

# ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЕ ОБРАЗОВАНИЕ

УДК 615.1:378.147

DOI: <https://doi.org/10.52540/2074-9457.2022.3.93>**А. И. Жебентяев**

## ИНСТРУМЕНТАЛЬНЫЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА В ОБРАЗОВАТЕЛЬНОМ ПРОЦЕССЕ НА ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОМ ФАКУЛЬТЕТЕ

**Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет,  
г. Витебск, Республика Беларусь**

*Значимость инструментальных методов анализа постоянно возрастает, так как в отличие от химических методов для них характерна высокая чувствительность и избирательность. В соответствии с учебной программой по аналитической химии студенты 2 курса фармацевтического факультета изучают основные инструментальные методы: спектрометрические, хроматографические, электрохимические, иммунохимические, радиометрические, кинетические. Наиболее простыми и доступными являются методы молекулярной спектрометрии (молекулярно-абсорбционная и молекулярно-эмиссионная). Методы атомной спектрометрии в фармацевтическом анализе применяются в основном в химико-токсикологическом анализе металлических токсикантов. Значительное внимание в учебной программе уделяется хроматографическим методам (методам газовой и жидкостной хроматографии). Эти методы относят к гибридным методам, так как они включают разделение веществ и их последующее определение с помощью специальных устройств – детекторов. На практических занятиях рассматриваются также основы электрохимических методов (вольтамперометрии, кондуктометрии, кулонометрии, потенциометрии). В последние годы широкое применение в химико-токсикологическом анализе находят иммунохимические методы, позволяющие непосредственно в биожидкостях определять лекарственные и наркотические вещества. Для этих методов характерны высокая чувствительность, групповая специфичность и простота исполнения. Изучение основных инструментальных методов сопровождается выполнением лабораторных работ, позволяющих приобрести необходимые практические навыки для проведения фармацевтического и химико-токсикологического анализов.*

**Ключевые слова:** инструментальные методы, хроматография, спектрометрия, электрохимические методы, электрофорез, иммунохимические методы, образовательный процесс, фармацевтический факультет.

### **ВВЕДЕНИЕ**

В программе по аналитической химии на фармацевтическом факультете значительное место уделяется инструментальным, или физико-химическим, методам анализа (лекции – 14 часов, лабораторные занятия – 65 часов) [1]. Инструментальные и химические методы составляют в целом предмет аналитической химии. На старших курсах эти методы широко применяются при изучении и освоении практических навыков по идентификации и количественному определению лекарственных и наркотических веществ (фармацевтическая и токсикологическая химия) [2, 3].

В процессе обучения используют

традиционные методы преподавания аналитической химии с элементами инновационных технологий: мультимедийные презентации лекционного материала, компьютерное тестирование, применение интерактивных ресурсов, рейтинговая система оценки знаний, дистанционное обучение.

При изучении инструментальных методов значительное внимание уделяется теоретическим основам этих методов, которые опираются на фундаментальные законы физики и химии.

Целью настоящей работы было продемонстрировать основные подходы к изучению инструментальных методов анализа студентами фармацевтического факультета.

## **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ**

Объектами исследования были типовые учебные программы по аналитической, фармацевтической и токсикологической химии [1–3], учебники, учебные пособия, монографии и другие литературные источники, характеризующие инструментальные методы анализа. В работе использовали методы описания, анализа, обобщения.

## **РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ**

Инструментальные методы характеризуются разнообразием и широким применением в химическом анализе.

Наибольшее значение имеют спектрометрические, хроматографические, электрохимические, радиометрические, кинетические, белоксвязывающие (иммунохимические, радиорецепторный) методы [5, 6].

Из перечисленных методов в фармацевтической практике (контрольно-аналитические и судебно-химические лаборатории) наиболее широко применяются спектрометрические, хроматографические и электрохимические методы. Поэтому в учебном процессе на фармацевтическом факультете эти методы изучаются как на лекциях, так и на лабораторных занятиях. В учебниках для студентов фармацевтического факультета излагаются также основы кинетических и радиометрических методов анализа. Белоксвязывающие методы рассматриваются на занятиях по токсикологической химии, так как они в основном применяются в химико-токсикологическом анализе.

### ***Инструментальные методы в аналитической химии***

Изучение инструментальных методов анализа в курсе аналитической химии начинается на лабораторном занятии «Общая характеристика инструментальных методов анализа. Способы расчета концентрации вещества по величине аналитического сигнала». На занятии обращается внимание студентов на то, что инструментальные методы анализа (ИМА) в отличие от химических методов (гравиметрии, титриметрии) обладают более низким пределом обнаружения, что позволяет применять их при определении микроколичеств как неорганических, так и органических веществ. Другой особенностью инструментальных методов явля-

ется их экспрессность [4].

