



КАФЕДРА ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ ХИМИИ

**ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ
МЕТОДЫ В АНАЛИЗЕ
ЛЕКАРСТВЕННЫХ
ВЕЩЕСТВ.**

СПЕКТРОФОТОМЕТРИЯ.

Метод спектрофотометрии основан на измерении интенсивности поглощенного света (электромагнитного излучения) испытуемым веществом.

Различают:

- 1) **УФ-спектрофотометрия**, где вещество поглощает э/м излучение от 190 до 400 нм.
- 2) **Спектрофотометрия в видимой области спектра**, где вещество поглощает э/м излучение от 400 до 700 нм.
- 3) **ИК-спектрофотометрия**, где вещество поглощает э/м излучение от 700 до 30000 нм.

1 нанометр = 10^{-9} метра, 1 нанометр (нм) = 0,001 (мкм)

СПЕКТРОФОТОМЕТРИЯ.

В основе метода лежит закон Бугера-Ламберта-Бера:

$$\lg \frac{J_0}{J} = D = x \cdot c \cdot b, \text{ где}$$

D – оптическая плотность – это \lg отношения интенсивности света падающего к прошедшему;

C – концентрация вещества;

b – толщина кюветы;

X – коэффициент светопоглощения. Различают молярный коэффициент светопоглощения (ϵ) – это оптическая плотность одномолярного раствора при толщине кюветы 1 см и **Удельный коэффициент светопоглощения ($E^{1\%}$)** – это оптическая плотность 1% раствора при толщине кюветы 1 см.

СПЕКТРОФОТОМЕТРИЯ.

Устройство приборов (УФ и ИК спектрофотометров)

Основными частями прибора являются:

- 1) **источник излучения:**
 - а) лампа накаливания для видимой области
 - б) газоразрядная водородная лампа для УФ-области
 - в) лампа для ИК-излучения
- 2) **монохроматор** – выдает одну длину волны (340нм)
- 3) **диспергирующая система** на основе кварцевой призмы
- 4) **кюветное отделение**
- 5) **фотометрическое устройство**

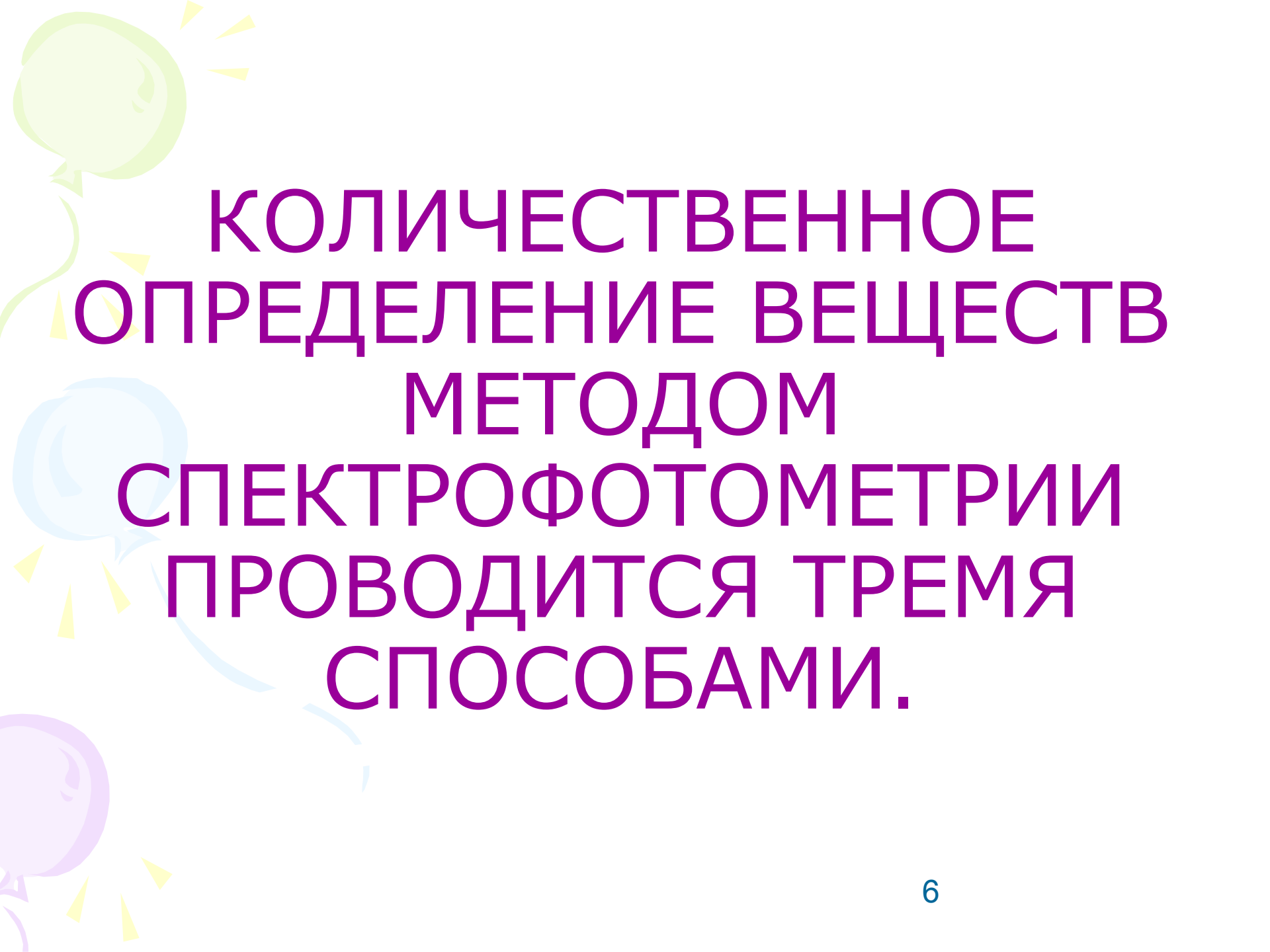
СПЕКТРОФОТОМЕТРИЯ.

