавания в сигнал в режиме прямоугольной волны в электрохимических сенсорах на основе аптамеров и, наконец, переход к одноразовым стерилизуемым тест-полоскам с использованием электродов, нанесенных методом трафаретной печати. Эти подходы позволяют соответствовать требованиям RTRT на производственной линии, снижать потребление ресурсов и обеспечивать стабильное качество; и поддерживаются журналами аудита, жизненными циклами моделей и политиками переноса калибровки для соответствия нормативным требованиям.

В конечном итоге, электрохимические методы играют стратегическую роль в фармацевтическом анализе, обеспечивая недорогой и высоконадежный контроль. Они позволяют быстро и точно оценивать содержание лекарственных веществ, примесей, продуктов разложения, консервантов, ионный состав и физико-химические параметры; даже низкие концентрации могут быть легко определены с помощью методов ионизации и импульсного анализа. Сочетание приборов, химии поверхности и анализа данных позволяет максимизировать чувствительность и минимизировать общую неопределенность; поэтому электрохимические методы становятся неотъемлемой частью

системы качества фармацевтической продукции, наряду с философией QbD/PAT, «зеленой» аналитикой и цифровыми лабораториями.

$$S/N = \frac{H}{\sigma}$$

Отношение сигнал/шум (S/N).

$$LOD = \frac{3 \sigma}{m}$$

Предел обнаружения (LOD) — это дисперсия фонового сигнала  $\sigma$  и наклон  $\mu$ .

$$LOQ = \frac{10 \sigma}{m}$$

Предел количественного определения (LOQ).

$$i_p = 2.69 \times 10^5 (n)^{3/2} A (D)^{1/2} C (v)^{1/2}$$

Рэндлс-Севчик — диффузионный контроль (25 °C).

$$i(t) = n F A C \left(\frac{D}{\pi t}\right)^{1/2}$$

Закон Коттрелла — хроноамперометрия.

$$i_L = 0.620 n F A (D)^{2/3} (\omega)^{1/2} (v)^{-1/6} C$$

Ток Левича представляет собой предельный поток конвективной диффузии.

$$\frac{1}{i} = \frac{1}{i_k} + \frac{1}{i_L}$$

Кутецкого–Левича — кинетическое/диффузионное разделение.

$$E_{true} = E_{meas} - i R_u$$

Компенсация омического падения напряжения ( $iR$ ).

$$u_{c(y)} = \sqrt{\Sigma (\partial y / \partial x_i)^2 (u(x_i))^2}$$

Совокупная неопределенность при распространении ошибок.

$$RSD(\%) = 100 \cdot \frac{s}{\bar{y}}$$

Стандартное отклонение воспроизводимости (RSD).

$$\Gamma = \frac{\Gamma_{max} K C}{1 + K C}$$

Изотерма Лангмюра — это модель адсорбционного обогащения.

$$C_x = \frac{C_s \Delta E}{E_2 - E_1}$$

Концептуальное представление стандартного сложения (адаптируемое для различных режимов).

$$\eta = \frac{2.303 R T}{\alpha n F} \log_{10} \left( \frac{i}{i_0} \right)$$

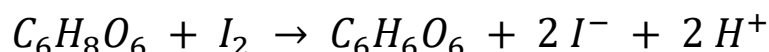
Уравнение Тафеля — кинетические параметры и оценка катализа.

### 3.5. Практические примеры: анализ аскорбиновой кислоты, лидокаина, NaCl.

В этом разделе представлен всесторонний обзор практических аспектов фармацевтического анализа с использованием трех типичных соединений: аскорбиновой кислоты (витамина С), широко используемого антиоксиданта; лидокаина (обычно в форме гидрохлорида лидокаина), местного анестетика; и NaCl, широко используемого неорганического электролита. Эти три соединения значительно различаются по химической природе, ионизационным свойствам, матрице и аналитическим условиям, что делает важным использование различных аналитических платформ, адаптацию протокола к матричным эффектам, выбор правильной стратегии калибровки и управление бюджетом неопределенности. Аскорбиновая кислота является сильным восстановителем и надежно определяется с помощью йодометрии, спектрофотометрии DСPIР, вольтамметрии и ВЭЖХ-УФ/ВРМС; лидокаин, как основное органическое соединение, подходит для потенциометрического титрования хлорной кислотой в неводных средах, ВЭЖХ-УФ/ФЛД, капиллярного электрофореза и амперометрического детектирования, при этом распределение рН в биологически значимых матрицах также играет важную роль; Определение концентрации NaCl проводится такими методами, как кондуктометрическое титрование (осаждение с помощью AgNO<sub>3</sub>), аргентометрия Мора/Вольхарда/Фаянса, ионоселективные

электроды ( $\text{Cl}^-$  или  $\text{Ag}^+$ ) и ICP-OES. Ниже для каждого аналита описаны пошаговые практические протоколы, помехи и источники ошибок, показатели валидации и формулы расчета.

Аскорбиновая кислота (L-аскорбат) — сильный восстановитель, существующий в водном растворе в зависимых от pH состояниях ионизации; благодаря своим антиоксидантным свойствам она легко окисляется и является основным активным ингредиентом в фармацевтических препаратах и пищевых добавках. В йодометрии аскорбат восстанавливает  $\text{I}_2$  до  $\text{I}^-$ ; следовательно, эквимольная стехиометрия происходит в обратном направлении, и определение проводится с высокой селективностью. При спектральном подходе с использованием DCPIP (2,6-дихлорфенолиндофенола) окисленный краситель восстанавливается аскорбатом и теряет свой цвет; одновременно изменения в красителе регистрируются спектрофотометрически при его избытке. Что касается вольтамметрии, аскорбат окисляется на аноде уже при низких потенциалах; дифференциальные импульсные или прямоугольные режимы обеспечивают низкие значения LOD/LOQ за счет дифференциального разделения фонового зарядового тока. На платформах ВЭЖХ-УФ/ФЛД пик поглощения наблюдается в диапазоне 245–265 нм; мониторинг образования дегидроаскорбата и продуктов его разложения улучшается с помощью ВРМС. Рекомендуется использовать ЭДТА, метафосфорную кислоту или антиоксидантную среду во время пробоподготовки для ограничения окисления  $\text{SO}_2$  или катализа ионами металлов, а также продувать кислород азотом; стабильность улучшается при pH 2–3.



Окисление аскорбата с помощью  $\text{I}_2$  с образованием  $\text{I}^-$ ,  $\text{H}^+$ .

$$n_{\text{AsA}} = C_{\text{I}_2} \cdot V_{\text{I}_2}$$

Количество вещества в соответствии с эквимольной стехиометрией.

$$\%AsA = \frac{C_{I2} V_{I2} M_{AsA} \cdot 100}{m_{\text{namuna}}}$$

Формула для расчета массовой доли аскорбиновой кислоты.

$$A = \varepsilon l c$$

Закон поглощения в калибровке DCPIR или HPLC-UV.

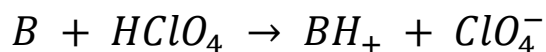
$$i_p = 2.69 \times 10^5 (n)^{3/2} A (D)^{1/2} C (v)^{1/2}$$

Диффузионный контроль в CV для аскорбата (25 °C).

Типичная процедура в йодометрическом протоколе выглядит следующим образом: образец точно взвешивают, экстрагируют 3–5% метафосфорной или уксусной кислотой, затем фильтруют и при необходимости доводят объем до нужного значения; желательно работать в закрытом сосуде, чтобы избежать избытка свободного I<sub>2</sub>. В качестве титранта используют гранулированный раствор I<sub>2</sub>/KI концентрацией 0,01–0,1 моль·л<sup>-1</sup>; в качестве индикатора используют крахмал (исчезновение синего цвета является точкой эквивалентности). В тесте на извлечение добавляют сертифицированный стандарт, ожидаемое извлечение составляет 98–102%; в случае матричных эффектов рекомендуется метод стандартных добавок или ВЭЖХ-УФ-верификация. В вольтамметрии поверхность стеклоуглеродного электрода (или BDD) активируют механической полировкой и циклированием потенциалов, O<sub>2</sub> восстанавливают продувкой N<sub>2</sub>, а pH буфера поддерживают в стабильном диапазоне 3–5, что повышает чувствительность; В режиме DPV/SWV высота пика количественно определяется относительно калибровочной линии. В режиме HPLC-UV короткоколоночная UPLC сокращает время анализа и минимизирует деградацию; в сочетании с HRMS осуществляется мониторинг дегидроаскорбата и кето-таутомеров, что обеспечивает высокую надежность при тестировании стабильности.

Лидокаин (часто в форме гидрохлорида) — местный анестетик с основными свойствами (третичный амин). Наиболее распространенные методы определения по фармакопейной шкале

— потенциометрическое титрование хлорной кислотой в неводных средах и ВЭЖХ-УФ/ФЛД; в некоторых случаях также используется капиллярный электрофорез (МЭКХ/КЭХ). При неводном титровании аналит В (основание), растворенный в ледяном уксусном ангидриде, протонируется хлорной кислотой (HClO<sub>4</sub>) с образованием соли BH<sup>+</sup>ClO<sub>4</sub><sup>-</sup>; в качестве индикатора используется кристаллический фиолетовый или потенциометрическое определение (с использованием стеклянной или неводной эталонной системы). Калибровка основана на дифференциальном определении точки эквивалентности; кривая титрования имеет четкую сингулярность, а проблемы, связанные с LJP, минимизируются соответствующей системой обозначений. В ВЭЖХ-УФ спектр поглощения находится в области 210–230 нм, а удержание может быть стабилизировано ионопарными реагентами; во флюориметрии чувствительность повышается за счет определенных условий дериватизации. Матричные эффекты – консерванты (бензалкония хлорид), вспомогательные вещества, буферы – могут влиять на потенциометрический отклик, поэтому при пробоподготовке рекомендуется разбавление, фильтрация и, при необходимости, твердофазная экстракция (ТФЭ).



Протонирование и образование перхлоратных солей при титровании в неводных растворах.

$$\% = \frac{V N M_r \cdot 100}{m}$$

Количественная оценка концентрации лидокаина на основе титрования в неводном растворе.

$$pH = pK_a + \log \frac{[B]}{[BH^+]}$$

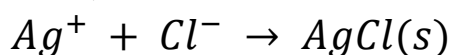
Уравнение Х-Х для объяснения распределения основных соединений.

Протокол неводного титрования: приблизительно 200–300 мг аналита растворяют в ледяном уксусном ангидриде, для удаления

следов воды используют осушитель (например, сам уксусный ангидрид); в качестве титранта используют раствор  $\text{HClO}_4$ , доведенный до определенной нормальности. При потенциометрическом определении определяют максимальную эквивалентную точку на графике  $dE/dV$ ; в присутствии индикатора наблюдается резкое изменение цвета. При расчете принимают эквивалентное число  $n = 1$ ; массовую долю или процентное содержание  $w_i$  (вес./вес. %) определяют по приведенной выше формуле. Для ВЭЖХ-УФ градиент вода-ацетонитрил или вода-метанол с добавлением 0,1% муравьиной кислоты или трифторуксусной кислоты улучшает форму пика; для регулирования удерживания ионно-парных соединений гидрохлоридной соли можно использовать ионопарные реагенты, такие как гептансульфонат, в низких концентрациях. В режиме капиллярного электрофореза (КЭ) (МЭКХ) достигается распределение нейтральных молекул с помощью поверхностно-активных веществ, и пики лидокаина хорошо разделены; УФ-детектирование настроено на диапазон 200–210 нм. Критерии валидации включают линейность  $r^2 \geq 0,995$ , степень извлечения 98–102% и относительное стандартное отклонение  $\leq 2\%$ .

Анализ хлорида натрия ( $\text{NaCl}$ ) является одной из наиболее распространенных задач при анализе фармацевтической воды, инъекционных растворов, растворов для инфузий и вспомогательных веществ. Количество аниона ( $\text{Cl}^-$ ) определяется аргентометрией (Мор/Фаянс) или обратным титрованием (Вольхард), кондуктометрическим титрованием (осаждение с помощью  $\text{AgNO}_3$ ), ионоселективным электродом ( $\text{Ag}^+$  или  $\text{Cl}^-$ ), а также ионной хроматографией. В методе Мора в качестве индикатора используется  $\text{K}_2\text{CrO}_4$ ; в присутствии избытка  $\text{Ag}^+$  образование красно-коричневого осадка  $\text{Ag}_2\text{CrO}_4$  указывает на точку эквивалентности и стабильно работает при  $\text{pH} \sim 7-10$ . В методе Фаянса используются адсорбционные индикаторы, а инверсия заряда на поверхности коллоида  $\text{AgCl}$  дает

пиктохроматический сигнал; В методе Вольхарда ионы  $Cl^-$  сначала связываются с избытком  $AgNO_3$ , а затем избыток  $Ag^+$  титруется тиоцианатом (индикатор  $Fe^{3+}$ ). В кондуктометрическом подходе свободные ионы восстанавливаются по мере осаждения  $AgCl$ , и проводимость изменяется до минимума; точка эквивалентности находится в точке пересечения линий. В методе ионоселективного электрода (ИСЭ) используется электрод  $Ag/AgCl$  или  $Cl^-$ , а также логарифмический отклик Нернста; важны регулировка ионной силы (ИСА) и минимизация эффекта Ляпунова-Джонса (ЛДЖП).