На данном занятии выполняется лабораторная работа по фотометрическому определению цианокобаламина.

Спектрофотометрическими методами посвящены 5 занятий: «Фотометрическое определение железа (III)», «Фотометрическое определение этония», «УФ-спектрофотометрическое определение новокаина», «Флуориметрическое определение рибофлавина», «Флуориметрическое определение алюминия с морином» [7].

В ходе учебных занятий студенты изучают классификацию и теоретические основы спектрометрических методов.

Спектрометрические методы (абсорбционные и эмиссионные) основаны на измерении электромагнитного излучения, поглощенного или излучаемого анализируемым веществом. По другой классификации эти методы делят на методы атомной и молекулярной спектрометрии. К методам атомной спектрометрии относятся атомно-абсорбционная и атомно-эмиссионная спектрометрия.

Атомно-эмиссионная спектрометрия (АЭС), или оптико-эмиссионная спектрометрия (ОЭС), основана на получении и детектировании линейчатого спектра, испускаемого в процессе излучательной релаксации электронов, для которых характерен переход между верхними возбужденными уровнями и более низкими основными уровнями. Эти электроны называются оптическими электронами, принадлежат внешним оболочкам атома. Для каждого элемента линейчатый спектр специфичен, что позволяет использовать характерные линии для качественного и количественного анализа [5].

Атомно-абсорбционная спектрометрия (ААС) основана на поглощении излучения свободными атомами в основном состоянии. Величина поглощения связана с концентрацией атомов в основном состоянии. Большинство атомов даже при высоких температурах (5000 К) находится в основном состоянии. Спектры поглощения в отличие от спектров испускания более просты, поэтому вероятность спектральных помех низкая [5].

С целью повышения мотивации студентов к освоению учебного материала им показывают значение данных методов анализа для фармацевтической практики. Так, из методов молекулярной спектрометрии

наибольшее применение в фармацевтическом и химико-токсикологическом анализе находят молекулярная абсорбционная спектрометрия (УФ-, ИК- и спектрофотометрия в видимой области спектра) и молекулярная эмиссионная спектрометрия (флуориметрия). Теоретические основы этих методов рассматриваются на лекциях. На практических занятиях студенты выполняют лабораторные работы.

В настоящее время более 60% всех анализов выполняется с использованием хроматографических методов. Значимость хроматографических методов постоянно возрастает. Эти методы относят к гибридным методам, так как они включают разделение веществ и их последующее определение с помощью специальных устройств – детекторов (спектрометрических, электрохимических и др.) [8]. На лекциях по инструментальным методам анализа рассматриваются классификация и общие принципы хроматографических методов, основы газовой и жидкостной хроматографии. На 3-х лабораторных занятиях студенты выполняют лабораторные работы: «Хромато-спектрофотометрическое определение аминазина», «Качественный и количественный анализ смеси веществ методом газовой хроматографии», «Ионообменное определение хлорида натрия» [7].

На лабораторном занятии «Качественный и количественный анализ смеси веществ методом газовой хроматографии» студенты знакомятся с особенностями и возможностями газовой хроматографии. В газовой хроматографии подвижной фазой является газ, а неподвижной фазой служит твердый адсорбент (газо-адсорбционная или газо-твердофазная хроматография) и пленка жидкости, нанесенная на частицы твердого адсорбента (газо-жидкостная хроматография). Жидкость в качестве неподвижной фазы применяется в основном при анализе органических соединений. К основным характерным особенностям газовой хроматографии относятся [9]:

- высокая чувствительность ( $10^{-8}$ – $10^{-9}$  мг/мл);
- высокая разделительная способность;
- универсальность;
- экспрессность;
- малый размер пробы;
- возможность автоматизации процесса анализа;

– высокая точность анализа ( $\pm 5\%$  – погрешность измерений).

Основным параметром газовой хроматографии является время удерживания.

В настоящее время в фармацевтическом анализе жидкостная хроматография является одним из наиболее широко применяемых методов. Студентами изучается классификация методов жидкостной хроматографии, которая проводится по 8 основным признакам (агрегатное состояние хроматографической системы, способ перемещения сорбата, конфигурация разделяющей системы, относительная полярность подвижной и неподвижной фаз, механизм разделения веществ, цели и задачи, химическое превращение сорбата, способ детектирования) [4, 9].