Устройство приборов (УФ и ИК спектрофотометров)

- 1) **Спектрофотометр для УФ и видимой области спектра** имеет следующие шкалы: **оптическая плотность (D)**, **шкала пропускания света (T,%)** и **шкала длины волны (λ ,нм)**;
- 2) **ИК спектрофотометр** имеет следующие шкалы: **оптическая плотность (D)**, **шкала пропускания света (T,%)**, **шкала длины волны в ВОЛНОВЫХ ЧИСЛАХ (ν ,см⁻¹)**;

Волновое число определяют по формуле:

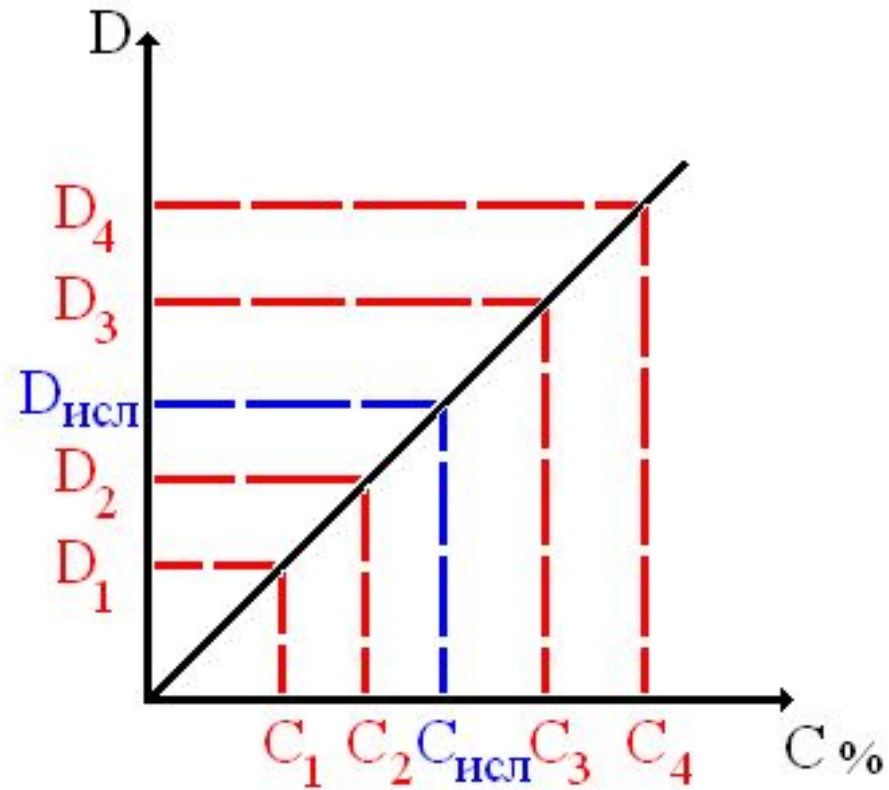
$$\nu = \frac{10^4}{\lambda}, \text{ где } \lambda \text{-длина волны выражается в микрометрах (мкм)}$$



КОЛИЧЕСТВЕННОЕ
ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВЕЩЕСТВ
МЕТОДОМ
СПЕКТРОФОТОМЕТРИИ
ПРОВОДИТСЯ ТРЕМЯ
СПОСОБАМИ.

