ԵՊԲՀ Ֆարմացիայի ամբիոն

ԼԱԲՈՐԱՏՈՐ ԱՇԽԱՏԱՆՔԵՐ

Երևան 2017

ԼԱԲՈՐԱՏՈՐ ԱՇԽԱՏԱՆՔ 1.

ԲԱՇԽՄԱՆ ԳՈՐԾԱԿՑԻ ՈՐՈՇՈՒՄԸ «ԱՆՈԹԻ ԹԱՓԱՀԱՐՄԱՆ» ԵՂԱՆԱԿՈՎ

Փորձի ընթացքը՝

1. Լուծիչների նախապատրաստում և նախահագեցում:
2. Լուծելիության թեստի իրականացում:
3. Վերլուծություն /դեղի կոնցենտրացիայի որոշում/:
4. Բաշխման գործակցի հաշվարկ:

Անհրաժեշտ նյութերը և սարքավորումները՝

- ն-օկտանոլ /ք.մ./, թորած /կամ երկթորած/ ջուր, հետազոտվող պրեպարատների /ֆուրոսեմիդ, պարացետամոլ, ցինարիզին/ ստանդարտներ, 0.1, 0.01Մ կծու նատրիումի լուծույթներ, 95% սպիրտ;
- 50 մլ տարողությամբ ապակյա խցանով բաժանիչ ձագար, թափահարող սարք /շեյքեր/, 100, 200 մլ տարողությամբ չափիչ կոլբաներ, 2 մլ տարողությամբ ներարկիչ, ՈՒՄ- և տեսանելի սպեկտրոֆոտոմետր, 10 մմ շերտի հաստությամբ կվարցե կյուվետներ:

1. Լուծիչների նախապատրաստում և նախահագեցում

Փորձի համար օգտագործվող օրգանական ֆազը պետք է լինի բարձր մաքրության /ք.մ./ քիմիական փորձերի համար նախատեսված ն-օկտանոլը: Տեխնիկական օկտանոլի կիրառման դեպքում այն պետք է նախապես մաքրվի, անօրգանական /թթուներով և հիմքերով լվացում, թորում/ և օրգանական հավելումներից ազատվելու համար: Ջուրը պետք է լինի թարմ թորված /կամ երկթորված/:

Մինչև փորձարկման իրականացումը ջուրը և օկտանոլը պետք է նախահագեցվեն միմյանցով: Դրա համար հետազոտությունից մեկ օր առաջ փորձի համար անհրաժեշտ քանակով ջուրը և ն-օկտանոլը թափահարում են բաժանիչ ձագարում 24 ժամ թափահարիչի միջոցով: Այնուհետև նրանց թողնում են բավականաչափ ժամանակ, որ հեղուկները լիովին բաժանվեն միմյանցից և հաստավի հագեցման հավասարակշռային վիճակը:

2. Թեստի իրականացում

Պարացետամոլի բաշխման գործակցի որոշում

Բաժանիչ ձագարի մեջ ավելացնել 10 մլ ջուր և 10 մլ ն-օկտանոլ: 0,017 գ պարացետամոլն ավելացնել օկտանոլի շերտի վրա և թափահարել 5 րոպե, որից հետո թողնել որոշ ժամանակ ֆազերի շերտավորման /առանձնացման/ համար:

Ցինարիզինի բաշխման գործակցի որոշումը

Բաժանիչ ձագարի մեջ ավելացնել 10 մլ ջուր և 10 մլ ն-օկտանոլ: 0,06 գ ցինարիզինը ավելացնել օկտանոլի շերտի վրա և թափահարել 5 րոպե, որից հետո թողնել որոշ ժամանակ ֆազերի շերտավորման /առանձնացման/ համար:

Ֆուրոսեմիդի բաշխման գործակցի որոշումը

Բաժանիչ ձագարի մեջ ավելացնել 10 մլ ջուր և 10 մլ ն-օկտանոլ: 0,06 գ ֆուրոսեմիդը ավելացնել օկտանոլի շերտի վրա և թափահարել 5 րոպե, որից հետո թողնել որոշ ժամանակ ֆազերի շերտավորման /առանձնացման/ համար:

3. Վերլուծություն /դեղի կոնցենտրացիայի որոշում/

Պարացետամոլի բաշխման գործակցի որոշում

Ջրային շերտից ներարկիչի օգնությամբ վերցնել 1մլ, տեղավորել 100 մլ տարողությամբ չափիչ կոլբայի մեջ, ավելացնել 10 մլ 0.1 Մ կծու նատրիումի լուծույթ, խառնել և ծավալը ջրով հասցնել մինչև նիշը: Լուծույթի օպտիկական խտությունը չափել սպեկտրոֆոտոմետրով 257 նմ ալիքի երկարության և կյուվետի 10 մմ շերտի հաստության պայմաններում: Զուգահեռ չափել պարացետամոլի ստանդարտ աշխատանքային լուծույթի օպտիկական խտությունը: Որպես համեմատիչ լուծույթ օգտագործել 0.01 Մ կծու նատրիումի լուծույթ:

Պարացետամոլի ստանդարտ աշխատանքային լուծույթի պատրաստում

0.15 գ պարացետամոլը տեղավորել 200 մլ տարողությամբ չափիչ կոլբայի մեջ, ավելացնել 100 մլ 0.1 Մ կծու նատրիումի լուծույթ: Թափահարել 10 րոպե և ջրով ծավալը հասցնել մինչև նիշը: Ստացված լուծույթից 1մլ տեղավորել 100 մլ տարողությամբ չափիչ կոլբայի մեջ, ավելացնել 10 մլ 0.1Մ կծու նատրիումի լուծույթ, խառնել և ծավալը ջրով հասցնել մինչև նիշը:

Ցինարիզինի բաշխման գործակցի որոշումը

Ջրային շերտից ներարկիչի օգնությամբ վերցնել 2 մլ, տեղափոխել 100 մլ տարողությամբ չափիչ փորձանոթի մեջ, 95% սպիրտով ծավալը հասցնել մինչև նիշը և խառնել: Ստացված լուծույթի օպտիկական խտությունը չափել սպեկտրոֆոտոմետրով 253 նմ ալիքի երկարության և կյուվետի 10 մմ շերտի հաստության պայմաններում: Որպես համեմատիչ լուծույթ օգտագործել 95% սպիրտ: Զուգահեռ չափել ցինարիզինի ստանդարտ աշխատանքային լուծույթի օպտիկական խտությունը:

Ցինարիզինի ստանդարտ աշխատանքային լուծույթի պատրաստումը

0.05գ ցինարիզինը տեղավորել 100 մլ չափիչ փորձանոթի մեջ, ավելացնել 80 մլ 95% սպիրտ, խառնել մինչև լուծվելը և սպիրտով ծավալը հասցնել մինչև նիշը: Ստացված լուծույթից 2 մլ տեղափոխել 100 մլ տարողությամբ չափիչ փորձանոթի մեջ, 95% սպիրտով ծավալը հասցնել մինչև նիշը և խառնել: 1 մլ ցինարիզինի ստանդարտ աշխատանքային լուծույթը պարունակում է մոտավորապես 0.00001 գ ցինարիզին: Օգտագործել թարմ պատրաստված լուծույթը:

Ֆուրոսեմիդի բաշխման գործակցի որոշումը

Ջրային շերտից ներարկիչի օգնությամբ վերցնել 1մլ, տեղափոխել 100 մլ տարողությամբ չափիչ փորձանոթի մեջ, ավելացնել 9 մլ 0.1 Մ նատրիումի հիդրոքսիդ, ջրով ծավալը հասցնել մինչև նիշը և խառնել: Ստացված լուծույթի օպտիկական խտությունը չափել սպեկտրոֆոտոմետրով 271 նմ ալիքի երկարության և կյուվետի 10 մմ շերտի հաստության պայմաններում, որպես համեմատիչ լուծույթ օգտագործելով 0.01 Մ նատրիումի հիդրոքսիդի լուծույթ: Զուգահեռ չափել ֆուրոսեմիդի ստանդարտ աշխատանքային լուծույթի օպտիկական խտությունը:

Ֆուրոսեմիդի ստանդարտ աշխատանքային լուծույթի պատրաստումը

0.08գ ֆուրոսեմիդը լուծել 80 մլ 0.1 Մ նատրիումի հիդրոքսիդի լուծույթում 100 մլ տարողությամբ չափիչ փորձանոթի մեջ, նատրիումի հիդրոքսիդով ծավալը հասցնել մինչև նիշը և խառնել: Ստացված լուծույթից 1մլ տեղափոխել 100 մլ տարողությամբ չափիչ փորձանոթի մեջ, ավելացնել 9 մլ 0.1 Մ նատրիումի հիդրոքսիդի լուծույթ, ջրով ծավալը հասցնել մինչև նիշը և խառնել: Լուծույթի պահպանման ժամկետը 1օր:

***

Պրեպարատների քանակական պարունակությունը ջրային ֆազում որոշում են հետևյալ բանաձևով՝

$$X = \frac{D \cdot m_0 \cdot v}{2 \cdot D_0 \cdot 100}$$

Որտեղ՝

D- հետազոտվող լուծույթի օպտիկական խտությունն է,

D_0- պրեպարատի ստանդարտ աշխատանքային լուծույթի օպտիկական խտությունն է,

m_0- պրեպարատի քանակությունը գրամներով,

v- ջրային ֆազի ծավալը:

4. Բաշխման գործակցի հաշվարկ

Բաշխման գործակիցը որոշվում է հետևյալ բանաձևով՝

$$P = \frac{C_{\text{օկտանոլ}}}{C_{\text{ջուր}}}$$

որտեղ՝

$C_{\text{օկտանոլ}}$- ն-օկտանոլում դեղանյութի քանակական պարունակությունն է,

$C_{\text{ջուր}}$- -ջրային շերտում դեղանյութի քանակական պարունակությունն է:

Անհրաժեշտության դեպքում հաշվարկում են բաշխման գործակցի տասնորդական լոգարիթմը (logP):

ԼԱԲՈՐԱՏՈՐ ԱՇԽԱՏԱՆՔ 2.

ԿԵՆՍԱՎԵՑՎԵՐ ԵՂԱՆԱԿՈՎ ԴԵՂԱՀԱՏԵՐԻ ԿԵՆՍԱՀԱՄԱՐԺԵՔՈՒԹՅԱՆ ՈՐՈՇՈՒՄ

Փորձի ընթացքը՝

1. Լուծելիության միջավայրի նախապատրաստում՝ բուֆերային լուծույթների պատրաստում:
2. Լուծելիության թեստի իրականացում (ըստ ԱՀԿ-ի):
3. Վերլուծություն՝ դեղի կոնցենտրացիայի որոշում:
4. Լուծելիության կորերի կառուցում, համարժեքության /անհամարժեքության/ գործակցի հաշվարկ:

Անհրաժեշտ նյութերը և սարքավորումները՝

- 0.1 Մ քլորաջրածնական թթու (pH=1.2); 0.1 Մ ֆոսֆատային բուֆեր (pH=6.8)՝ NaH_2PO_4*H_2O, Na_2HPO_4, ֆոսֆորական թթու; 0.1 Մ ացետատային բուֆեր (pH=4.5)՝, CH_3COOH, CH_3COONa; թորած ջուր*; տարբեր դեղագործական ընկերությունների արտադրության անալոգ դեղեր /պարացետամոլի 0.5 գ դեղահատեր, ցինարիզինի 0.025 գ դեղահատեր, ֆուրոսեմիդի 0.04 գ դեղահատեր/; ստանդատներ /պարացետամոլի, ցինարիզինի, ֆուրոսեմիդի/; նատրիումի հիդրոքսիդի լուծույթ;
- pH-մետր, ՈՒՄ- և տեսանելի սպեկտրոֆոտոմետր, լուծելիության որոշման «Թիակային սարք» /կամ «Պտտվող զամբյուղ»/;
- փորձանոթների շտատիվներ, համարակալված փորձանոթներ, 2000, 1000, 100, 200 մլ տարողությամբ չափիչ կոլբաներ, 500,1000, 2000 մլ տարողությամբ չափիչ բաժակներ, 1,2,5,10 մլ տարողությամբ պիպետներ, միլիմետրային թուղթ, ֆիլտրի թուղթ:

* *բուֆերային լուծույթների համար նախատեսված թորած ջուրը /հատկապես ացետատային բուֆերի/ **պետք է նախատես եռացնել 30 ր ընթացքում,** ածխաթթու գազից ազատվելու համար: Օգտագործում են միայն թարմ եռացրաց թորած թուրը, որը պահում են լավ խցանվող տարաներում:*

1. Լուծելիության միջավայրի նախապատրաստում՝ բուֆերային լուծույթների պատրաստում

Իրականացվող գործողությունները՝

1.1. Պատրաստի բուֆերային լուծույթի անհրաժեշտ ծավալի հաշվարկ;

1.2. Մայր լուծույթների անհրաժեշտ քանակի հաշվարկ և պատրաստում;

1.3. pH-մետրի ստուգաճշտում /համապատասխան ստանդարտ բուֆերով/;

1.4. Բուֆերային լուծույթների pH-ի չափում և համապատասխանեցում պահանջվող արժեքին:

0.1 Մ քլորաջրածնական թթվի լուծույթի պատրաստում (pH=1.2)

8.5 մլ խիտ քլորաջրածնական թթուն /խտությունը 1.19/ թորած ջրով նոսրացնել մինչև 1 լ: 1 մլ լուծույթը պարունակում է 0.003646 գ քլորաջրածին:

0.1 Մ Ֆոսֆատային բուֆերի պատրաստում (pH=6.8)

Բաղադրությունը՝

Մայր լուծույթներ՝

Ա լուծույթ- 0.2 Մ $NaH_2PO_4*H_2O$ (27.58 գ/1000 մլ)

Բ լուծույթ - 0.2 Մ Na_2HPO_4 (28.38 գ/1000 մլ)

0.1 Մ ացետատային բուֆերի պատրաստում (pH=4.5)

Բաղադրությունը՝

Մայր լուծույթներ՝

Ա լուծույթ- 0.5 CH_3COOH (30 մլ սառցային քացախաթթու + 970 մլ թորած ջուր)

Բ լուծույթ - 0.5 CH_3COONa (68 գ նատրիումի ացետատ 1լ ջրում)

200 մլ բուֆերային լուծույթը = **X մլ** Ա լ-թ + **Y մլ** Բ լ-թ + թորած ջուր մինչև 200.0 մլ

Աղյուսակ 1.

Ֆոսֆատային բուֆեր				**Ացետատային բուֆեր**		
pH	**X** /Ա լ-թ/	**Y** /Բ լ-թ/		**pH**	**X** /Ա լ-թ/	**Y** /Բ լ-թ/
6.4	73.5	26.5		4.2	164	36
6.5	68.5	31.5		4.0	147	53
6.6	62.5	37.5		**4.4**	126	74
6.7	56.5	43.5		**4.6**	102	98

6.8	51.0	49.0		4.8	80	120
6.9	45.0	55.0		5.0	59	141
7.0	39.0	61.0		5.2	42	158

pH-մետրի ստուգաճշտումը իրականացվում է յուրաքանչյուր փորձարկումից առաջ: Ստուգաճշտման համար կիրառում են ստանդարտ բուֆերներ, որոնց pH-ի արժեքը չպետք է տարբերվի հետազատոող լուծույթի արժեքից ավելի քան 1.0 միավորով:

Ֆոսֆատային բուֆերի pH-ի պահանջվող արժեքին համապատասխանեցման համար կիրառում են ֆոսֆորական թթու և նատրիումի հիդրօքսիդի լուծույթ: Ացետատային բուֆերի համար՝ քացախաթթու և նատրիումի հիդրօքսիդի լուծույթ:

2. Լուծելիության թեստի իրականացում (ըստ ԱՀԿ-ի):