Жидкостная хроматография по конструктивным особенностям подразделяется на открытые и замкнутые системы высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

В настоящее время в анализе лекарственных средств широко применяется ВЭЖХ – скоростная жидкостная хроматография. Высокая эффективность скоростной жидкостной хроматографии обеспечивается применением частиц с диаметром 3–10 мкм и высокого давления. Уменьшение размера частиц снижает высоту теоретической тарелки и, соответственно, повышает эффективность разделения. ВЭЖХ – это современная форма реализации классической жидкостной колоночной хроматографии [9].

Внимание студентов постоянно акцентируется на возможностях метода, его практическом значении. Так, ВЭЖХ используется для разделения и определения молекул (жидкостная адсорбционная и жидкостная распределительная хроматография), для разделения макромолекул (гель-хроматография), для разделения и определения ионов (ионообменная, ионная и ион-парная хроматография).

Программой предусмотрено изучение метода сверхпроизводительной высокоэффективной (сверхэффективной) жидкостной хроматографии (СВЭЖХ, UPLC, ultra performance liquid chromatography), которая является развитием метода ВЭЖХ за счет применения сорбентов с размером частиц менее 3 мкм. Применение малых частиц сорбента позволяет повысить эффективность, увеличить разрешение между пи-

ками, повысить чувствительность (за счет сужения пиков), что позволяет выполнять большое число исследований в сравнении с ВЭЖХ [10]. Метод СВЭЖХ широко применяется в случаях анализа большого количества проб за возможно малый промежуток времени: при исследовании биоэквивалентности и при терапевтическом лекарственном мониторинге. Наиболее подходящим способом детектирования при проведении таких исследований является тандемная масс-спектрометрия.

Значительное внимание на лабораторных занятиях уделяется планарной хроматографии. В планарной хроматографии процессы разделения веществ осуществляются в плоском слое сорбента [9]. Планарная, или плоскостная, хроматография относится к жидкостной хроматографии, так как подвижной фазой является жидкость. Основные методы плоскостной хроматографии:

- тонкослойная хроматография (ТСХ);
- хроматография на бумаге.

В ходе занятий подчеркивается, что бумажная и тонкослойная хроматографии – простые и сходные по технике выполнения экспрессные методы, не требующие дорогостоящего оборудования. Доступность и относительная дешевизна используемых реактивов и оборудования в сочетании с высокой чувствительностью позволяют широко использовать методы планарной хроматографии для решения различных аналитических задач.

На занятиях студенты осваивают хроматографическое разделение компонентов смеси методом плоскостной хроматографии, которое обусловлено переносом компонентов подвижной фазы вдоль слоя неподвижной фазы в соответствии с коэффициентами распределения определяемых компонентов. Движение подвижной фазы может осуществляться за счет капиллярных, гравитационных или электромиграционных сил.

В ходе изучения дисциплины «Аналитическая химия» студенты убеждаются, что методы планарной хроматографии – это не только методы, в которых движение подвижной фазы происходит под действием капиллярных сил (бумажная, тонкослойная и высокоэффективная ТСХ), но и методы, в которых приложены различные внешние силы (ТСХ под давлением, круговая ТСХ под давлением, ТСХ под дей-

ствием центробежной силы – ротационная ТСХ) [9, 11].

Наиболее широко из методов планарной хроматографии в настоящее время применяются методы ТСХ и высокоэффективная ТСХ (ВЭТСХ), которым при подготовке студентов фармацевтического факультета уделяется значительное внимание. Качественный анализ смеси методом ЖХ проводят аналогично идентификации компонентов смеси методом газовой хроматографии, то есть определяют времена или объемы удерживания  $t_R(V_R)$  и рассчитывают относительное время удерживания.

Количественное определение компонентов смеси основано на пропорциональной зависимости высоты пика или его площади от количества хроматографируемого компонента. Студенты учатся интерпретировать результаты хроматографического анализа. Основными методами определения количественного состава смесей являются метод градуировочного графика и метод внутреннего стандарта. В ВЭЖХ метод нормировки редко используется, так как в методе ВЭЖХ нет детектора (подобного катарометру в ГХ), обладающего общей чувствительностью к соединениям различной химической природы [9].

В современных хроматографах пики обрабатываются с помощью компьютеров, и исследователь (аналитик) получает нужные параметры в печатном виде: название веществ, времена удерживания, площади пиков и содержание компонентов анализируемого образца.

Программой по аналитической химии также предусмотрено изучение таких электрохимических методов, как вольтамперометрия, кондуктометрия, кулонометрия, потенциометрия, которые в фармацевтическом и химико-токсикологическом анализе применяются значительно реже. Эти методы основаны на использовании процессов, которые происходят в электрохимической ячейке, состоящей из электродов и электролита. В химико-токсикологическом анализе применяется вольтамперометрия для целей качественного и количественного определения некоторых элементов. Если в растворе находится несколько элементов, то получается полярографический спектр ионов. По потенциалам полуволн идентифицируют элементы. Вольтамперометрическое определение

ртути – альтернатива атомно-абсорбционному определению ртути (метод «холодного» пара) [11].