Образование осадков на основе аргентометрии и кондуктометрии.

$$\%NaCl = \frac{V_{AgNO_3} N_{AgNO_3} \cdot 58.44 \cdot 100}{m}$$

Рассчитайте массовую долю (эквивалентная масса 58,44 г моль<sup>-1</sup>).

$$E = E_0 + \frac{RT}{F} \ln a_{Cl^-}$$

Уравнение Нернста для отклика хлоридного ионоселективного электрода.

Протоколы аргентометрии: В методе Мора образец доводят до pH 7–10, добавляют индикатор  $K_2CrO_4$ , а затем титруют  $AgNO_3$ ; в точке эквивалентности цвет меняется на красно-коричневый. В методе Вольхарда  $Cl^-$  полностью осаждают избытком  $AgNO_3$  в среде  $HNO_3$  и обратным титрованием избытком тиоцианата  $Ag^+$  ( $KSCN$ ) без фильтрации; в присутствии  $Fe^{3+}$  образование красного комплекса  $Fe(SCN)_2^+$  указывает на точку эквивалентности. При кондуктометрическом титровании строят график зависимости объема титранта от проводимости, а  $V_{eq}$  определяют по точке пересечения двух прямых; этот метод надежно работает без индикаторов, даже в мутных или окрашенных растворах. Метод ионоселективных электродов (ИСЭ) дает динамичный логарифмически-линейный отклик для  $Cl^-$ ; метод стандартных добавок компенсирует матричные эффекты, а результаты определения степени извлечения в

фармацевтических растворах, как ожидается, будут находиться в диапазоне 98–102%. В ионной хроматографии ионы Cl<sup>-</sup> разделяются методом детектирования с подавленной проницаемостью, что позволяет обнаруживать следовые количества ионов; этот метод широко используется в контроле качества воды.

В практических анализах критерии качества контролируются следующим образом: линейность ( $r^2 \geq 0,995$ ), точность (степень извлечения 98–102%), воспроизводимость (относительное стандартное отклонение  $\leq 2\% - 5\%$  в зависимости от матрицы), специфичность (указывающая на влияние интерферентов), согласованность и стабильность (хранение образцов и стандартов, свето- и температурная чувствительность), пределы обнаружения/количественного определения ( $3\sigma/m$  и  $10\sigma/m$ ) и пригодность системы (симметрия пика, разрешение, стабильность фона). Отдельно контролируются такие факторы, как катализ металлами и окисление кислородом в аскорбине, следы воды в неводных средах в лидокаине и LJP, ионная сила и зависимость индикатора от pH в NaCl. Целостность данных (ALCOA+), журнал аудита, версионирование и связь с системами LIMS/ELN обеспечивают воспроизводимость; контрольные карты (Shewhart/CUSUM) помогают выявлять дрейф на ранних стадиях. В технологиях технологического анализа (PAT) управление в реальном времени обеспечивают кондуктометрические/испарительные датчики, вольтамметрические/амперометрические датчики и УФ-оптические зонды; для измерения времени удерживания в реальном времени (RTRT) интегрированы прогностические модели (PLS/SVM/DL).

$$LOD = \frac{3\sigma}{m}$$

Предел обнаружения (LOD) — определяется по дисперсии фонового сигнала и наклону калибровочной кривой.

$$LOQ = \frac{10 \sigma}{m}$$

LOQ — предел количественного определения.

$$A = \varepsilon l c$$

Для количественного определения лидокаина методом ВЭЖХ-УФ/УФ-Визуальной спектроскопии.

## **ГЛАВА IV. МЕТОДЫ МАСС-СПЕКТРОМЕТРИИ И ЯДЕРНОГО МАГНИТНОГО РЕЗОНАНСА.**

### **4.1. Основные принципы и области применения масс- спектрометрии.**

Масс-спектрометрия основана на превращении веществ в ионы, их разделении и регистрации в соответствии с отношением массы к заряду. Последовательность процессов следующая: ионизация, ускорение и ориентация набора ионов, разделение по массе, регистрация в детекторах и обработка данных.

Виды ионизации. Ионизация электронным ударом (для малых газообразных молекул), химическая ионизация (в присутствии реагентного газа), электроспрейная ионизация (мягкая ионизация из жидкой фазы), матрично-ассистированная лазерная десорбционная ионизация (для крупных молекул), химическая ионизация при атмосферном давлении, ионизация с индуктивно связанной плазмой (элементный анализ).

Основные типы масс-анализаторов: квадрупольные, времяпролетные, ионные ловушки (пространственные и линейные), орбитальные ловушки, ионно-циклотронные резонансные масс-спектрометры с преобразованием Фурье. Каждый тип отличается по разделительной способности, скорости и точности измерения массы.

Отношение массы к заряду, разрешающая способность и точность измерения массы. Заряд иона определяется выражением  $q = z \cdot e$ ; отношение массы к заряду  $m/z$  является основным параметром анализа.

$$q = z \cdot e$$

Разделительная способность определяется следующим образом:

$$R = \frac{m}{\Delta m_{\{FWHM\}}}$$

Точность измерения массы выражается в относительном выражении (в ppm):

$$\delta = \frac{\Delta m}{m} \cdot 10^6$$

Кинематические выражения для разделения по времени полета. Скорость и время полета иона связаны с ускоряющим напряжением, зарядом и массой:

$$v = \sqrt{\frac{2 \cdot z \cdot e \cdot U}{m}}$$

$$t = \frac{L}{v} = L \cdot \sqrt{\frac{m}{2 \cdot z \cdot e \cdot U}}$$

При разделении магнитных секторов соотношение  $m/z$  определяется радиусом орбиты и полем:

$$r = \frac{m \cdot v}{z \cdot e \cdot B}$$

$$m / z = \frac{B^2 \cdot r^2}{2 \cdot U}$$

Интерпретация спектра и фрагментация. Спектр показывает пик молекулярного иона, фрагменты и изотопные пики. При методах мягкой ионизации молекулярный ион сохраняется, тогда как при методах высокой энергии фрагментация интенсивна. Относительная интенсивность выражается в процентах:

$$I_{\{rel\}} = 100 \cdot \frac{I_i}{I_{\{max\}}}$$

Калибровка и корректировки. В системах измерения времени пролета зависимость времени от массы часто калибруется в квадратичной или смешанной форме:

$$m / z = a \cdot (t - t_0)^2 + b \cdot (t - t_0) + c$$

Коррекция дрейфа осуществляется с использованием опорной фиксированной точки (блокирующей массы).

Технологические показатели. Разрешение, точность измерения массы, воспроизводимость, динамический диапазон, скорость сканирования и стабильность являются основными



массы активных ингредиентов, обнаружение примесей и продуктов распада в следовых количествах, дифференциация от вспомогательных веществ в лекарственных формах,

количественный биоаналитический анализ плазмы и мочи в сочетании с жидкостной хроматографией, определение метаболитов, контроль стабильности и условий хранения.

Матричные эффекты и подавление ионов. Во время ввода жидкого образца может происходить подавление или усиление сигнала из-за влияния сопутствующих веществ на стадию ионизации. Для уменьшения этого рекомендуется повысить уровень разделения, отрегулировать скорость ввода образца и использовать внутренний стандарт и эталонную массу.

Критерии валидации. При необходимости оцениваются селективность, линейность, точность, правильность (степень извлечения), пределы обнаружения и количественного определения, воспроизводимость и стабильность.

Масс-спектрометрия основана на ионизации, разделении масс и чувствительном детектировании, что позволяет получать высоконадежную информацию о молекулярной массе и структуре. Она широко используется в фармацевтическом анализе для идентификации, количественного определения, обнаружения следовых примесей и метаболитов, а также для быстрого и надежного контроля качества.

## 4.2. Сущность спектроскопии ядерного магнитного резонанса (ЯМР).

Если ядро обладает спиновым моментом, энергетические состояния будут разделяться во внешнем однородном магнитном поле, и угловая скорость прецессии будет пропорциональна магнитному полю. Ядерный магнитный момент, угловая скорость Лармора и частота:

$$\mu = \gamma \cdot \hbar \cdot I, \quad \omega_0 = \gamma \cdot B_0, \quad \nu_0 = (\gamma / 2\pi) \cdot B_0$$

Разделение энергии и заселение уровней:

$$\Delta E = \hbar \cdot \omega_0$$

$$N_{\text{yuqori}} / N_{\text{past}} = \exp(-\Delta E / kT)$$

Здесь  $\gamma$  — гиромагнитное отношение,  $I$  — ядерный спин,  $B_0$  — внешнее магнитное поле,  $k$  — постоянная Больцмана, а  $T$  — температура.

Экранирование электронов и химический сдвиг

Электронное облако частично экранирует ядро, уменьшая эффективное поле:  $B_{\text{eff}} = B_0(1 - \sigma)$ . Соответственно, частота сигнала равна:

$$\omega = \gamma \cdot B_0 \cdot (1 - \sigma)$$

Химический сдвиг выражается в частях на миллион (ppm) относительно стандартного эталона:

$$\delta \text{ (ppm)} = 10^6 \cdot \frac{\nu_{\text{namuna}} - \nu_{\text{tayanch}}}{\nu_{\text{tayanch}}}$$

Значение  $\delta$  определяется электронной плотностью, индуктивными и мезомерными эффектами, а также анизотропной средой.

Спин-спиновое взаимодействие (скалярная связь)

Скалярное взаимодействие между соседними ядрами приводит к образованию мультиплетов в спектре; расстояние между линиями равно константе связи (в Герцах). Упрощенно:

$$H_J = 2\pi \cdot J \cdot I \cdot S$$

Если число соседей равно  $n$ , то в идеале число мультиплетных линий равно  $n + 1$ ; расстояние сдвига равно  $J$ .

Расслабление и будильник

$$M_z(t) = M_0 \cdot (1 - e^{(-t/T_1)}), \quad M_{xy}(t) = M_{xy}(0) \cdot e^{(-t/T_2)}$$

Сигнал свободного затухания индукции (EIS) и его преобразование Фурье:

$$s(t) = A \cdot e^{(-t/T_2^*)} \cdot \cos(\omega_0 t + \varphi)$$

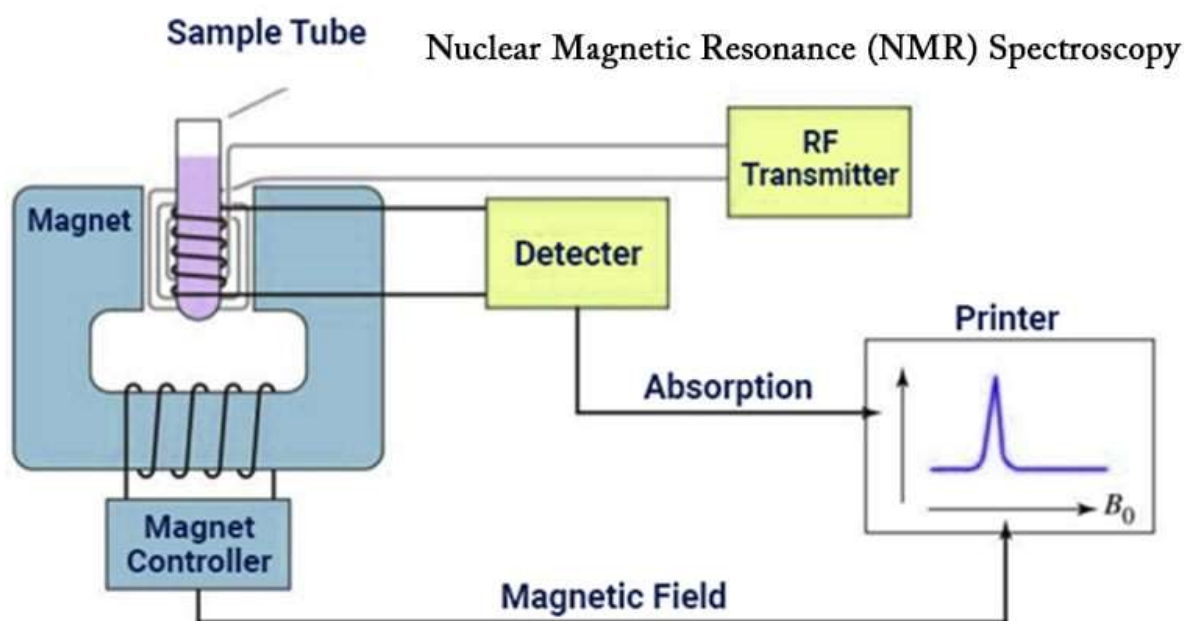
$$1/T_2^* = 1/T_2 + 1/T_2, \text{ бирхиллик}$$

Импульсный ЯМР и угловое вращение

$$\theta = \gamma \cdot B_1 \cdot \tau$$

$$\alpha E = \arccos(e^{(-T R / T_1)})$$

Здесь  $\tau$  — длительность импульса. Импульс с углом  $90^\circ$  создает поперечную намагниченность, а импульс с углом  $180^\circ$  ее инвертирует. Оптимальный угол (угол Эрнста) для времени между



### Количественные термины ЯМР

Выбирается режим полного восстановления ( $TR \geq 5 T_1$ ), при котором линейный интеграл пропорционален количеству сердечников, импульсы принимаются избирательно, а насыщение и покрытие линии контролируются. Коэффициент интегрирования определяет структурные соотношения.

### Двумерные и гетероядерные эксперименты

Корреляционные эксперименты позволяют картировать протон-протонные и протон-углеродные переходы, выявляя

структурную связь и дальнедействующие эффекты. Гетероядерные переходы обеспечивают условное возбуждение и передачу сигнала между различными типами ядер.