1. По калибровочному графику.

Берется серия стандартных растворов исследуемого вещества с известной концентрацией (C_1, C_2, C_3, C_4), измеряется их оптическая плотность (D_1, D_2, D_3, D_4) и строится калибровочный график. Затем измеряют оптическую плотность исследуемого раствора $D_{\text{исл}}$ и по графику находят $C_{\text{исл}}$.



2. По закону Бугера-Ламберта-Бера

$$D = X \cdot C \cdot b$$

Берут исследуемый раствор ($C_{\text{исл}}$) и измеряют его оптическую плотность ($D_{\text{исл}}$), в таблице находят коэффициент светопоглощения и по формуле рассчитывают $C_{\text{исл}}$:

$$C_{\text{исл}} = \frac{D_{\text{исл}}}{X \cdot b}$$

3. Через стандартный раствор.

Измеряют оптическую плотность исследуемого раствора:

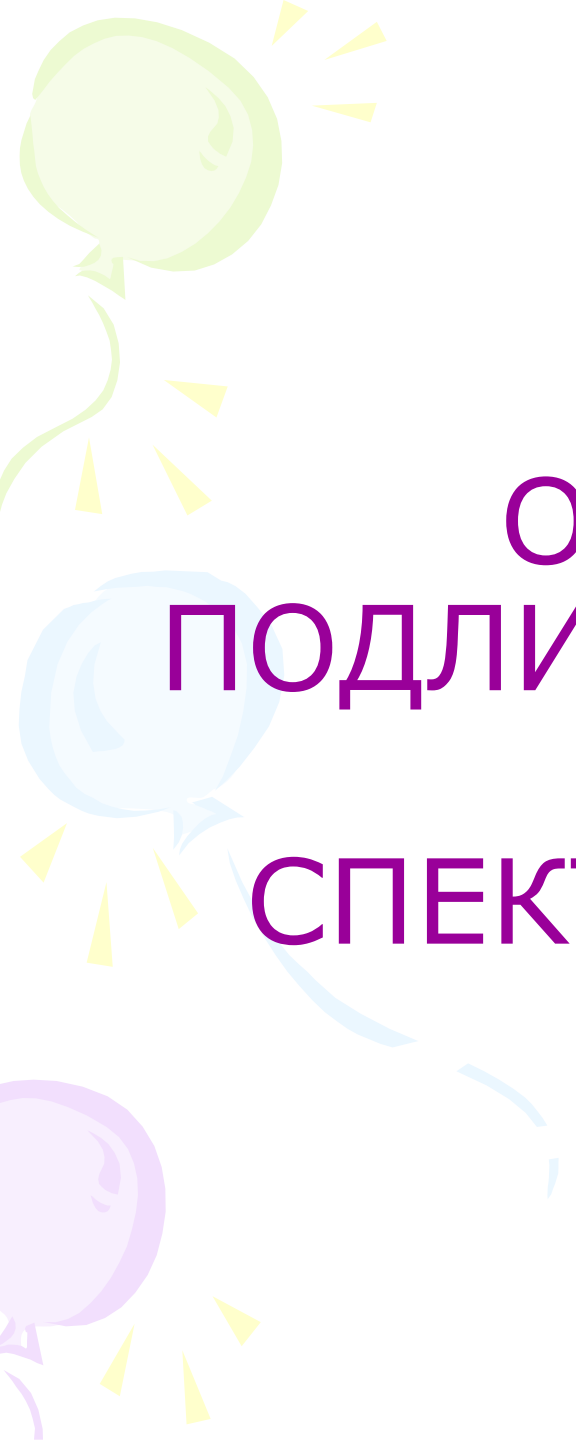
$$D_{\text{исл}} = X \cdot C_{\text{исл}} \cdot b$$