На лекциях по аналитической химии со студентами рассматриваются теоретические основы и практическое применение основных электрохимических методов (вольтамперометрия, кондуктометрия, кулонометрия, потенциометрия). На практических занятиях выполняются лабораторные работы: «Определении фосфата и гидрофосфата натрия методом потенциометрического титрования», «Кондуктометрическое определение смеси кислот» [7].

В ходе занятий студенты выясняют, что кондуктометрия позволяет определять общую концентрацию солей в биологических жидкостях, так как этот метод обладает малой избирательностью. Различают прямую и косвенную, переменноточковую и постоянноточковую кондуктометрию. Высокочастотная кондуктометрия (осциллометрия) применяется при анализе агрессивных сред и растворов, находящихся в замкнутых емкостях.

Обучающиеся знакомятся с методами кулонометрии. Различают потенциостатическую и гальваностатическую, прямую кулонометрию и кулонометрическое титрование. Прямая кулонометрия применяется при определении соединений меди, серебра и других элементов, а также для определения фенолов, азосоединений и т. д. Кулонометрическое титрование применяется при определении как неорганических (соединения мышьяка, сурьмы, железа, таллия и др.), так и органических соединений (алкалоиды и синтетические органические основания).

Потенциометрическое титрование применяется при определении кислот, оснований, солей. Амперометрическое титрование с двумя электродами применяется в фармацевтическом анализе при проведении иодометрического титрования, а также при определении воды по методу К. Фишера.

При изучении аналитической химии студентами выполняется контрольная работа, которая содержит вопросы по теоретическим основам инструментальных методов анализа. На экзамене по практическим навыкам студенты проводят фотометрическое определение железа (III), УФ-спектрофотометрическое определение новокаина, флуориметрическое определение

рибофлавина, ионообменное определение натрия хлорида. В перечень вопросов к устному собеседованию на экзамене по аналитической химии включены вопросы по инструментальным методам анализа.

### **Применение инструментальных методов в химико-токсикологическом анализе**

При подготовке медицинских судебных экспертов-химиков особое внимание при изучении основ токсикологической химии уделяется использованию инструментальных методов в судебно-химической экспертизе и химико-токсикологическом анализе [12].

Для определения лекарственных и наркотических веществ в биологических объектах используются различные инструментальные методы, которые студенты осваивают в ходе изучения токсикологической химии. Идеальный метод должен обладать следующими свойствами:

- высокая чувствительность,
- большая избирательность,
- надежность и воспроизводимость,
- экспрессность,
- возможность работы с малыми объемами проб,
- простая пробоподготовка,
- возможность автоматизации,
- универсальность.

Однако идеального метода для определения лекарственных веществ в биологических объектах не существует. Все известные методы имеют как положительные, так и отрицательные свойства. Лучшим среди известных методов является хромато-масс-спектрометрия (ХМС). В химико-фармацевтической лаборатории ВГМУ студенты в производственных условиях знакомятся с работой хромато-масс-спектрометра. Хромато-масс-спектрометрия – гибридный метод анализа, позволяющий разделять вещества методом газовой или жидкостной хроматографии, а идентификацию и количественное определение проводят методом масс-спектрометрии. Масс-спектрометрия основана на определении отношения массы к заряду ( $m/z$ ) ионов, а также количества ионов, возникающих при ионизации анализируемого вещества. Ионизации подвергают вещества, находящиеся в газообразном состоянии. Проводят ионизацию разными методами (химической иониза-

цией, с помощью лазера, электронным ударом). При ионизации образуются как положительные, так и отрицательно заряженные ионы. Однако отрицательно заряженных ионов образуется незначительное количество и к тому же у ограниченного числа соединений. Наиболее вероятным является образование однозарядных положительных ионов. Приборы, как правило, настроены на регистрацию положительно заряженных ионов.

Образовавшиеся при ионизации ионы разделяются согласно величине  $m/z$  с помощью масс-анализатора, в котором разделение ионов происходит в магнитном или электрическом поле. В современных масс-спектрометрах для регистрации образующихся ионов чаще используются высокочувствительные электронные умножители. Зависимость ионного тока от величины  $m/z$  ионов графически представляется в виде масс-спектра вещества. Неизвестное соединение считают идентифицированным, если масс-спектр вещества в смеси совпадает с масс-спектром стандартного вещества. При этом исследование неизвестного и стандартного веществ проводят в одинаковых условиях.