Լուծելիության որոշումը իրականացվում է ԱՀԿ ուղեցույցի համաձայն /աղյուսակ 2./

Աղյուսակ 2. *Լուծելիության թեստի պայմանները ըստ ԱՀԿ-ի*

Ցուցանիշ	ԱՀԿ
BSC թույլատրված դասերը	1,2 (թույլ թթուները), 3
Սարքը	Թիակային սարք (75 պտ/ր) Պտտվող զամբյուղ (100 պտ/ր)
Միջավայրի ծավալը	900 մլ
Ջերմաստիճանը	37±0.5^{0}C
Միջավայրերը	1.0.1N HCI (pH=1.2) 2. ացետատային բուֆեր (pH=4.5) 3. ֆոսֆատային բուֆեր (pH=6.8)
Նմուշների քանակը	12
Նմուշի վերցման կետերը	5, **10, 15, 20, 30, 45**

Հետազոտության համար նախատեսված դեղահատերը տեղավորում են նախապես միացված լուծելիության սարքի համապատասխան բուֆերային լուծույթով լցված բաժակներում: Լուծելիության թեստի մեկնարկից հետո նմուշառումը /նշված ժամանակային կետերում/ կատարում են պիպետի օգնությամբ, աշխատելով վերցնել անհրաժեշտ ծավալի** լուծույթ բաժակի մեջտեղից: Լուծույթը ֆիլտրել «Միլիպոր» ֆիլտրով /0.45 մկմ անցքերի տրամագծով/՝ թափելով ֆիլտրատի առաջին բաժինները:

*** Անհրաժեշտության դեպքում /մեծ ծավալով նմուշների համար՝ ցիննարիզին, ֆուրոսեմիդ/ լուծելիության միջավայր ավելացնում են բուֆերային լուծույթի այնպիսի ծավալ, որը համապատասխանում է նմուշառված լուծույթի քանակին: Սա կարող է բերել միջավայրի նոսրացմանը, ինչը կարող է որոշ չափով ազդել արդյունքների վրա: Այս թերությունը վերանում է ավտոմատացված նմուշառման համակարգով սարքերի կիրառման դեպքում:*

3. Վերլուծություն՝ դեղի կոնցենտրացիայի որոշում

Պարացետամոլի 0,5գ դեղահատի կենսահամարժեքության որոշումը

1մլ ֆիլտրատը տեղավորում են 100 մլ տարողությամբ չափիչ կոլբայի մեջ և ծավալը համապատասխան բուֆերով հասցնում մինչև նիշը: Հետազոտվող լուծույթի օպտիկական խտությունը չափում են սպեկտրոֆոտոմետրով 243 նմ ալիքի երկարության և 1 սմ շերտի հաստության պայմաններում: Որպես համեմատիչ լուծույթ օգտագործում են համապատասխան բուֆերային լուծույթ: Զուգահեռ որոշում են պարացետամոլի ստանդարտ աշխատանքային լուծույթի օպտիկական խտությունը: Լուծույթ անցած պարացետամոլի քանակը տոկոսներով որոշվում է հետևյալ բանաձևով՝

$$X = \frac{D_1 \cdot a \cdot 900 \cdot 100 \cdot 1 \cdot 100}{D_0 \cdot b \cdot 1 \cdot 200 \cdot 100} = \frac{D_1 \cdot a \cdot 450}{D_0 \cdot b}$$

Որտեղ՝

D_1 – հետազոտվող լուծույթի օպտիկական խտությունն է,

D_0- պարացետամոլի ստանդարտ աշխատանքային լուծույթի օպտիկական խտություն է,

a– ստանդարտ աշխատանքային լուծույթի պատրաստման համար վերցրած պարացետամոլի քանակությունն է գրամներով,

b- 1 դեղահատում պարունակվող պարացետամոլի քանակությունն է գրամներով:

Պարացետամոլի ստանդարտ աշխատանքային լուծույթի պատրաստում

0.1 գ պարացետամոլը տեղավորում են 200 մլ տարողությամբ չափիչ կոլբայի մեջ ավելացնում 100 մլ համապատասխան բուֆերային լուծույթ: Թափահարում են 10 ր և ծավալը բուֆերով հասցնում մինչև նիշը: Ստացված լուծույթից 1 մլ տեղավորում են 100 մլ տարողությամբ չափիչ կոլբայի մեջ և ծավալը բուֆերով հասցնում մինչև նիշը: 1 մլ պարացետամոլի ստանդարտ աշխատանքային լուծույթը պարունակում է 0.000005 գ պարացետամոլ: Օգտագործում են թարմ պատրաստված լուծույթը:

Ֆուրոսեմիդի 0,04 գ դեղահատերի կենսահամարժեքության որոշումը

Ստացված ֆիլտրատի 5 մլ տեղավորել 25 մլ տարողությամբ չափիչ կոլբայի մեջ համապատասխան բուֆերով ծավալը հասցնում են մինչև նիշը և խառնում: Ստացված ֆիլտրատի օպտիկական խտությունը չափում են սպեկտրոֆոտոմետրով 277 նմ ալիքի երկարության և կյուվետի 10 մմ շերտի հաստության պայմաններում, որպես համեմատիչ լուծույթ օգտագործելով համապատասխան բուֆերը: Զուգահեռ չափում են ֆուրոսեմիդի ստանդարտ աշխատանքային լուծույթի օպտիկական խտությունը համապատասխան բուֆերում: Լուծույթ անցած ֆուրոսեմիդի պարունակությունը տոկոսներով որոշվում է հետևյալ բանաձևով

$$X = \frac{D_1 \cdot a \cdot 900 \cdot 25 \cdot 2 \cdot 100}{D_0 \cdot b \cdot 5 \cdot 100 \cdot 100} = \frac{D_1 \cdot a \cdot 90}{D_0 \cdot b}$$

Որտեղ՝

D_1-հետազոտվող լուծույթի օպտիկական խտությունն է

D_0-ֆուրոսեմիդի ստանդարտ աշխատանքային լուծույթի օպտիկական խտությունն է

a -ֆուրոսեմիդի ստանդարտ աշխատանքային լուծույթի քանակությունը գրամներով

b- մեկ դեղահատում պարունակվող ֆուրոսեմիդի քանակությունը գրամներով

Ֆուրոսեմիդի ստանդարտ աշխատանքային լուծույթի պատրաստում

0.04 գ տեղավորել 100 մլ տարողությամբ չափիչ կոլբայի մեջ, լուծել 5 մլ 0.1Մ NaOH-ի լուծույթում, համապատասխան բուֆերով ծավալը հասցնել մինչև նիշը և խառնել: Ստացված լուծույթից 2 մլ տեղափոխել 100 մլ տարողությամբ չափիչ կոլբայի մեջ, համապատասխան բուֆերով հասցնել մինչև նիշը և խառնել:

4. Լուծելիության կորերի կառուցում, համարժեքության /անհամարժեքության/ գործակցի հաշվարկ

Ստացված տվյալների հիման վրա կառուցում են կոնցենտրացիայի և ժամանակի միջև կախվածությունն արտահայտող գրաֆիկը /միլիմետրային թղթի վրա/:

Կենսահամարժեքության գնահատման համար համեմատում են լուծելիության կորերը, կատարում են համարժեքության հաստատունի հաշվարկ***՝

$$f_2 = 50 \log[100/\sqrt{(1+(\sum_{l=n}[R(t)-T(t)]^2/n))}$$

$$l=1$$

որտեղ՝

f_2-համարժեքության հաստատունն է

n-հսկման կետերի քանակությունն է

R(t)-լուծված պրեպարատի միջին %-ային պարունակությունն է, օրինակ փորձարկվող պրեպարատի

Եթե f_2-ի արժեքը 50-100 է, նշանակում է լուծելիության երկու պրոֆիլները համարժեք են:

Կարելի է կատարել նաև ահամարժեքության գործոնի հաշվարկ, որը որոշվում է հետևյալ բանաձևով՝

$$f_1=\sum(R-T)\ 100/\sum R$$

Անհամարժեքության գործոնի արժեքը պետք է լինի 0-10:

****Եթե պրեպարատի 85%-ից ավելին լուծվում է 15 րոպեի ընթացքում լուծելիության պրոֆիլները կարող են ճանաչվել միանման առանց լրացուցիչ մաթեմատիկական հաշվարկի:*