### Твердотельный YAMR

Для усреднения анизотропных взаимодействий используется вращение образца под магическим углом ( $\theta_{\text{MAS}} \approx 54,74^\circ$ ), поскольку дипольная анизотропия и анизотропия химического сдвига уменьшаются при следующем условии:

$$3 \cos^2 \theta - 1 = 0$$

Ядерные параметры и типичные диапазоны химического сдвига (раствор YAMR)

Основной	Естественная доля (%)	$\gamma/2\pi$ (МГц/Т)	Относительная чувствительность ( $^1\text{H} = 1$ )	Химический сдвиг (ppm)
$^1\text{H}$	99.98	42,577	1.00	0–12
$^{13}\text{C}$	1.10	10,705	0,016	0–220
$^{19}\text{F}$	100	40,052	0,83	–200 – +100
$^{31}\text{P}$	100	17,235	0,066	–150 – +250

Примечание: «ppm» — это относительная единица измерения в частях на миллион; диапазоны могут варьироваться в зависимости от химической среды.

Практические указания:

- Растворитель и основание: выбирается подходящий растворитель, чтобы он не заглушал сигналы раствора; химический сдвиг относительно основного вещества обнуляется.
- Равномерность магнитного поля: регулировка выполняется точно; улучшается  $T_2^*$ .
- Температура: поддерживается стабильной для минимизации химических реакций и влияния вязкости.
- Концентрация: Очень концентрированные растворы могут вызывать расширение линий; требуется соответствующее разбавление и чистота кюветы.

## Фармацевтическое применение

- а) Подтверждение молекулярной структуры и оценка стереохимии.
- б) Различение полиморфных форм, сольватов и степени сольтации (твердотельное состояние YAMR).
- с) Изучение конформации и водородных связей в растворе.
- д) Определение следовых количеств и относительная количественная оценка смесей.
- е) Мониторинг изменений (деградация, изомеризация) в растворах и твердых лекарственных формах.

ЯМР-спектроскопия предоставляет подробную информацию о структуре, взаимодействиях и динамике молекул посредством анализа поведения ядерных спинов в магнитном поле. Систематический анализ химических сдвигов, спин-спинового взаимодействия и параметров релаксации обеспечивает надежную идентификацию, контроль качества и количественную оценку фармацевтических веществ.



#### 4.2.1. Методы масс-спектрометрии и ЯМР для определения молекулярной структуры лекарственных веществ.

Методы масс-спектрометрии (МС) и ядерного магнитного резонанса (ЯМР) дополняют друг друга, обеспечивая точное и надежное определение структуры лекарственных веществ. МС предоставляет информацию о точной массе, элементном составе, зарядовом состоянии и фрагментах скелета посредством фрагментации; ЯМР обеспечивает картирование связей, определение близости и стереохимии посредством химического сдвига, спин-спинового взаимодействия и интегрирования.

Основные показатели и формулы MS

Отношение массы к заряду и зарядовое состояние иона:

$$q = z \cdot e, \quad m/z — \textit{tahlilning asosiy kattaligi}$$

Для многозарядных ионов разница между изотопными пиками связана с  $z$ :

$$\Delta(m/z) \approx 1 / z$$

В случае образования аддуктов (например, присоединения протона) отношение массы к заряду составляет:

$$m/z = \frac{M + z \cdot m_{\{A\}}}{z}$$

Здесь  $M$  — масса нейтральной молекулы, а  $m_A$  — масса дополнительного иона (например, протона). Выражение для  $M$  выглядит следующим образом:

$$M = z \cdot (m/z) - z \cdot m_A$$

Элементный состав, изотопный состав и степень ненасыщенности.

Элементный состав определяется удельной массой и изотопным составом (характерные двойные пики в присутствии хлора или брома). Степень ненасыщенности (количество колец и двойных связей) определяется следующим образом:

$$TUE = C - H/2 + N/2 + 1$$

Примечание: Кислород не влияет на терапевтическое значение облучения (TUE); галогены эквивалентны водороду и вычитаются из числа H.

Ключевые показатели и формулы YAMR

Химический сдвиг и его выражение в ppm:

$$\delta (ppm) = 10^6 \cdot \frac{\nu_{\text{namuna}} - \nu_{\text{tayanch}}}{\nu_{\text{tayanch}}}$$

Скалярная константа связи (в Герцах) определяет расстояние между мультиплетами; в упрощенном виде:

$$H_J = 2\pi \cdot J \cdot I \cdot S$$

Скорость интегрирования пропорциональна числу ядер; условия релаксации и насыщения должны быть выбраны правильно.

Алгоритм для совместного использования MS и YAMR

- 1) Идентификация молекулярного иона или дополнительного ионного пика в масс-спектрометре и построение набора элементных составов на основе точной массы (проверка по изотопному спектру).
- 2) Ограничьте количество колец и связей, рассчитав TUE; оцените вероятность ароматичности.
- 3) Идентификация алкильных, арильных, гетерофункциональных фрагментов и нейтральных остатков по карте фрагментации MS/MS.
- 4) Одномерные спектры протонов и углерода YAMR: химические сдвиги, типы мультиплетов, коэффициент интегрирования, класс сигнала углерода (например, CH, CH<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub>, четвертичный).
- 5) Картирование одинарных связей протон-углерод, многосвязных связей протон-углерод и протон-протонных связей с использованием двумерных корреляционных экспериментов.
- 6) Использование соотношения между константой связи и углом для определения стереохимии (приближение типа Карплюса).
6. Стереохимия: константа связи и угол связи.

$$J(\theta) \approx A \cdot \cos^2\theta + B \cdot \cos\theta + C$$

Здесь А, В, С — экспериментальные коэффициенты;  $\theta$  — двугранный угол между двумя протонами.

#### Динамика и равновесие

В случае быстрого обмена видимое изменение усредняется по акциям:

$$\delta ko'rinadigan = p A \cdot \delta A + p B \cdot \delta B$$

Здесь р А и р В — равновесные доли соответствующих состояний. Линии могут смещаться или сливаться в одну усредненную линию в зависимости от того, как скорость обмена соотносится с разностью химических сдвигов.

#### Показатели качества и валидация

Точность измерения массы в масс-спектрометрии обычно измеряется в частях на миллион:

$$xato (ppm) = 10^6 \cdot \frac{m o'lchangan - m nazariy}{m nazariy}$$

Способность к разделению:

$$R = \frac{m}{\Delta m_{\{FWHM\}}}$$

В методе YAMR оцениваются разделение линий, отношение сигнал/шум, точность химического сдвига, повторяемость интегрирования и пригодность условий релаксации.

#### Сравнение данных MS и YAMR

Модуль	Размер измерения	Структурная информация	Типичная точность/ограничение	Примечание
РС	м/з, изотопный состав	Элементарный состав, число связей/колец (TUE), фрагменты	Точная масса (в миллионах <sup>-1</sup> ), состояние z	Характерные двойные пики в присутствии хлора/брома; многозарядные ионы.
МС/МС	Фрагментные пики	Порядок соединения деталей	Разрыв цепи	Потери нейтральных веществ: вода, аммиак и т. д.
YAMR <sup>1</sup> H	Химический сдвиг, J, интеграл	Протонная среда и окрестности	точность на уровне частей на миллион, чувствительность к релаксации.	Интегрирование позволяет получить структурные соотношения.
YAMR <sup>13</sup> C	Химический сдвиг	Типы атомов скелета	Низкий естественный уровень; требуется интенсивный сбор.	Специальные эксперименты для различения CH/CH <sub>2</sub> /CH <sub>3</sub> и четвертичных соединений.
Двумерный YAMR	Корреляционные карты	Связь и удаленные соединения	На это нужно время.	Протон-протонное и протон-углеродное картирование

Общая последовательность действий

- 1) Определение значений  $M$  и  $z$  по масс-спектрометру; выбор элементного состава с высокой точностью и изотопной картиной.
- 2) Рассчитайте TUE и определите количество петель/связей; сократите список возможных скелетов.
- 3) Составьте карту фрагментации методом MS/MS; обратите внимание на потери нейтральных частиц.
- 4) Протонные и углеродные спектры YAMR: разделение основных групп, правильная нормализация интегрирования.
- 5) Определение связей в скелете молекулы по корреляционным YAMR-картам; анализ констант связей и углов для стереохимии.
- 6) Окончательная перепроверка: сравнение расчетных и экспериментальных спектров.

#### 11. Сборник формул

$$q = z \cdot e$$

$$m/z = \frac{M + z \cdot m_{\{A\}}}{z}$$

$$M = z \cdot (m/z) - z \cdot m_A$$

$$\Delta(m/z) \approx 1/z$$

$$TUE = C - H/2 + N/2 + 1$$

$$\delta (ppm) = 10^6 \cdot \frac{\nu_{\text{namuna}} - \nu_{\text{tayanch}}}{\nu_{\text{tayanch}}}$$

$$J(\theta) \approx A \cdot \cos^2\theta + B \cdot \cos\theta + C$$

$$xato (ppm) = 10^6 \cdot \frac{m_{\text{o'lchangan}} - m_{\text{nazariy}}}{m_{\text{nazariy}}}$$

$$R = \frac{m}{\Delta m_{\{FWHM\}}}$$

Совместное использование масс-спектрометрии и ЯМР позволяет определять молекулярную массу, элементный состав, скелетные связи и стереохимию лекарственных веществ на основе взаимодополняющих данных. Высокое разрешение и точность измерения массы в сочетании с точной калибровкой и условиями релаксации значительно повышают надежность результатов.

### 4.3 Анализы определения структуры в фармацевтическом синтезе

В процессе фармацевтического синтеза крайне важно достоверно подтвердить молекулярную структуру каждого промежуточного продукта, реакционной смеси и конечного соединения. Это не только указывает на правильность синтетического пути, но и позволяет заблаговременно выявлять появление нежелательных побочных продуктов, изомеров, солей или полиморфов. На практике для определения структуры используются методы ядерно-магнитной резонансной спектроскопии, инфракрасной спектроскопии, масс-спектрометрии высокого разрешения, хроматографического разделения (жидкостная и газовая хроматография) и твердофазной дифракции. Результаты анализа служат для документирования поэтапного контроля синтеза (контроль в процессе), полноты реакции, эффективности очистки и структурной идентификации конечного продукта.

Основной подход заключается в следующем: (i) выбирается метод, обеспечивающий корректный физико-химический сигнал на каждом этапе, (ii) источники ошибок ограничиваются калибровкой и внутренними стандартами, (iii) структурная согласованность подтверждается с помощью комбинации аналитических сигналов (например, химические сдвиги и константы спинового спаривания в ЯМР  $^1\text{H}$ , пики функциональных групп в ИК-спектре, удельная масса и изотопное распределение в масс-спектрометрии, время удерживания и оптическое вращение в хроматографии).

Ниже приведены некоторые из наиболее часто используемых вычислительных уравнений для фармацевтического синтеза и их области применения.

$$\delta = \left( \frac{\nu_s - \nu_{ref}}{\nu_0} \right) \times 10^6 \text{ ppm}$$

Химический сдвиг (ppm) — сравнение данных ЯМР со стандартом.

$$f = \frac{1}{2\pi c} \times \sqrt{\frac{k}{\mu}}$$

Частота молекулярных колебаний — используется для объяснения интенсивности и расположения ИК-линий.

$$k' = \frac{t_R - t_0}{t_0}$$

Хроматографический коэффициент удерживания — показатель степени разделения.

$$R_s = 2 \frac{(t_{R2} - t_{R1})}{w_1 + w_2}$$

Хроматографическое разрешение — это количественная оценка разделения двух пиков.

$$M = \sum n_i m_i$$

Точный расчет массы — проверка данных HRMS на соответствие формуле.

При анализе методом ядерного магнитного резонанса сначала получают спектры  $^1\text{H}$  и  $^{13}\text{C}$ , затем для более точного подтверждения топологических связей используют двумерные методы (COSY, HSQC, HMBC, NOESY). В инфракрасных спектрах исследуют основные полосы функциональных групп (например, карбонильная группа  $1700\text{--}1750\text{ см}^{-1}$ , валентные колебания O–H  $3200\text{--}3600\text{ см}^{-1}$ ). В масс-спектрометрии режим ионизации (ESI, APCI, MALDI) выбирают в соответствии с полярностью и летучестью синтезированного соединения, а элементную формулу подтверждают высокоточным измерением. Хроматографические методы (YSSX, GS) позволяют получить профиль следовых примесей в смеси; эффективность разделения оценивают по коэффициентам разрешения и удерживания. Для анализа изменений твердой фазы (полиморфизм, кросс-гидридные

формы) проводят порошковую рентгеновскую дифракцию и дифференциальную сканирующую калориметрию.

Ниже приведены общепринятые критерии оценки результатов: (а) химические сдвиги  $^1\text{H NMR}$  и регулярность мультиплетов соответствуют структуре; (б) корреляции  $^1\text{H NMR}/^2\text{D NMR}$  подтверждают ожидаемые дальние и ближние связи; (в) абсолютная погрешность массы HRMS составляет менее  $\pm 3$  ppm; (г) хроматографическое разрешение  $R_s \geq 1,5$ ; (д) в ИК-спектре присутствуют диагностические пики, а посторонние сигналы контролируются; (е) набор дифракционных пиков соответствует каталогу для полиморфа.