Обращается внимание студентов на недостатки ХМС: высокая стоимость прибора, сложность проведения анализа, необходимость специально подготовленного персонала. Метод используется в качестве эталонного при точном определении концентрации лекарственных веществ.

В программу включены также спектрометрические (молекулярно-абсорбционные и молекулярно-эмиссионные) методы, основанные на измерении электромагнитного излучения, поглощенного или излучаемого анализируемым веществом. К этим методам относятся: спектрометрия в УФ и видимой областях, а также флуориметрия. Вещества, не поглощающие в УФ (200–400 нм) области, переводят в окрашенные соединения при обработке соответствующими реагентами. Фотометрические методы просты в исполнении и не отличаются высокой стоимостью. Для изучения данных методов используются приборы кафедры токсикологической и аналитической химии и химико-фармацевтической лаборатории.

Несмотря на то что флуориметрия имеет ограниченное применение в химико-токсикологическом анализе, так как

небольшое количество органических веществ обладает собственной флуоресценцией, этот метод также предусмотрен программой подготовки будущих провизоров. Для нефлуоресцирующих веществ предложены способы перевода их в флуоресцирующие соединения с последующим измерением интенсивности флуоресценции. Флуориметрия – более чувствительный и избирательный метод по сравнению с фотометрией.

Преимуществом хроматографических методов (ТСХ, ГЖХ, ВЭЖХ) является возможность быстро и точно определять в одной пробе несколько лекарственных веществ, но ГЖХ и ВЭЖХ трудоемки для широкого практического применения. Хроматографические методы можно рассматривать как комбинированные (гибридные) методы, в которых разделение веществ производится методами хроматографии, а регистрация и количественное определение может осуществляться спектральными, электрохимическими и другими методами. Выбор метода хроматографического анализа зависит от свойств анализируемого вещества. В химико-токсикологическом анализе широкое применение находят газо-жидкостная (ГЖХ) и ВЭЖХ.

До сведения студентов доводится, что ГЖХ имеет некоторые преимущества перед ВЭЖХ:

- дешевле приборы;
- колонки можно приготовить в лаборатории;
- выше чувствительность, особенно в случае применения масс-спектрального детектора, детектора электронного захвата;
- требуется малый объем пробы.

Однако при определении веществ этим методом требуется достаточная летучесть определяемых веществ, сложная пробоподготовка, удаление нелетучих примесей, приготовление безводного раствора.

Известные способы перевода нелетучих веществ в летучие сложны и трудоемки. Проведение анализа при высоких температурах колонки (200–300 °С) приводит к деструкции определяемого вещества, что является причиной ошибок.

Метод ВЭЖХ позволяет анализировать водные растворы, сокращается время анализа, для этого метода характерно быстрое установление равновесия между подвижной и неподвижной фазами, отпа-

дают ограничения по термоустойчивости, не требуется летучесть веществ. Применение специфических и неразрушающих методов детектирования позволяет, например, снимать электронные спектры отдельных фракций.

Все данные характеристики метода студенты изучают на занятии по токсикологической химии. Их внимание обращается также на недостатки ВЭЖХ, к которым можно отнести: малую чувствительность детекторов, ограниченные возможности спектрофотометрического детектора (180–700 нм), более дорогостоящую аппаратуру и сложность заполнения колонок. Методики с применением метода ВЭЖХ требуют значительных количеств высокочистых органических растворителей. Очистка растворителей в лабораториях – весьма трудоемкий процесс, а очищенные растворители дорогие. Чувствительность метода определяется типом используемого детектора. Наиболее чувствительными являются флуоресцентный и МС-детекторы, наиболее универсальными – спектрофотометрический.

Вариант распределительной хроматографии с обращенной фазой наиболее часто применяется и позволяет определять большое количество веществ. В качестве подвижной фазы используются водно-органические смеси, как правило, это буферные растворы с добавкой смешивающихся с водой органических растворителей (метанол, ацетонитрил, реже – ацетон).

Предложены методики прямого ВЭЖХ – определения лекарственных веществ в биологических жидкостях после предварительного осаждения белков. В настоящее время в основном применяются обращенные фазы с «привитыми» алкильными заместителями ( $C_{18}$ , реже  $C_8$ ).

Важным разделом программы по токсикологической химии являются иммунохимические методы (ИХМ) анализа [12].

Инструментальные методы анализа (хроматографические, электрохимические, спектрометрические), применяемые для обнаружения и количественного определения лекарственных и наркотических веществ в биожидкостях, как правило, требуют предварительной пробоподготовки образцов. Поэтому на занятиях студенты изучают преимущественно иммунохимические методы анализа, которые позволяют определять токсические вещества в

биожидкостях без их предварительного выделения.