Карта структурного контроля, полученная в результате этапов синтеза:

Этап	Цель	Базовый метод	Ключевые параметры	Критерии приемки (пример)
Исходный материал	Идентификация и чистота	$^1\text{H NMR}$ , $^2\text{D NMR}$ , $^13\text{C NMR}$	Линии карбонильной группы/O–H; полнота распределения $^1\text{H}/^{13}\text{C}$ ; время удерживания	Химические сдвиги соответствуют ожидаемым; $R_s \geq 1,5$
1-й этап промежуточный	Контроль за ходом реакции	$^1\text{H NMR}$ , TLC/ $^2\text{D NMR}$ , $^13\text{C NMR}$	Затухание сигналов реагентов; появление новых сигналов.	Остаточное количество реагента $\leq 2\%$

2-й промежуточный этап	Изменение функциональной группы	IQ	Полосы C=O, N–H, O–H	Диагностический пик появляется/исчезает
После уборки	Оценка профиля смеси	YSSX/GS–MS	Коэффициент удержания $k'$ ; разрешение $R_s$	Каждый основной пик $R_s \geq 1,5$
Конечный продукт	Полное утверждение конструкции.	$^1\text{H}/^{13}\text{C}$ , HSQC, HMBC, HRMS	Химические сдвиги, корреляции, удельная масса	Погрешность HRMS $\leq \pm 3$ ppm
Управление твердой фазой	Полиморфная форма	PXRD, DSC	Дифракционная картина, теплота плавления	Совместимый с каталогом набор пиков
Оптические свойства	Проверка стереохимии	Хиральный YSSX, оптическое вращение	Время удержания, $[\alpha]_D$	Соответствие стандартному энантиомеру
Тест на стабильность	Продукты разложения	Стресс YSSX/MS	Новые пики, м/з	Специфические деградаты $\leq$ стандартные

Практический пример: на стадии образования амида сигнал N–H амидной группы должен появляться в спектре ЯМР  $^1\text{H}$  при

7,5–8,5 ppm, а в ИК-спектре должен наблюдаться сильный пик C=O в области 1650–1690 см<sup>-1</sup>. Точная масса иона [M+H]<sup>+</sup> в HRMS должна находиться в пределах ±3 ppm от теоретического значения, а основной пик продукта на хроматограмме YSSX должен быть отделен от соседних следовых примесей с R<sub>s</sub> ≥ 1,5.

## ГЛАВА V. СОВРЕМЕННЫЕ КОМБИНИРОВАННЫЕ ИНСТРУМЕНТАЛЬНЫЕ МЕТОДЫ

### 5.1. Комбинированные методы спектроскопии и хроматографии (SX–MS, GS–MS, YSSX–UB)

В фармацевтическом анализе для надежного обнаружения следовых количеств лекарственных веществ в сложных матрицах, структурной идентификации и контроля качества используются комбинированные платформы — жидкостная хроматография-масс-спектрометрия (ЖХ-МС), газовая хроматография-масс-спектрометрия (ГХ-МС) и высокоэффективная жидкостная хроматография с ультрафиолетовым детектором (ВЭЖХ-УФ). ЖХ-МС предпочтительна для полярных, термически нестабильных молекул, а ГХ-МС — для летучих, термически стабильных соединений. ВЭЖХ-УФ — это широко используемый, экономически эффективный и воспроизводимый метод количественного определения, играющий важную роль в контроле производства.

В SX–MS ионизация обычно осуществляется методом электроспрея (ESI) или химической ионизации при атмосферном давлении (APCI); в GS–MS используются электронная ионизация (EI) и химическая ионизация (CI). Масс-анализатор (квадрупольный, времяпролетный, орбитап) получает точную массу и картину фрагментации. В YSSX–UB концентрация оценивается непосредственно по значению сигнала поглощения УФ-излучения А. Хроматографическое разделение оптимизируется путем согласования градиентного режима, материала колонки и фаз.

В процессе разработки методики в основном выполняются следующие этапы: (i) выбор условий разделения, соответствующих химическим свойствам анализируемого соединения (рН подвижной фазы, содержание органических веществ, температура); (ii) настройка параметров детектора (длина волны УФ-излучения или напряжение источника МС и температура); (iii) построение калибровочной кривой и оценка параметров валидации (линейность, точность, воспроизводимость, LOD/LOQ, матричный эффект).

$$A = \varepsilon l C$$

При комбинированном определении YSSX–UB: поглощение  $A$  пропорционально концентрации  $C$  (закон Бира–Ламберта).

$$LOD = \frac{3.3 \sigma}{S}$$

Предел обнаружения (LOD) — выраженный в терминах шума  $\sigma$  и чувствительности  $S$ .

$$LOQ = \frac{10 \sigma}{S}$$

Предел количественного определения (LOQ) — это показатель стабильности метода при низких концентрациях.

$$\Delta ppm = \left( \frac{m_m - m_t}{m_t} \right) \times 10^6$$

Ошибка точности измерения массы — система HRMS при оценке соответствия.

$$ME\% = \left( \frac{A_{post} - A_{neat}}{A_{neat}} \right) \times 100\%$$

Матричный эффект — количественная оценка ослабления или усиления ионного излучения.

$$N = 5.54 \frac{t_R^2}{W_{1/2}}$$

Число теоретических тарелок является показателем эффективности разделения.

В SX–MS часто используется режим селективного мониторинга (MRM) с тройным квадрупольным масс-спектрометром (QQQ); в этом случае выбираются переходы (прекурсор → фрагмент), и фоновый шум резко снижается. В высокоточных масс-анализаторах на основе TOF или орбитапа формула проверяется на точность с точки зрения распределения массы и изотопов. В GS–MS спектры фрагментации EI сравниваются с библиотеками, и получается идентификационный балл. В YSSX–UB быстрое и надежное количественное определение выполняется даже в многокомпонентных смесях с помощью линейной калибровки.

Типичные критерии приемлемости для показателей качества: (а) линейность калибровки  $r^2 \geq 0,995$ ; (б) относительное стандартное отклонение во внутреннем контроле  $\leq 2\text{--}3\%$ ; (в) малое  $\Delta ppm$  в HRMS; (г) матричный эффект  $|ME\%| \leq 20\%$ ; (д) пригодность системы — разрешение, воспроизводимость времени удерживания и симметрия пиков находятся в пределах стандартов.

Сравнение интегрированных платформ:

Платформа	Объем	Преимущества	Ограничения	Ключевые параметры	Типичное применение
SX–MS	Полярные, термолабильные молекулы; метаболиты	Очень высокая чувствительность; структурная информация (MS/MS); широкий динамический	Матричный эффект; чувствительность к солям подвижной фазы и буферам.	Тип ионизации (ESI/APCI), температура источника, энергия фрагментации	Концентрация препарата в плазме крови, анализ биоэквивалентности.

		диапазон.			
ГС-МС	Летучие, термостойкие соединения; те, которые могут подвергнуться дериватизации.	Классические спектры библиотек и EI; высокая селективность.	Необходимость дериватизации; не подходит для полярных веществ с высокой молекулярной массой.	Температурный режим колонки, поток газа-носителя, тип ионизации (EI/CI)	Остаточные растворители, летучие соединения, ароматические профили
YSSX-UB	Широкий спектр хромофоров соединений; контроль производства.	Экономичный, стабильный, простой в эксплуатации; высокая повторяемость результатов.	Не предоставляет структурной информации; требует наличия хромофора.	Длина волны УФ-излучения, градиент, размер колонки и диаметр частиц.	Рутинный количественный анализ, контроль эффективности очистки.

Практическое замечание: При использовании внутреннего стандарта при калибровке YSSX-UB матричные эффекты частично компенсируются. В SX-MS желательно, чтобы переходы MRM охватывали как минимум два независимых фрагмента, один из которых используется в качестве количественного канала, а другой — в качестве подтверждающего. В GS-MS высокий показатель согласования (например,  $\geq 80\%$ ) спектров EI повышает достоверность идентификации.

### **5.1.1 Твердофазная микроэкстракция (ТФЭ)**

Твердофазная микроэкстракция (ТФЭ) — это экономичный, практически не требующий растворителей метод пробоподготовки, который минимизирует матричные эффекты и может быть непосредственно интегрирован с хроматографическими спектроскопическими системами. ТФЭ основана на равновесии: происходит распределение между субстратом (полимерным или гибридным сорбентом) и аналитами в жидкой или газовой фазе; количество, извлеченное в состоянии равновесия или в течение заданного времени, пропорционально концентрации аналита. Основные режимы ТФЭ — это прямая иммерсионная (DI-SPE), экстракция в головной фазе (HS-SPE) и тонкопленочная (TFME) экстракция, которые используются в

ситуациях, когда требуется жидкая матрица, летучие компоненты и большая площадь поверхности, соответственно.

Покрытия капилляров или волокон QFME (PDMS, PA, DVB/CAR, PDMS/DVB, металлоорганические гибриды) собирают аналит путем сорбции или абсорбции. Затем десорбция аналита осуществляется с помощью нагреваемой камеры хроматографического инжектора (термическая десорбция с GS-MS) или путем добавления в поток в жидкой фазе (жидкостная десорбция для SX-MS или YSSX-UB). Режим ионизации и процесс десорбции, адаптированные к детектору, обеспечивают высокую чувствительность с минимальными потерями.

С термодинамической точки зрения, в QFME распределение аналита между покрытием волокна (фаза *f*) и раствором образца (фаза *s*) описывается коэффициентом распределения. С кинетической точки зрения, диффузия и сопротивление поверхностному массопереносу определяют скорость достижения равновесия; такие факторы, как перемешивание, температура, взбалтывание, засоление и рН, существенно изменяют эту скорость. В режиме HS-QFME задействованы равновесия типа Генри, и учитывается трехфазное (жидкость-газ-волокно) распределение.

Типичная последовательность разработки метода выглядит следующим образом: (i) выбор подходящего покрытия на основе полярности, рКа, летучести, значений logP/logD аналита; (ii) оптимизация рН, ионной силы (соление), температуры и времени; (iii) адаптация условий десорбции и параметров детектора; (iv) калибровка и валидация (линейность, точность, воспроизводимость, LOD/LOQ, коэффициент извлечения, матричный эффект); (v) оценка стабильности и переноса (удержание аналита в волокне); (vi) документирование критериев пригодности системы.

$$K_{fs} = \frac{C_f}{C_s}$$

Коэффициент распределения — между покрытием волокна (f) и образцом (s).

$$n_t = \frac{K_{fs} V_f V_s}{K_{fs} V_f + V_s} C_s^0$$

Количество вещества, которое необходимо отмерить на весах, представляет собой вещество, полученное методом прямого погружения (DI-QFME).

$$EF = \frac{n_t}{V_f C_s^0}$$

Коэффициент обогащения — это отношение концентрации в волокне к исходной концентрации в образце.

$$R(\%) = \frac{n_t}{C_s^0 V_s} \times 100\%$$

Восстановление (%).

$$n_t = n_{eq} (1 - e^{-kt})$$

Кинетика массопереноса представляет собой приближение первого порядка.

$$\log\left(\frac{S_0}{S}\right) = k_s c_{tuz}$$

Засолка может увеличить межфазное распределение летучих компонентов.

$$n_t = \frac{K_{fh} V_f}{K_{fh} V_f + V_h + \frac{V_s}{K_{hs}}} C_s^0$$

Упрощенное выражение для трехфазного равновесия HS-QFME (f-h-s).

При оптимизации параметров pH контролирует степень ионизации кислотных/основных частиц; нейтральные частицы с большей вероятностью связываются с покрытием. Засолка (NaCl, MgSO4) увеличивает ионную силу, вытесняя летучие органические соединения в газовую фазу и повышая чувствительность HS-QFME. Повышение температуры ускоряет достижение равновесия, но необходимо учитывать риск

термического разложения на стадии десорбции. Время и скорость перемешивания могут истончить слой массопереноса и увеличить количество экстракции; однако слишком быстрое перемешивание может привести к механическому повреждению волокна.

Десорбция: При термической десорбции с помощью ГС-МС регулируют температуру инжектора, программу работы разделительной колонки и поток газа-носителя; при жидкостной десорбции с помощью СХ-МС или ЙССХ-УБ важны соответствующий растворитель, скорость потока и концентрация растворителя. Использование внутреннего стандарта компенсирует различия в степени извлечения. Валидация обеспечивает линейность калибровки (не менее 5–7 точек),  $r^2 \geq 0,995$ , точность и воспроизводимость (относительное стандартное отклонение  $\leq 5\%$ ), а также чувствительность; пределы обнаружения (LOD) и количественного определения (LOQ) оцениваются с использованием следующих соотношений.

$$LOD = \frac{3.3 \sigma}{S}$$

Предел обнаружения (LOD).

$$LOQ = \frac{10 \sigma}{S}$$

Предел количественного определения (LOQ).

Контроль качества: для оценки пригодности системы контролируются повторяемость результатов от волокна к волокну, перенос образца, полнота десорбции, стабильность покрытия (количество циклов десорбции-абсорбции) и стабильность отношения сигнал/шум. Кроме того, для предотвращения загрязнения регулярно заменяются флаконы с образцами, материал крышки и расходные материалы инжектора. При смене матриц рекомендуется проводить повторную калибровку или использовать калибровочные линии, связанные с матрицей.

Руководство по режимам QFME и выбору покрытия (сравнительная таблица):

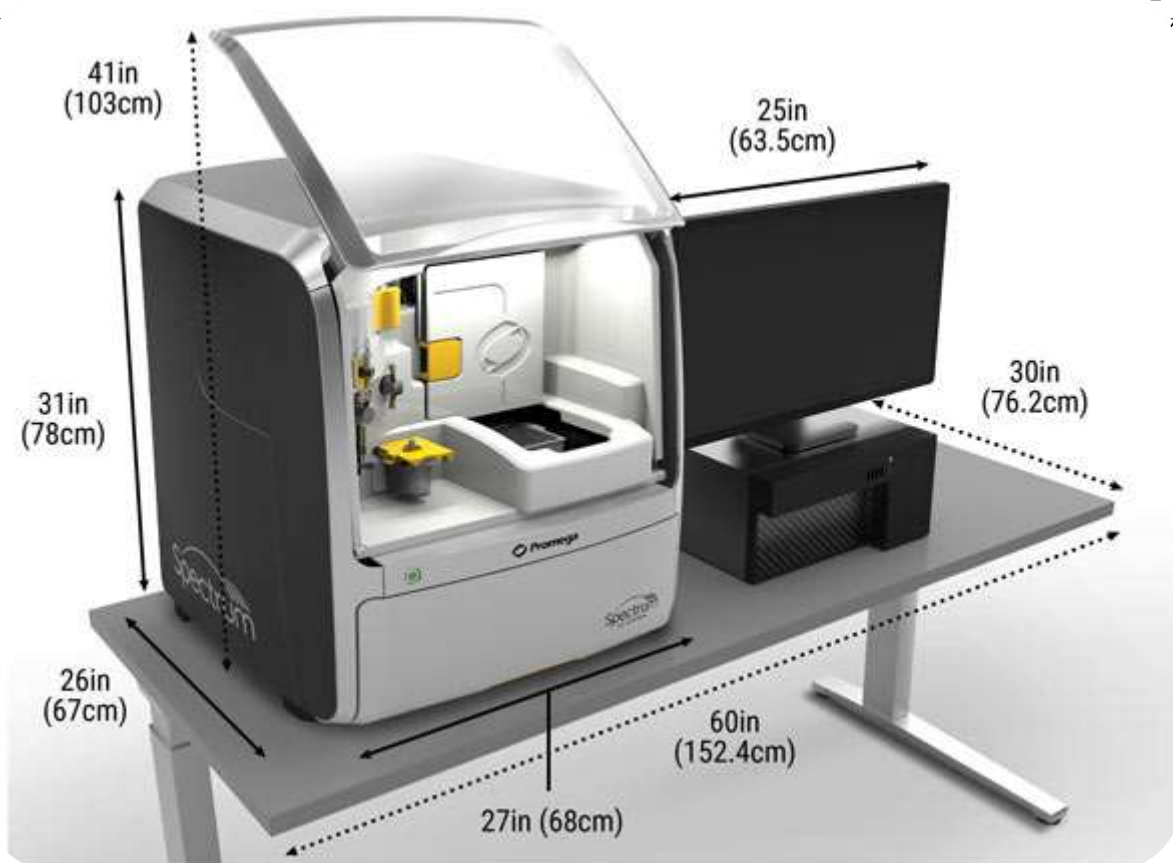
Режим	Краткое резюме	Преимущества	Ограничения	Типичное покрытие	Типичное применение
ДИ-КФМЭ	Погружение волокна непосредственно в жидкий образец.	Быстрая балансировка; легкий вспомогательный инструмент; высокая степень обогащения	Матричные помехи могут быть высокими; повреждение покрытия.	РА, PDMS/DVB	Водные растворы лекарственных веществ, биологические жидкости (осадки белков).
HS-QFME	Извлечение летучих компонентов в из первичной фазы	Очень низкий матричный эффект; продлевает срок службы волокна.	Подходит только для летучих веществ; достижение равновесия может быть отложено.	ПДМС, CAR/ПДМС	Следы остаточных растворителей, ароматических соединений, органических растворителей.
TFME	Тонкопленочный коллектор с большой поверхностью	Большая площадь поверхности; быстрая кинетика; гибкий формат	Может потребоваться специальный держатель; проблемы с механической стабильностью.	Гибридные полимеры, покрытия на основе металлоорганических каркасов (МОК).	Анализ следовых количеств полициклических ароматических соединений, обширное профилирование метаболитов.

Практический пример: при анализе гомологов бензола в воде методом HS-QFME–GS–MS погрешность измерения массы  $\Delta m$  была минимальной, а степень извлечения находилась в диапазоне

80–105% при условиях соления 30% NaCl, температуре 60 °C, 20 мин экстракции и 5 мин термической десорбции; при использовании внутреннего стандарта было достигнуто относительное стандартное отклонение  $\leq 5\%$ .

### 5.1.2 Капиллярный электрофорез (КЭ)

Капиллярный электрофорез (КЭ) — это высокоэффективный метод разделения, основанный на разделении заряженных частиц и молекул под воздействием электрического поля за счет разницы в скоростях их движения внутри капилляра. Главное преимущество КЭ заключается в том, что благодаря наличию электроосмотического потока в капиллярах из плавленого кварца с малым внутренним диаметром (25–75 мкм), которые менее подвержены растрескиванию, формируется практически плоский, а не параболический профиль потока, в результате чего снижается диффузия массопереноса и значительно увеличивается количество теоретических тарелок. КЭ используется в фармацевтическом анализе для разделения ионизированных лекарственных препаратов, неорганических ионов, пептидов, белков, энантиомеров и малых органических катионов/анионов; он включает такие режимы, как капиллярный зонный электрофорез



Механизм разделения основан на двух основных механизмах: электрофоретическом дрейфе и электроосмотическом потоке (ЭОП). В то время как электрофоретический дрейф зависит от заряда и гидродинамического размера, ЭОП вызывается зарядом стенки капилляра и чувствителен к рН и ионной силе. В некоторых режимах нейтральные молекулы также могут быть разделены с помощью МЭКХ за счет различия в распределении с частицами поверхностно-активного вещества. Преимуществами КЭ являются низкий расход, высокое разрешение и короткое время анализа; основными ограничениями являются низкая чувствительность некоторых молекул к УФ-абсорбционному детектору и возможность образования засоров на стенках капилляра (загрязнение) из-за примесей (остаточных белков, полимеров), попадающих в поток.

Типичная последовательность разработки метода выглядит следующим образом: выбираются природа и рН буфера; оптимизируются ионная сила и добавки (органические добавки, циклодекстрины, поверхностно-активные вещества); выбираются напряжение и температура; контролируется метод ввода образца (гидродинамический или электрокинетический) и зависящее от времени расширение зоны; подбирается детектор (УФ, диодный массив, флуориметрический или масс-спектрометрический). Проверяются калибровка, линейность, точность, воспроизводимость, пределы обнаружения/количественного определения и пригодность системы.

$$\mu_{ep} = \frac{v_{ep}}{E}$$

Электрофоретическая подвижность — это отношение скорости молекулы в электрическом поле.

$$\mu_{eo} = \frac{\varepsilon \zeta}{\eta}$$

Электроосмотическая подвижность зависит от диэлектрической постоянной, дзета-потенциала и вязкости раствора.

$$\mu_{eff} = \mu_{ep} + \mu_{eo}$$

Общая подвижность представляет собой сумму электрофоретического и электроосмотического вкладов.

$$t_m = \frac{L_{eff}}{\mu_{eff} E} = \frac{L_{eff} L_{tot}}{\mu_{eff} V}$$

Время миграции зависит от эффективной длины, натяжения лесного покрова и подвижности.

$$N = \frac{\mu_{eff} V L_{eff}}{2 D L_{tot}}$$

Теоретическое число пластин определяется диффузией и электрическим полем.

$$R_s \approx \frac{|\Delta \mu| V L_{eff}}{4 D_{avg} L_{tot}}$$

Разрешение — это приближение, определяемое разницей в подвижности и диффузии.

$$I = \kappa E \pi a^2 = \kappa \frac{V}{L_{tot}} \pi a^2$$

Сила тока зависит от проводимости, электрического поля и поперечного сечения капилляра.

$$P = I V = \kappa E^2 \pi a^2 L_{tot}$$

Джоулево нагревание — выделение тепла — может снизить четкость разделения.

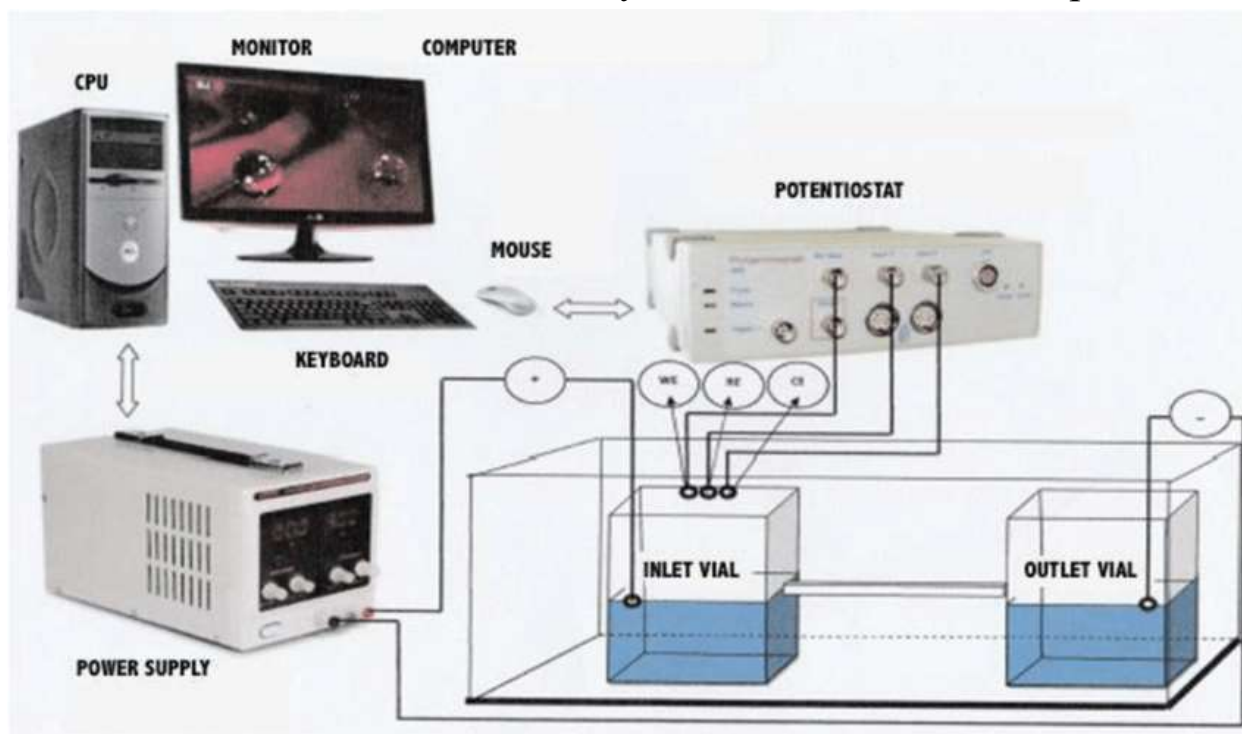
$$\lambda_D = \sqrt{\frac{\epsilon R T}{2 F^2 I}}$$

Длина Дебая — представляет собой толщину вторичного электрического слоя, влияет на ЕОО и дзета-потенциал.

Буферные растворы: Широко используются анионные системы, такие как борат, фосфат, ацетат; рН контролирует электроосмотический поток, определяя степень ионизации силанольных групп в стенке капилляра. По мере увеличения ионной силы слой Дебая сжимается, а дзета-потенциал уменьшается; это может ослабить электроосмотический поток и

увеличить время миграции. Органические добавки (метанол, ацетонитрил) изменяют вязкость и диэлектрическую постоянную и улучшают селективность. Поверхностно-активные вещества (например, додецилсульфат натрия) позволяют разделять нейтральные вещества в режиме МЭКХ. Добавки циклодекстрина широко используются для оценки стереохимии.

**Введение:** Наиболее распространены гидродинамическое введение (под давлением или за счет разницы высот) и электрокинетическое введение. При электрокинетическом введении обогащение происходит, когда аналит имеет высокий заряд и подвижность; однако могут быть введены и компоненты матрицы. Расширение зон зависит от диффузии, джоулева нагрева и объема вводимого раствора; уменьшение внутреннего диаметра капилляра облегчает рассеивание тепла, но для поддержания точности необходимо повысить чувствительность детектора.



**Обнаружение:** В УФ-видимых детекторах обычно используются полосы 200–214 нм или 254 нм; флуориметрическое обнаружение очень чувствительно в присутствии флуорофорных групп. В сочетании с электрораспылительным источником КЕ–MS предпочтительны летучие буферы; нелетучие буферы

ослабляют сигнал. В фармацевтической практике в Узбекистане КЕ эффективно используется для быстрого контроля качества, обнаружения следовых количеств ионов во вспомогательных веществах, энантиомерного загрязнения в лекарственных формах и количественной оценки неорганических противоионов.

Валидация и пригодность системы: общепринятыми считаются линейность  $r^2 \geq 0,995$ , точность и воспроизводимость  $RSD \leq 3-5\%$ . Значения LOD/LOQ оцениваются на основе подхода «сигнал-шум» или калибровочной регрессии. Требуется регенерация капилляров (промывка, кислотно-щелочные циклы) и воспроизводимость времени миграции в течение нескольких циклов.