Использование специфических взаимодействий антиген-антитело позволяет проводить идентификацию и количественное определение лекарственных и наркотических веществ в биологических жидкостях. Поскольку реакция проводится непосредственно в биожидкости, то не требуется дополнительное применение методов изолирования и очистки. Методы иммунохимического анализа позволяют анализировать большое число проб без предварительной подготовки. Для ИХМ характерны также высокая чувствительность, групповая специфичность и простота исполнения. Чувствительность и специфичность ИХМ в значительной степени определяют антитела, содержащиеся в своей структуре специфические антигенсвязывающие центры. Антитела связывают не только вещества, похожие на антигены, но и структурно родственные вещества.

При этом особое внимание студентов обращается на ряд недостатков, характерных для классических методов иммунохимического анализа, в которых иммунная реакция обнаруживалась по визуальному изменению состояния реагентов (агглютинация, преципитация) или по характерному изменению биообъектов, добавляемых к реакционной смеси, а именно: для визуальной регистрации аналитического сигнала реакции антиген-антитело (Аг-Ат) требуются высокие концентрации компонентов и длительное время проведения реакции.

Введение метки в компоненты реакционной смеси увеличивает чувствительность ИХМ. Применяют ферментные, флуоресцентные, радионуклидные, парамагнитные и другие метки. Методы иммунохимического анализа, основанные на применении меченных реагентов, находят широкое применение для определения биологически активных соединений различной структуры (от низкомолекулярных гормонов до высокомолекулярных вирусов) [12].

На занятиях студенты изучают классификацию иммунохимических методов по разным признакам (характеристики антител, тип применяемой метки, техника выполнения, способ детектирования и др.).

Наиболее широко для определения лекарственных и наркотических веществ в

биологических объектах применяются иммуноферментный, радиоиммунный методы и поляризационный флуоресцентный иммуноанализ. Основные объекты исследования для скрининговых иммунотестов – моча и кровь. В моче меньше протеинов и продуктов распада эндогенных веществ. Матричный эффект, кросс-реактивность сильнее сказываются при исследовании крови. Для осаждения белков используют ацетонитрил и другие органические растворители.

На лекциях и лабораторных занятиях рассматриваются теоретические основы иммунохимических методов, примеры определений, возможные источники ошибок, об-

ласти применения и недостатки различных вариантов иммунохимических методов.

В результате изучения инструментальных методов анализа студенты приобретают практические навыки работы с основными приборами, используемыми в анализе (фотометр, спектрофотометр, флуориметр, иономер и др.), а также овладевают техникой анализа различных объектов с помощью инструментальных методов.

В таблице представлена сравнительная оценка основных инструментальных методов определения лекарственных веществ в биологических объектах.

Таблица 1. – Сравнительная оценка инструментальных методов определения лекарственных веществ в биологических объектах

Методы	Чувствительность		Сложность	Избирательность	Универсальность	Суммарная оценка
	в граммах	оценка				
Хромато-масс-спектрометрия	$10^{-11}$ – $10^{-12}$	5	-5	5	4	9
Иммунохимические	$10^{-10}$ – $10^{-11}$	5	-1	4	1	9
Газовая хроматография: – детектор электронного захвата – пламенно-ионизационный детектор	$10^{-10}$ $10^{-8}$ – $10^{-9}$	5 4	-4 -3	4 2	2 4	7 7
Жидкостная хроматография: – УФ-детектор – флуоресцентный детектор	$10^{-7}$ $10^{-8}$ – $10^{-9}$	3 4	-3 -4	4 5	4 2	8 7
ТСХ	$10^{-6}$ – $10^{-7}$	3	-1	2	4	7
Спектрофотометрия	$10^{-6}$ – $10^{-7}$	3	-2	2	4	7
Флуориметрия	$10^{-8}$ – $10^{-9}$	4	-2	4	1	7

По суммарной оценке некоторое преимущество имеют хромато-масс-спектрометрия и иммунохимические методы. Однако эти методы имеют и определенные недостатки (дорогостоящее оборудование, наборы специфических реактивов и др.).

На занятиях по токсикологической химии студенты выполняют лабораторные работы: «Фотометрическое определение висмута в минерализате», «Экстракционно-фотометрическое определение свинца и сурьмы в минерализате», «Фотометрическое определение аминазина в крови», «УФ-спектрофотометрическое определение барбитала в крови», «Флуориметрическое определение хинина в крови», «Обнаружение и количественное определение карбоксигемоглобина в крови спектрофотометрическим методом», «Газохроматографическое определение летучих токсиантов», «ТСХ-скрининг лекарственных

веществ». Перечисленные лабораторные работы входят в перечень работ к экзамену по практическим навыкам по токсикологической химии.

Лабораторное занятие по газохроматографическому определению летучих токсиантов проводится на базе химико-фармацевтической лаборатории ВГМУ, что существенно повышает практикоориентированность обучения.

Изучение ИМА будет неполным без рассмотрения основных методов разделения и концентрирования. При анализе сложных объектов (лекарственные средства, биологические объекты) определению интересующего нас объекта могут мешать посторонние вещества, которые необходимо отделить. Кроме того, концентрация определяемого вещества может быть настолько низкой, что чувствительность используемого метода анализа будет недостаточной. В этом случае используют



разные методы разделения и концентрирования. На занятиях рассматриваются основные методы разделения и концентрирования – жидкость-жидкостная и твердо-фазная экстракция. Эти методы широко используются для разделения и концентрирования органических и неорганических веществ. Метод твердо-фазной экстракции имеет некоторые преимущества перед жидкость-жидкостной экстракцией: экспрессный, не требуется применение токсичных органических растворителей и др.

Для подготовки к занятиям для студентов фармацевтического факультета подготовлены и изданы учебные пособия с грифом Министерства образования и Министерства здравоохранения Республики Беларусь [7, 9, 11, 12].

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

К основным инструментальным методам анализа, изучаемым на фармацевтическом факультете, относятся спектрометрические, хроматографические, электрохимические и иммунохимические. Значимость этих методов постоянно возрастает, так как они отличаются высокой чувствительностью и избирательностью, что позволяет применять их как при контроле качества лекарственных средств, так и при исследовании биологических объектов на наличие токсических веществ. На лабораторных занятиях студенты изучают теоретические основы этих методов и приобретают необходимые практические навыки для применения их в фармацевтическом и химико-токсикологическом анализе.

### SUMMARY

A. I. Zhebentyaev  
INSTRUMENTAL METHODS  
OF ANALYSIS IN THE EDUCATIONAL  
PROCESS AT THE PHARMACEUTICAL  
FACULTY

Importance of instrumental methods of analysis is constantly increasing because unlike chemical methods they are characterized by high sensitivity and selectivity. In accordance with the analytical chemistry curriculum 2nd year pharmaceutical students study the main instrumental methods: spectrometric, chromatographic, electrochemical, immunochemical, radiometric and kinetic ones.

Molecular spectrometry methods (molecular and absorption spectrometry and molecular and emission spectrometry) are the easiest and most available. Atomic spectrometry methods in pharmaceutical analysis are used mainly in chemical toxicological analysis of metal toxicants. Significant attention in the curriculum is paid to chromatographic methods (gas and liquid chromatography methods). These methods refer to hybrid methods since they include separation of substances and their subsequent determination using special devices - detectors. Fundamentals of electrochemical methods (voltammetry, conductometry, coulometry, potentiometry) are also considered in practical classes. In recent years immunochemical methods have been widely used in chemical toxicological analysis making it possible to determine drugs and narcotic substances in bioliquids directly. These methods are characterized by high sensitivity, group specificity and simplicity of conduction. The study of basic instrumental methods is accompanied by laboratory works allowing to acquire necessary practical skills for conducting pharmaceutical and chemical toxicological analysis.

Keywords: instrumental methods, chromatography, spectrometry, electrochemical methods, electrophoresis, immunochemical methods, educational process, the Pharmaceutical Faculty.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Аналитическая химия: типовая учеб. программа по учеб. дисциплине для специальности 1-79 01 08 «Фармация» / сост.: А. И. Жебентяев, М. Н. Сабодина, М. Л. Пивовар. – Минск, 2022. – 22 с.
2. Фармацевтическая химия: типовая учеб. программа по учеб. дисциплине для специальности 1-79 01 08 «Фармация» / сост.: А. К. Жерносек, В. А. Куликов, Ж. М. Дергачёва. – Минск, 2015. – 26 с.
3. Токсикологическая химия: типовая учеб. программа по учеб. дисциплине для специальности 1-79 01 08 «Фармация» / сост.: А. И. Жебентяев, М. Л. Пивовар, Е. Н. Каткова. – Минск, 2016. – 21 с.
4. Основы аналитической химии: учеб. для вузов : в 2 кн. Кн. 1 / под ред. Ю. А. Золотова. – Москва: Высш. шк., 2004. – 460 с.
5. Отто, М. Современные методы аналитической химии / М. Отто. – 3-е изд. – Москва: Техносфера, 2008. – 544 с.
6. Аналитическая химия. Проблемы и подходы: в 2 т. : пер. с англ. / под ред. Р. Кельнера

[и др.]. – Москва: Мир : АСТ, 2004. – 2 т.