Сравнительная таблица режимов капиллярного электрофореза:

Режим	Сущность	Преимущества	Ограничения	Ключевые параметры	Типичное применение
Чехия	Зоны ионизированных частиц разделены различиями в подвижности.	Простой буферный раствор; быстрый; обеспечивает высокую плотность колоний.	Низкая селективность по отношению к нейтральным веществам	pH, ионная сила, напряжение, температура	Препараты, содержащие катионы/анионы, неорганические ионы
ME КК	Различия в распределении частиц поверхностно-активного вещества	Разделение возможно и в нейтральных веществах.	Образец чувствителен к концентрации и температуре.	концентрация SDS, добавление органических веществ, pH	Ароматические нейтральные соединения, сложные лекарственные препараты
CG	Разделение по	Выделяются	Подготов	Тип геля,	Белки,

Е	размеру в гелевой матрице	я биополимеры с высокой молекулярной массой.	ка геля и окклюзия капилляров	пористость, натяжение	фрагменты ДНК
СIE F	Сосредоточение внимания на изоэлектрической точке в градиенте рН	Высокая точность определения изоэлектрической точки	Стабильность градиента и фаза миграции	Состав амфолита, напряжение, температура	Белковые изоформы, пептиды
NA SE	КЭ в безводных или смешанных растворах	Селективность по отношению к малорастворимым веществам	Безопасные и взрывоопасные растворы	Тип раствора, проводимость, напряжение	Плохо растворимые в воде лекарственные препараты
ЦЕ К	Электрохроматографическое разделение с электроосмотическим потоком	Высокая разделяющая способность, селективность колонки	Подготовка колонки — сложный процесс.	Стационарная фаза, рН, напряжение	Изомеры и структурно родственные соединения

Практический пример: В режиме капиллярного электрофореза (КЭ) при разделении катионного лекарственного препарата в фосфатном буфере при рН 2,5 скорость экспонирования уменьшается, а миграция аналита к катоду замедляется; при повышении рН до 6,5 ионизация силанольных групп увеличивается, скорость экспонирования ускоряется, и разница во времени миграции возрастает. При напряжении 20–30 кВ, длине капилляра 50–60 см и внутреннем диаметре 50 мкм значение  $N$  количественно выше, а значение  $R_s$  может значительно

увеличиться при переходе к микроэлектрохимической капиллярной хроматографии (МЭКХ).

## **5.2. Анализ оптических датчиков и биосенсоров.**

Оптические сенсоры и биосенсоры основаны на регистрации и количественной оценке оптических сигналов, возникающих в результате взаимодействия с аналитом посредством таких явлений, как поглощение света, рассеяние, интерференция, люминесценция или поверхностный плазмонный резонанс. В фармацевтическом анализе такие устройства используются не только для быстрого и чувствительного определения

концентрации лекарственного вещества, но и для онлайн-мониторинга кинетики связывания биомолекул, дифференциации полиморфных форм, взаимодействия с наноматериалами или оценки влияния вспомогательных веществ в готовых лекарственных препаратах. В качестве преобразователей широко используются абсорбционная спектроскопия (YSSX-UB), флуориметрическая/лазерно-возбужденная люминесценция, фотонные резонаторы (кольцевой резонатор, фотонный кристалл), рамановская спектроскопия/SERS, интерферометрические волоконные сенсоры и поверхностный плазмонный резонанс (SPR/LSPR). Биосенсоры включают антитела, аптамеры, ферменты, рецепторные белки, лиганд-чувствительные макромолекулы и молекулярно детектируемые полимеры.

Функционализация поверхности: карбоксильные/аминные группы вводятся на поверхности золота или оксида кремния с использованием самоорганизующихся монослоев (SAM); ковалентные связи образуются с помощью химии EDC/NHS. Противообрастающие слои (полиэтиленгликоль, цвиттерионные полимеры) уменьшают нежелательные эффекты неспецифической адсорбции. В системах поверхностного плазмонного резонанса (SPR) и интерферометрии оптические параметры, связанные с поверхностной плотностью ( $\Gamma$ ), степенью связывания ( $\theta$ ) и изменениями показателя преломления, регистрируются в реальном времени в виде сенсограммы.

Показатели аналитической эффективности: чувствительность (отношение изменения сигнала к концентрации), пределы обнаружения и количественного определения (LOD/LOQ), диапазон линейности, селективность/специфичность, время отклика, регенерация/повторное использование, долговременная стабильность (дрейф), устойчивость к температуре и pH. Калибровка выполняется с помощью внешнего стандарта, внутреннего стандарта или метода стандартных добавок; при наличии матричных эффектов оцениваются изменения наклона. В

обработке сигнала используются алгоритмы вычитания фона, сглаживания базовой линии, дифференциального измерения и фильтрации (например, сглаживание Савицкого-Голея).

Кинетические модели биосенсоров часто основаны на связывании Лангмюра: количество сайтов распознавания ограничено, связывание является моновалентным и обратимым. Из сенсограмм SPR/LSPR определяются  $k_{on}$  и  $k_{off}$  для стадий ассоциации и диссоциации, а константа равновесия определяется как  $K_D = k_{off}/k_{on}$ . В флуориметрических биосенсорах эффективность FRET резко меняется в зависимости от расстояния и указывает на то, что связывание происходит в нанометровом масштабе. В ферментативных оптических биосенсорах потребление субстрата изменяется в соответствии с законом Михаэлиса–Ментен; оптический сигнал (люминесценция или интенсивность окрашенного продукта) пропорционален скорости.

$$A = \varepsilon l C$$

Закон Бера-Ламберта: поглощение  $A$  пропорционально концентрации  $C$ .

$$A = -\log_{10}\left(\frac{I}{I_0}\right)$$

Выражение поглощения через отношение интенсивностей.

$$\theta = \frac{C}{C + K_D}$$

Коэффициент покрытия равновесия Лангмюра.

$$K_D = \frac{k_{off}}{k_{on}}$$

Определение константы диссоциации  $K_D$ .

$$S_\lambda = \frac{\Delta n}{\Delta \lambda}$$

Чувствительность по длине волны (нм/RIU).

$$E = \frac{1}{1 + \frac{r^6}{R_0}}$$

Эффективность FRET сильно ( $r^{-6}$ ) зависит от расстояния.

$$v = \frac{V_{max} C}{K_M + C}$$

Скорость экспрессии (пропорциональная оптическому сигналу) в ферментативном биосенсоре.

$$LOD = \frac{3.3 \sigma}{S}$$

Предел обнаружения (LOD).

$$\Delta \lambda = \frac{\lambda}{n_g} \Delta n_{eff}$$

Сдвиг резонанса в зависимости от изменения показателя преломления в фотонных резонаторах.

Выбирается аппаратура: источник (лампа или лазер широкого спектра), оптический путь (кювета, микроканал, волоконный волновод, резонатор), детектор (фотодиод, диодная матрица, ПЗС-матрица, фотоумножитель) и геометрия измерения (пропускание, отражение, эванесцентное поле). В системах SPR/LSPR важны угловое/ $\lambda$ -сканирование, противоточная промывка и процессы регенерации. В датчиках Рамана/SERS выбираются длина волны лазера, горячие точки подложки и стратегии снижения фонового флуоресцентного излучения (более длинная  $\lambda$ , временное разделение).

Разработка метода: (i) схема иммобилизации биораспознающих молекул и процедура блокировки поверхности; (ii) калибровочный интервал, соответствующий целевым концентрациям; (iii) оптимизация температуры, ионной силы, pH и скорости потока; (iv) оценка матричного эффекта (сравнение наклонов, метод стандартных добавок); (v) тестирование растворов для регенерации; (vi) валидация в соответствии с принципами ICH Q2(R2)/Q14: линейность ( $r^2 \geq 0,995$ ), точность, воспроизводимость, стабильность и робастность.

Практический пример: В иммуносенсоре на основе антител с использованием поверхностного плазмонного резонанса (SPR)

образцы подаются в градиенте буфера через проточную ячейку при 25 °С для обнаружения антибиотика С; во время фазы ассоциации сенсограмма R(t) увеличивается, а во время фазы диссоциации она экспоненциально уменьшается. Из подобранной модели получены  $k_{on}$ ,  $k_{off}$  и  $K_D$ ; чувствительность оценивается в терминах  $S_\lambda$  с пределом обнаружения 0,5–1,0 нг/мл. В нанопучках с локализованным поверхностным плазмонным резонансом (LSPR) высокий наклон сигнала  $\Delta\lambda$  позволяет проводить быстрый анализ даже в полевых условиях при компактной архитектуре чипа.

Сравнение платформ оптических/биосенсоров (одна таблица):

Платформа	Механизм преобразователя	Биорекогнитивор	Преимущества	Ограничения	Ключевые параметры	Типичное применение
Абсорбция (УБ)	Абсорбция Бира-Ламберта	Фермент, антитело, аптамер	Простой, экономичный, с широкой линейностью.	Низкая специфичность; фон матрицы	$\epsilon$ , $\lambda$ , длина пути, выравнивание оснований	Стандартное количественное определение, стабильные формы
Флуориметрический	Интенсивность/время жизни люминесценции	Флуорофорный лиганд, аптамер	Очень высокая чувствительность; чувствительность к расстоянию (FRET)	Фотодеградация, выцветание; фоновая флуоресценция	Возбуждение/излучение $\lambda$ , E=FRET, временная шкала	Мониторинг биодоступности, на уровне следовых количеств.
СПР	Угол резонанса поверхностного плазмона/сдвиг $\lambda$	Антитело, рецептор	Кинетика в реальном времени, без использования	Чувствительность к температуре/дрейфу; сложное аппаратное обеспечение	$S_1$ , $k_{on}/k_{off}$ , $K_D$ , регенерация	Иммуносенсор, малые молекулы

			меток.	ие.		
LSPR	Резонансный сдвиг в наноструктурах	Аптамер, антитело	Компактный чип, высокая чувствительность	Спектральная стабильность, разница между партиями	DI, RIU, функциональность поверхности	Портативные экспресс-тесты
Рамановская спектроскопия/SERS	Усиление рамановского рассеяния (горячие точки)	Аптамер, МИП	Молекулярный «отпечаток пальца»	Повторение субстрата, фон	Длина волны лазера $\lambda$ , мощность, время интегрирования	Идентификация, профиль смеси
Интерферометрический	Фазовый сдвиг/резонанс	Антитело, белок	Пастердриф, высокое разрешение	Подготовка устройства — сложный процесс.	$\Delta\phi$ , $\Delta\lambda$ , $n_{eff}$ , T control	Кинетика, небольшие изменения индекса
Волоконно-оптический датчик	Поглощение эванесцентного поля	Фермент, аптамер	Дистанционное измерение, компактный	Механическая стабильность, эффект сцепления	Тип волокна, радиус изгиба, $d_p$	Онлайн-мониторинг, поток жидкости

### 5.2.1. Фармацевтический анализ с использованием компьютерных технологий и искусственного интеллекта.

В фармацевтическом анализе компьютерные технологии и методы искусственного интеллекта (ИИ) используются для автоматизации обработки, прогнозирования и поддержки принятия решений на основе больших объемов сигналов и метаданных, полученных с помощью спектроскопии, хроматографии, масс-спектрометрии, ядерно-магнитного резонанса, рамановской спектроскопии, микроскопии и сенсорных систем. В рамках технологий аналитического контроля процессов (PAT) и проектирования качества (QbD) ИИ предоставляет критерии реального времени (RTRT) для контроля, оптимизации и выпуска продукции в режиме реального времени.

Конвейер обработки данных: (i) сбор данных (исходный сигнал, журналы приборов); (ii) предварительная обработка (сглаживание базиса, сглаживание, фильтрация шума, SNV/MSC, нормализация, производные); (iii) извлечение признаков (площадь/высота пика, время сбора данных, спектральные показатели, текстуры изображений); (iv) обучение/валидация (k-кратное отсечение, внешняя валидация); (v) развертывание и мониторинг (периферийное устройство/сервис, журнал аудита).

Алгоритмы: PCA и PLS используются в многомерном спектральном анализе, PLS-DA и дискриминантные методы — в классификации, машины опорных векторов (SVM) и ансамблевые модели (случайный лес, градиентный бустинг) — в сегментации сложных границ, а глубокие нейронные сети — в анализе изображений и временных рядов. Для обеспечения интерпретируемости используются методы оценки важности признаков и методы, основанные на правилах.

$$y' = \beta_0 + \sum \beta_j x_j$$

Линейная количественная модель.

$$L = \Sigma (y_i - y'_i)^2 + \lambda \Sigma (\beta_j)^2$$

Функция потерь гребневой регрессии.

$$X = T P^T + E$$

Разложение методом главных компонент (PCA).

$$RMSE = \sqrt{\frac{1}{n} \Sigma (y_i - y'_i)^2}$$

Среднеквадратичная ошибка.

$$Aniqlik = \frac{TP + TN}{TP + TN + FP + FN}$$

Точность.

$$Aniqilik = \frac{TP}{TP + FP}$$

$$Qamrov = \frac{TP}{TP + FN}$$

$$F1 = \frac{2PR}{P + R}$$

Точность, полнота и F1.

$$L = - [ y \ln(p) + (1 - y) \ln(1 - p) ]$$

Бинарная энтропия пересечения.

$$BS = \frac{1}{n} \Sigma (p - y)^2$$

Индикатор Бриера.

$$LOD = \frac{3.3 \sigma}{S}$$

Предел обнаружения (LOD).

$$LOQ = \frac{10 \sigma}{S}$$

Предел количественного определения (LOQ).

$$\theta_{t+1} = \theta_t - \eta \nabla_{\theta} L(\theta_t)$$

Обновление по градиенту.

$$u(t) = K_p e(t) + K_i \int e(\tau) d\tau$$

Управление PI — для ПАТ.

Предварительная обработка сигнала включает сглаживание базиса (полигон/сплайн), сглаживание Савицкого-Голея, вейвлет-преобразование и векторную нормализацию; динамическое согласование по времени сглаживает пики в хроматографии. Валидация выполняется с помощью k-кратной перекрестной проверки и внешнего набора параметров; анализ остатков и стабильность калибровки постоянно контролируются.

### **5.3. Перспективы применения современных методов анализа фармацевтических препаратов.**

Новые технологии выводят фармацевтический анализ на более быстрый, надежный и экологически устойчивый уровень. Ассортимент приборов расширяется и включает в себя высокоразрешающие приборы (HRMS, Orbitrap/TOF, настольные ЯМР-спектрометры), двумерные системы разделения (LC×LC, GC×GC), системы ионизации в условиях окружающей среды (DESI, DART), оптические резонаторы (SPR/LSPR, кольцевые резонаторы), а также микрофлюидные системы «лаборатория на чипе». Встроенные/онлайн-датчики, интегрированные с технологиями технологического анализа (PAT), обеспечивают мониторинг в реальном времени, а искусственный интеллект (ИИ) и хемометрика позволяют автоматизировать принятие решений.

С точки зрения жизненного цикла аналитической процедуры, этапы разработки метода, валидации, внедрения и непрерывного мониторинга взаимосвязаны. Документация, перенос калибровки, управление изменениями и тестирование валидации системы имеют особое значение для анализа на основе моделей (PLS/SVM, глубокое обучение) в соответствии с рекомендациями ICH Q2(R2) и Q14. Расход растворителей и отходов сокращается в соответствии с принципами «зеленой» аналитики; используются QFME/TFME, CE/CEC, короткие колонки и низкие скорости потока.

Объединение данных — комбинирование сигналов от различных детекторов и платформ — повышает достоверность идентификации при анализе сложных смесей. Конвейер обработки данных: очистка сигнала (сглаживание основания, сглаживание), извлечение признаков (площадь пика, спектральные индикаторы), многомерный анализ (PCA/PLS), прогнозирование (регрессия/классификация) и, наконец, мониторинг. Стабильность модели обеспечивается k-кратной перекрестной проверкой, внешней валидацией, перекалибровкой дрейфа и переносом между устройствами.

В непрерывном производстве основной целью является онлайн-контроль качества в режиме реального времени (RTRT): комбинация оптических, электрохимических и масс-спектрометрических датчиков автоматически проверяет критерии выпуска. Цифровые двойники позволяют моделировать и оптимизировать процессы; бюджеты неопределенности и анализ чувствительности быстро рассчитываются с помощью SI. Недорогие портативные датчики широко используются в контроле качества в цепочке поставок (логистике).

$$A = \varepsilon l C$$

Закон Бера-Ламберта: поглощение  $A$  пропорционально концентрации  $C$ .

$$A = -\log_{10} \left( \frac{I}{I_0} \right)$$

Выражение поглощения через отношение интенсивностей.

$$E = E_0 + \frac{RT}{zF} \ln a_i$$

Уравнение Нернста связывает потенциал с ионной активностью.

$$k = A \exp\left(-\frac{E_a}{RT}\right)$$

Соотношение Аррениуса — зависимость между кинетическими параметрами и температурой.

$$C_t = C_0 \exp(-k t)$$

Модель разложения первого порядка.

$$\ln C_t = \ln C_0 - k t$$

Линеаризованное представление модели первого порядка.

$$t_{90} = \frac{\ln(100/90)}{k}$$

$t_{90}$  — это время, за которое достигается 90% удержания при распаде первого порядка.

$$LOD = \frac{3.3 \sigma}{S}$$

Предел обнаружения (LOD).

$$LOQ = \frac{10 \sigma}{S}$$

Предел количественного определения (LOQ).

$$S/N = \frac{H}{\sigma}$$

Отношение сигнал/шум — показатель качества обнаружения.

$$u_{c(y)} = \sqrt{\sum (\partial y / \partial x_i)^2 (u(x_i))^2}$$

Суммарная неопределенность — согласно правилу распространения ошибок.

$$y = b_0 + b_1 x; S = b_1$$

Калибровочная линия и наклон  $S$ .

$$\Delta ppm = \left( \frac{m_{meas} - m_{true}}{m_{true}} \right) \times 10^6$$

Погрешность измерения массы методом HRMS (ppm).

Бюджет неопределенности: стандартные ошибки наклона и пересечения калибровочной кривой, инструментальный шум, вариативность подготовки образцов (пипетирование, взвешивание), колебания температуры и рН вносят вклад в общую неопределенность. В подходе GUM компоненты объединяются в виде корня из суммы квадратов; расширенная неопределенность определяется как  $U = k \cdot u_{c(y)}$ .

Перенос калибровки: Межприборные различия компенсируются с помощью эталонных сигналов и многомерной калибровки (прямой/пошаговой). Реализованы механизмы перенастройки в случае дрейфа и смены партий (износ колонки, загрязнение

источника). Целостность данных: Требуется журнал аудита, версионирование, автоматизированные скрипты (блокноты) и воспроизводимая программная среда.

Экологичная и устойчивая аналитика: потребление растворителей, энергопотребление и сокращение отходов учитываются с помощью «зеленых показателей». Ресурсоэффективные методы, такие как QFME/TFME, CE/CEC, а также оптические датчики (волоконные/резонаторные) и портативные платформы, помогают осуществлять контроль производства непосредственно на месте (в линии/в потоке).

Перспективные направления исследований: (i) открытые форматы и стандарты метаданных для объединения данных из различных источников; (ii) нормативная адаптация жизненного цикла модели СИ (карточки моделей, протоколы обучения, мониторинг); (iii) онлайн-МС-ЯМР, объединяющие точные данные о массе и структуре; (iv) интеллектуальные датчики для полиморфных и солевых/сольватных состояний; (v) оптимизация процессов без тестирования с помощью цифрового двойника.

Перспективная дорожная карта на 2025–2030 годы:

Направление	Технологии	Интеграционная платформа	Ожидаемый результат	Риск/Ограничение	Показатели
RTRT онлайн	УФ/ИК, рамановская спектроскопия, масс-спектрометрические датчики	PAT + SCADA + MES	Онлайн-подтверждение качества выходных данных	Дрейф/калибровка	$r^2 \geq 0,995$ ; S/N↑
Слияние данных	LC–HRMS, ЯМР, Рамановская спектроскопия	Модель слияния	Доверие к идентичности↑	Синхронизация	AUC, F1, $\Delta ppm$

Ионизация окружающей среды	DESI, DART	Прямая проверка	Экспресс-скрининг	Матричный эффект	LOD↓, время отклика
Микрофлюидные	Lip-on-chip	Встроенная подготовка	Примерная стоимость ↓	Загрязнение	Тактовое время, RSD
Оптический биосенсор	SPR/LSPR, резонатор	кинетика без меток	Малые молекулы	Дрифт	K <sub>D</sub> , k <sub>on</sub> /k <sub>off</sub>
CE/CEC	Капиллярная платформа.	связывание MS/UV	Быстрый и экологичный анализ	Чувствительность	LOD/LOQ, N
2D-разделение	LC×LC, GC×GC	Множественные детекторы	Разделительная способность ↑	Сложность	R <sub>s</sub> , количество изображений
Настольный ЯМР-спектрометр	60–80 МГц	Анализ на месте	Качественный отбор	Чувствительность	Линейность, S/N
Управление ИИ	PLS/SVM/DL	MLOps + валидация	Стабильное прогнозирование	Экстремальная адаптация	RMSE, сигнализация дрейфа

## ОБЩИЕ ВЫВОДЫ И РЕЗУЛЬТАТЫ.

В данной монографии представлен систематический анализ и практические предложения по комплексному использованию современных инструментальных и компьютерных технологий в анализе фармацевтических препаратов. В ходе работы были

проанализированы спектроскопия (УФ/КД, ИК/ИК-спектроскопия, рамановская спектроскопия), электрохимические методы (кондуктометрия, потенциометрия, вольтамметрия), масс-спектрометрия и ядерно-магнитный резонанс, комбинированные платформы (SX-MS, GS-MS, YSSX-UB), методы пробоподготовки с низкими ресурсами (QFME/TFME), капиллярный электрофорез (CZE/МЕКС/CGE/CIEF/NACE/SEC), а также эффективность оптических и биосенсорных датчиков и стратегии обработки данных на основе искусственного интеллекта (ИИ). Ниже приведены общие выводы и результаты проведенного исследования.

Была разработана концепция интегрированных платформ для онлайн/встроенного мониторинга анализа лекарственных препаратов, контроля высвобождения в режиме реального времени (RTRT). Разработаны методологические принципы объединения спектральных, хроматографических и масс-спектрометрических аналитических сигналов в единую систему принятия решений с использованием слияния данных.

Процессы, основанные на QFME/TFME и капиллярном электрофорезе, которые соответствуют принципам «зеленой» аналитики и характеризуются низким расходом растворителей, были адаптированы для контроля этапов фармацевтического производства.

Были усовершенствованы алгоритмы мониторинга кинетики в реальном времени без использования меток для малых молекул и биомакромолекул с помощью оптических датчиков (SPR/LSPR, кольцевой резонатор, фотонный кристалл) и биосенсоров.

Были предложены методы стабильной калибровки, мониторинга, устойчивого к дрейфу, и межустройственной передачи данных из нескольких источников на основе SI и хемометрики (PCA/PLS, PLS-DA, SVM, ансамблевые и глубокие модели).

В спектрофотометрическом анализе были продемонстрированы методы получения надежной

количественной оценки в многокомпонентных смесях с использованием базового сглаживания, сглаживания, SNV/MS, производных и PLS-регрессии.

Разработаны практические протоколы для стабилизации зависимостей потенциал-концентрация в широком диапазоне и снижения влияния мешающих веществ на ионоселективные электроды в электрохимических методах.

Было высказано предположение, что комбинированная интерпретация данных HRMS и NMR (сопоставление формул + структурные корреляции) может повысить достоверность идентификации, особенно при различении полиморфных/солевых/сольватных форм.

Для минимизации матричных эффектов (ослабление/усиление ионов) на платформах SX-MS и GS-MS была разработана последовательность совместной оптимизации внутренних стандартов, режимов разделения и параметров источника.

В рамках производственного контроля были предложены экономически эффективные и воспроизводимые протоколы количественного определения на основе YSSX-UB; эффективность разделения гарантировалась за счет оптимизации хроматографического разрешения и коэффициентов удерживания в многокомпонентных системах.

С помощью QFME/TFME удалось сократить время подготовки образцов, уменьшить расход растворителя и повысить чувствительность; были разработаны подходящие условия для термической десорбции с помощью GS-MS и жидкостной десорбции с помощью SX-MS/YSSX-UB.

Были продемонстрированы преимущества режимов KE (CZE, MEKC, CGE, CIEF, NACE, SEC) в фармацевтическом анализе: высокое количество тарелок, низкий расход и возможности регулировки селективности.

В биосенсорах SPR/LSPR кинетические параметры, такие как KD, K<sub>n</sub>, K<sub>off</sub> для малых молекул на основе антител/аптамеров, были

адаптированы для обеспечения точных и воспроизводимых процедур высвобождения; условия регенерации/противоточного действия были откалиброваны.

#### 4. Показатели валидации и качества:

В рамках различных подходов были обобщены показатели линейности  $r^2 \geq 0,995$ , точности и воспроизводимости  $RSD \leq 2-5\%$ , а также практические критерии LOD/LOQ для чувствительности обнаружения. Была проверена стабильность калибровки и соответствие наклона/пересечения при межинструментальном переносе.

Проверка работоспособности системы (разрешение, симметрия пиков, повторяемость времени сбора данных, отношение сигнал/шум) была связана с циклом оптимизации; матричные эффекты компенсировались с помощью внутреннего стандарта и метода стандартных добавок.

Разработаны принципы обеспечения целостности данных (журнал аудита, версионирование, роли пользователей) и работы в воспроизводимой программной среде. Ограничения: Высокие затраты на оборудование и требования к обслуживанию, например, в системах HRMS/NMR; дрейф из-за износа колонки/источника; загрязнение поверхности и эффективность регенерации оптических и биосенсоров.

Риск переобучения в моделях SI, вариации между устройствами/партиями; синхронизация по времени во время слияния данных и отсутствие размеченных данных.

Необходимость регулярного документирования и мониторинга жизненного цикла модели (ЖЦП) в соответствии с законодательными требованиями.

Рекомендации: Поэтапный переход к концепции RTRT: создание сети встроенных/поточных датчиков, проверка механизмов слияния данных и принятия решений (PLS/SVM/DL), создание механизмов автоматического предупреждения и перекалибровки.

Внедрение экологически чистых аналитических методов: QFME/TFME, CE/SEC, короткие колонки, низкая скорость потока; планирование с учетом показателей потребления растворителей и углеродного следа.

Стандартизация протоколов эталонного и многомерного выравнивания (прямого/поэтапного) для переноса калибровки и выравнивания между устройствами.

Строго соблюдайте правила аудита, роли и разрешения, версионирования и резервного копирования для обеспечения информационной безопасности и целостности; внедрите процессы MLOps для отслеживания моделей.