7. Жебентяев, А. И. Аналитическая химия. Практикум : учеб. пособие / А. И. Жебентяев, А. К. Жерносек, И. Е. Талуть. – Минск: Новое знание ; Москва: ИНФРА-М, 2013. – 429 с.

8. Спутник хроматографиста. Методы жидкостной хроматографии / О. Б. Рудаков [и др.]. – Воронеж: Водолей, 2004. – 528 с.

9. Жебентяев, А. И. Аналитическая химия. Хроматографические методы анализа: учеб. пособие / А. И. Жебентяев. – Минск: Новое знание ; Москва: ИНФРА-М, 2013. – 206 с.

10. ВЭЖХ и СВЭЖХ как методы определения лекарственных веществ в крови (обзор) / Ю. В. Медведев [и др.] // Химико-фармацевт. журн. – 2013. – Т. 47, № 4. – С. 45–51.

11. Жебентяев, А. И. Аналитическая химия. Инструментальные методы анализа: учеб. пособие / А. И. Жебентяев, А. К. Жерносек, И. Е. Талуть. – Минск: Новое знание, 2021. – 360 с.

12. Жебентяев, А. И. Токсикологическая химия: учеб. пособие : в 2 ч. / А. И. Жебентяев. – Витебск: Витебский гос. мед. ун-т. – Ч.1. – 2014. Ч. 2. – 2015.

#### REFERENCES

1. Analytical chemistry: tipovaia ucheb programma po ucheb distsipline dlia spetsial'nosti 1-79 01 08 «Farmatsiia». Zhebentiaev AI, Sabodina MN, Pivovar ML, sostaviteli. Minsk, RB; 2022. 22 s. (In Russ.)

2. Pharmaceutical chemistry: tipovaia ucheb programma po ucheb distsipline dlia spetsial'nosti 1-79 01 08 «Farmatsiia». Zhernosek AK, Kulikov VA, Dergacheva ZhM, sostaviteli. Minsk, RB; 2015. 26 s. (In Russ.)

3. Toxicological chemistry: tipovaia ucheb programma po ucheb distsipline dlia spetsial'nosti 1-79 01 08 «Farmatsiia». Zhebentiaev AI, Pivovar ML, Katkova EN, sostaviteli. Minsk, RB; 2016. 21 s. (In Russ.)

4. Zolotov IuA, redaktor. Fundamentals of Analytical Chemistry: ucheb dlia vuzov : v 2 kn. Kn.

1. Moskva, RF: Vyssh shk; 2004. 460 s. (In Russ.)

5. Otto M. Modern methods of analytical chemistry. 3rd ed. Moskva, RF: Tekhnosfera; 2008. 544 s. (In Russ.)

6. Kel'ner R, Merme ZhM, Otto M, Vidmer GM, redactory. Analytical chemistry. Problems and approaches: v 2 t : per s angl. Moskva, RF: Mir; 2004. 2 t. (In Russ.)

7. Zhebentiaev AI, Zhernosek AK, Talut' IE. Analytical chemistry. Praktikum : ucheb posobie. Minsk, RB: Novoe znanie; 2013. 429 s. (In Russ.)

8. Rudakov OB, Vostrov IA, Fedorov SV, Filippov AA, Selemenev VF, Pridantsev AA. Chromatographer's Companion. Liquid Chromatography Methods. Voronezh, RF: Vodolei; 2004. 528 s. (In Russ.)

9. Zhebentiaev AI. Analytical chemistry. Chromatographic methods of analysis: ucheb posobie. Minsk, RB: Novoe znanie; 2013. 206 s. (In Russ.)

10. Medvedev IuV, Ramenskaia GV, Shokhin IE, Iarushok TA. HPLC and UHPLC as methods for the determination of drugs in the blood (review). Khimiko-farmatsevt zhurn. 2013;47(4):45–51. doi: 10.30906/0023-1134-2013-47-4-45-51. (In Russ.)

11. Zhebentiaev AI, Zhernosek AK, Talut' IE. Analytical chemistry. Instrumental methods of analysis: ucheb posobie. Minsk, RB: Novoe znanie; 2021. 360 s. (In Russ.)

12. Zhebentiaev AI. Toxicological chemistry: ucheb posobie : v 2 ch. Vitebsk, RB: Vitebskii gos med un-t. Ch.1. 2014. Ch. 2. 2015. (In Russ.)

#### Адрес для корреспонденции:

210023, Республика Беларусь,

г. Витебск, пр. Фрунзе, 27,

УО «Витебский государственный ордена

Дружбы народов медицинский университет»,

кафедра токсикологической

и аналитической химии,

тел.: +375 (212) 64 81 34,

Жебентяев А. И.

Поступила 20.09.2022 г.