Направления будущих исследований:

Открытый формат и протоколы синхронизации для объединения данных MS–NMR и Raman–MS; оптические резонаторы с высоким коэффициентом добротности для безмаркерного мониторинга кинетики малых молекул; датчики, способные в реальном времени различать полиморфные и сольватные состояния.

Соответствующие нормативным требованиям эталонные процессы на протяжении всего жизненного цикла модели СИ (требования → обучение → валидация → развертывание → мониторинг → переобучение); согласованная история происхождения данных и воспроизводимость.

Интеграция микрофлюидных систем «лаборатория на чипе» для оперативной подготовки образцов, кинетики реакций и обнаружения; платформы, которые значительно снижают энергопотребление и потребление ресурсов.

В заключение, современные аналитические методы, сенсорные технологии и анализ данных на основе СИ выведут контроль качества фармацевтической продукции на новый уровень. Предложенные методологические подходы следует постепенно интегрировать в производственные процессы в сочетании с принципами «зеленой» аналитики и целостности

данных. Таким образом, гарантируется безопасность, эффективность и стабильное качество фармацевтической продукции.

### **СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ЛИТЕРАТУР**

1. Государственная фармакопея Республики Узбекистан. 1-е издание. Ташкент: ССВ, 2021.
2. Ибодов А.Ю., Юнусходжаев А.Н., Убайдуллаев Г.А. Фармацевтическая химия: учебник. Ташкент, 2011.
3. Убайдуллаев К.А. и соавторы. Фармацевтическая химия. Электронная библиотека Самаркандского государственного медицинского университета, 2021.
4. Мадрахимова Г.А. Фармацевтическая химия: учебник. Ташкент: Национальная энциклопедия Узбекистана, 2008.
5. Контроль качества лекарственных средств: учебно-методическое пособие. Электронная библиотека SAMMU, 2020.

6. Аналитическая химия (том 1): Сборник лекций. Электронная библиотека SAMMU, 2020.
7. Аналитическая химия: учебно-методический комплекс. НамДУ АРМ, 2024.
8. Методы инструментального анализа (UV/KD, IQ-FTAIS, YSSX): краткое содержание лекции. УзДЖТСУ, 2022.
9. Фармацевтическая технология: учебник. НамДУ АРМ, 2024.
10. Ахмедов О.А. Фармакогнозия: учебник. Электронная библиотека Саммуского гуманитарного университета, 2021.
11. Электрохимия: учебник. JDPU, 2022.
12. Нуруллаев Ш.П., Осербаева А.К., Рузметов И. Теоретическая электрохимия. Янги Чирчик, 2023 год.
13. Тукстаев Х. Р. Неорганическая химия. Ташкент: Наука и технология, 2018.
14. Мамадиёрова Х. и соавторы. Химия: учебник. Самарканд, 2021.
15. Спектрофотометрия: применение в качественном и количественном анализе. Ресурс ВухДУ, 2021.
16. Спектрофотометрические и хроматографические методы. Сборник лекций Буксванского государственного университета, 2022.
17. «Современные методы анализа лекарственных средств». Сборник статей, 2021 (Узбекский).
18. Фармакогнозия (учебник). Платформа APS, 2022.
19. Закон Республики Узбекистан о фармацевтических препаратах и фармацевтической деятельности (действующая редакция).
20. Электрохимия: общая информация. Сборник узбекских энциклопедических материалов, 2020.
21. Аналитическая химия. Электронная библиотека Ziyonet/ziyouz, 2019.
22. Аналитическая химия (пересмотренное издание). НамДУ АРМ, 2024.

23. Химия (общие курсы): кафедры физической химии и электрохимии. Электронная библиотека SAMMU, 2020.
24. Химическая технология: учебник (с электрохимическими разделами). ССУВ АРМ, 2021.
25. Спектрофотометрия: сущность и методы. Лекционные материалы JDPU, 2020.
26. Фармацевтическая химия. Под редакцией профессора А.Н. Юнусходжаева. Электронное издание НамДУ АРМ, 2021.
27. Официальный фармакопейный портал UzPharm-Control (сборник стандартов), 2021–2024 гг.
28. Лабораторные руководства (аналитический и фармацевтический анализ). SAMMU, 2020.
29. Учебно-методический комплекс: аналитические методы. НамДУ АРМ, 2024.
30. Фармацевтическая химия (пересмотренное издание). ССУВ АРМ, 2022.
31. Государственная фармакопея Российской Федерации (ГФ РФ), XIV изд., обновления.
32. Государственная фармакопея Евразийского экономического союза (ЕЭС), 1-е изд., доп.
33. Skoog DA, West DM, Holler FD, Crouch S. Фундаментальная аналитическая химия. Per. English
34. Харрис Д. Количественный химический анализ. Пер. Английский
35. Бард А., Фолкнер Л. Электрохимический метод. Основы и примеры. Пер. Английский
36. Долан Диджей. Практика VEJX. Пер. Английский
37. Кларидаж Т. ЯМР и органическая химия. Пер. Английский
38. де Хоффман Э., Струбант В. Масс-спектрометрия. Принцип и применение. Пер. Английский
39. Павлишин Я. (Pawliszyn J.) Твердофазная микроэкстракция (ТФМЭ). Пер. Английский

40. Камиллери П. Капиллярный электрофорез: теория и практика. Пер. Английский
41. Фармакопея Соединенных Штатов (USP–NF). Роквилл, Мэриленд: Конвенция USP.
42. Европейская фармакопея (Ph. Eur.). Страсбург: EDQM, Совет Европы.
43. ICH Q2(R2) и Q14: Валидация аналитических процедур; Разработка аналитических процедур.
44. Skoog DA, West DM, Holler FJ, Crouch SR. Основы аналитической химии. Cengage.
45. Количественный химический анализ Харриса Д. К. У. Фримена.
46. Бард А.Дж., Фолкнер Л.Р. Электрохимические методы: основы и приложения. Wiley.
47. Келлнер Р. и др. Аналитическая химия. Wiley-VCH.
48. Кристиан Г.Д., Дасгупта П.К., Шуг К.А. Аналитическая химия. Wiley.
49. Снайдер Л.Р., Киркленд Дж.Дж., Долан Дж.В. Введение в современную жидкостную хроматографию. Wiley.
50. Пул К.Ф. Суть хроматографии. Academic Press.
51. де Хоффманн Э., Стробант В. Масс-спектрометрия: принципы и приложения. Wiley.
52. Масс-спектрометрия Гросса Дж. Х.: Учебник. Springer.
53. Claridge TDW Высокора разрешающие ЯМР-методы в органической химии. Elsevier.
54. Павлишин Дж. Твердофазная микроэкстракция: теория и практика. Wiley-VCH.
55. Камиллери П. Капиллярный электрофорез: теория и практика. CRC Press.
56. Тернер А.П.Ф., Карубе И., Уилсон Г.С. Биосенсоры: основы и приложения. Издательство Оксфордского университета.
57. Жидкостная хроматография-масс-спектрометрия Niessen WMA. Taylor & Francis.

58. Хибберт Д.Б., Гудинг Дж.Дж. Анализ данных для химии. Издательство Оксфордского университета.
59. Миллер Дж. Н., Миллер Дж. К. Статистика и хемометрика для аналитической химии. Пирсон.
60. Санс-Медель А. и др. Анализ следовых количеств веществ и спектроскопия в фармацевтических науках. Springer.
61. Спектрофотометрическое определение аскорбиновой кислоты и ДЦПП: методика для фармацевтических сиропов (статья).
62. Оценка гидрохлорида лидокаина на основе неводного потенциометрического титрования (статья).
63. Алгоритм определения точки эквивалентности при кондуктометрическом титровании NaCl (статья).
64. Модификация поверхности (MWCNT/nafion) для пика окисления аскорбата в вольтамметрии (статья).
65. Разделение лидокаина и вспомогательных веществ методом капиллярного электрофореза (статья).
66. Выявление следовых количеств примесей лекарственных препаратов с использованием SPE–HPLC–MS (статья).
67. Идентификация вспомогательных веществ в лекарственных формах на основе IQ-FTAIS (статья).
68. Практика валидации в УФ/УФ-спектроскопии (ICH Q2(R2)) (статья).
69. Идентификация промежуточных продуктов фармацевтического синтеза на основе ЯМР (1H/13C) (статья).
70. Анализ профилей продуктов разложения с использованием ЖХ-МС (статья).
71. Мониторинг уровня глюкозы и лактата с помощью биосенсоров (диссертация).
72. Обнаружение фармацевтических аналитов с помощью электрохимических сенсоров на основе аптамеров (статья).
73. Разделение летучих компонентов методом твердофазной микроэкстракции (QFME/SPME) (статья).

74. Оптимизация буфера в капиллярном электрофорезе (диссертация).
75. Ионная сила и компенсация ЛЖП в кондуктометрии и потенциометрии (статья).
76. Оптимизация параметров прямоугольного импульсного режима в вольтамметрии (статья).
77. Комбинированные подходы CE-MS и GC-MS (статья).
78. Классификация кривых CV с использованием искусственного интеллекта (статья).
79. Электрохимический мониторинг в режиме реального времени в рамках PAT/RTTRT (диссертация).
80. Ионная хроматография и кондуктометрия в контроле качества фармацевтической воды (статья).
81. Аскарлов, И.Р., Маматкулова, С.А., и Джуманова, Б.Г. (2024). Определение содержания витаминов в пищевой добавке Орегано-Ас. Научные доклады Кокандского ДПИ, (1), 93–99.
82. Маматкулова, С.А., и Джуманова, Б.Г. (2023). Химический состав лекарственного растения шалфея и его использование в народной медицине. Журнал химии товаров и традиционной медицины, 2(6).
83. Джуманова, Б.Г. (2025). Определение макро- и микроэлементов и кулинарной добавки «Орегано-Ас». Научные отчеты Kokan DPI, (3). Получено из [https://t.me/Science and Technology journal](https://t.me/Science_and_Technology_journal)
84. Аскарлов И.Р., Маматкулова С.А. и Джуманова Б.Г. (2025). Определение остроты токсичности «Орегано-Ас». Научные отчеты Коканского ДПИ, (1). Получено из [https://t.me/Science and Technology journal](https://t.me/Science_and_Technology_journal)
85. Аскарлов, И.Р., Маматкулова, С.А., и Джуманова, Б.Г. (2025). Результаты оценки анальгетической и острой эксудативно-воспалительной активности пищевой добавки «Орегано-Ас. Педагогические исследования в универсальных науках», 4(2), 4–9 <https://doi.org/10.5281/zenodo.14782613>

86. Аскарлов, И.Р., Маматкулова, С.А., и Джуманова, Б.Г. (2024). Определение флавоноидов в пищевой добавке Орегано-Ас. Образовательные исследования в универсальных науках, 3(5), 67–72. <https://doi.org/10.5281/zenodo.12542593>
87. Маматкулова, С.А., и Джуманова, Б.Г. (2024). Определение антиоксидантной активности продуктов, приготовленных из растений шалфея и тограйхана. *Xalq tabobati plus*, 2(19).2024y
88. Аскарлов, И.Р., и Джуманова, Б.Г. (2025). Оценка качественных и количественных показателей растительного комплекса *Origanum titthanthum* и *Salvia officinalis*. Научный журнал Ферганского государственного университета, (4), 60
89. Джуманова Б.Г. Исследование фармакотоксикологических свойств пищевой добавки «Орегано-ас». Международная конференция педагогов. Проводится онлайн из Торонто, Канада. – [econfseries.com.7.02.2025.208-213b](https://econfseries.com/7.02.2025.208-213b)
90. Аскарлов И.Р., Джуманова Б.Г. Химический состав растения Тограйхон и его применение в народной медицине. Перспективы развития науки и образования. 15.02.2025
91. Аскарлов И.Р., Джуманова Б.Г. Химический состав лекарственного шалфея и его применение в народной медицине. Междисциплинарная инновационная и научно-исследовательская конференция: Сборник научных работ Международной онлайн-научной конференции. Лондон: CESS, 15 февраля 2024 г. Часть 17, с. 140.
92. Джуманова Б. Г. Определение острого отравления «Орегано-ас». III Международная научно-практическая конференция «Женское репродуктивное здоровье: проблемы, решения и профилактика». Фергана, 2025. – с. 98–100.
93. Джуманова Б.Г. Лечение вирусных кишечных заболеваний лекарственным растением. Международная научно-практическая конференция «Актуальные проблемы современной паразитологии и кишечных инфекций». Фергана, 2025.

94. Барно Г. Дж., Акрамова У. Химический состав растения Тограйхон и его применение в народной медицине. III Международная научно-практическая конференция «Репродуктивное здоровье женщин: проблемы, решения и профилактика». Фергана, 2025.
95. Джуманова Б. Г. Определение аминокислот и кулинарной добавки «Орегано-ас». «Интернаука»: научный журнал - № 6(370). Часть 2. – 2025. – с. 72.  
<https://www.internauka.org/journal/science/internauka/370>
96. Аскарлов И.Р., Джуманова Б.Г. Результаты определения количества экстрактивных веществ в пищевой добавке «Орегано-ас». XII Международная научно-практическая конференция. Андижан, 11 сентября 2025 г. – Том 2, с. 60.
97. Джуманова Б.Г. Определение тяжелых металлов и пестицидов в пищевой добавке «Орегано-ас» и оценка их безопасности. XII Международная научно-практическая конференция. Андижан, 11 сентября 2025 г. – Том 1, с. 102.