Затем измеряют оптическую плотность стандартного раствора:

$$D_{\text{ст}} = X \cdot C_{\text{ст}} \cdot b$$

Из двух пропорций выводят формулу и находят концентрацию исследуемого раствора:

$$C_{\text{исл}} = \frac{D_{\text{исл}} \cdot C_{\text{ст}}}{D_{\text{ст}}}$$

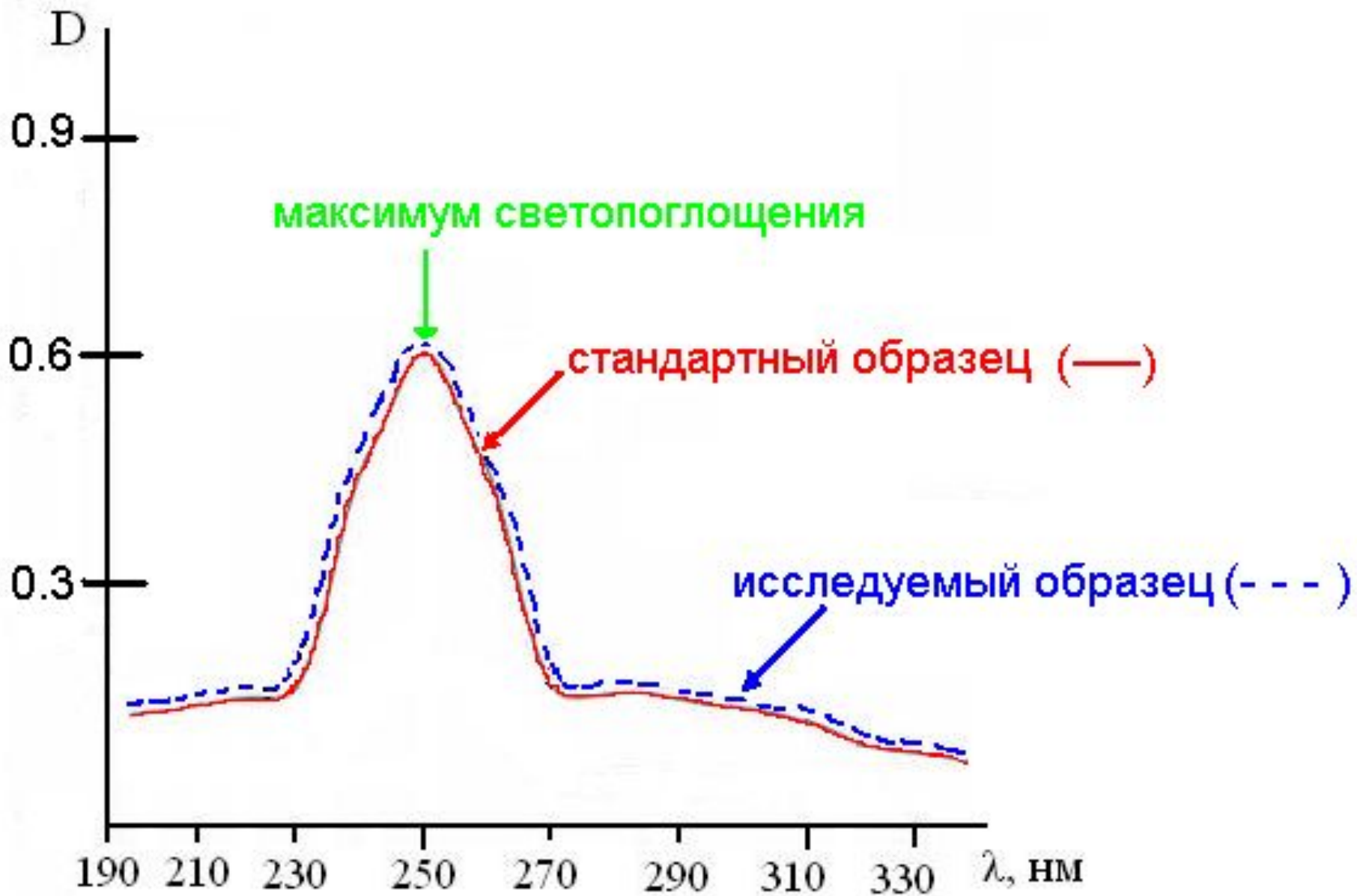


ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПОДЛИННОСТИ ВЕЩЕСТВ МЕТОДОМ СПЕКТРОФОТОМЕТРИИ

Подлинность с помощью УФ спектрофотометрии.

Снимают УФ - спектр исследуемого образца, затем снимают УФ - спектр **стандартного образца**. Они должны быть **идентичны**.

В УФ - спектрофотометрии поглощают электромагнитное излучение **электроны всей молекулы** исследуемого вещества и на спектограмме мы наблюдаем **один максимум светопоглощения**.

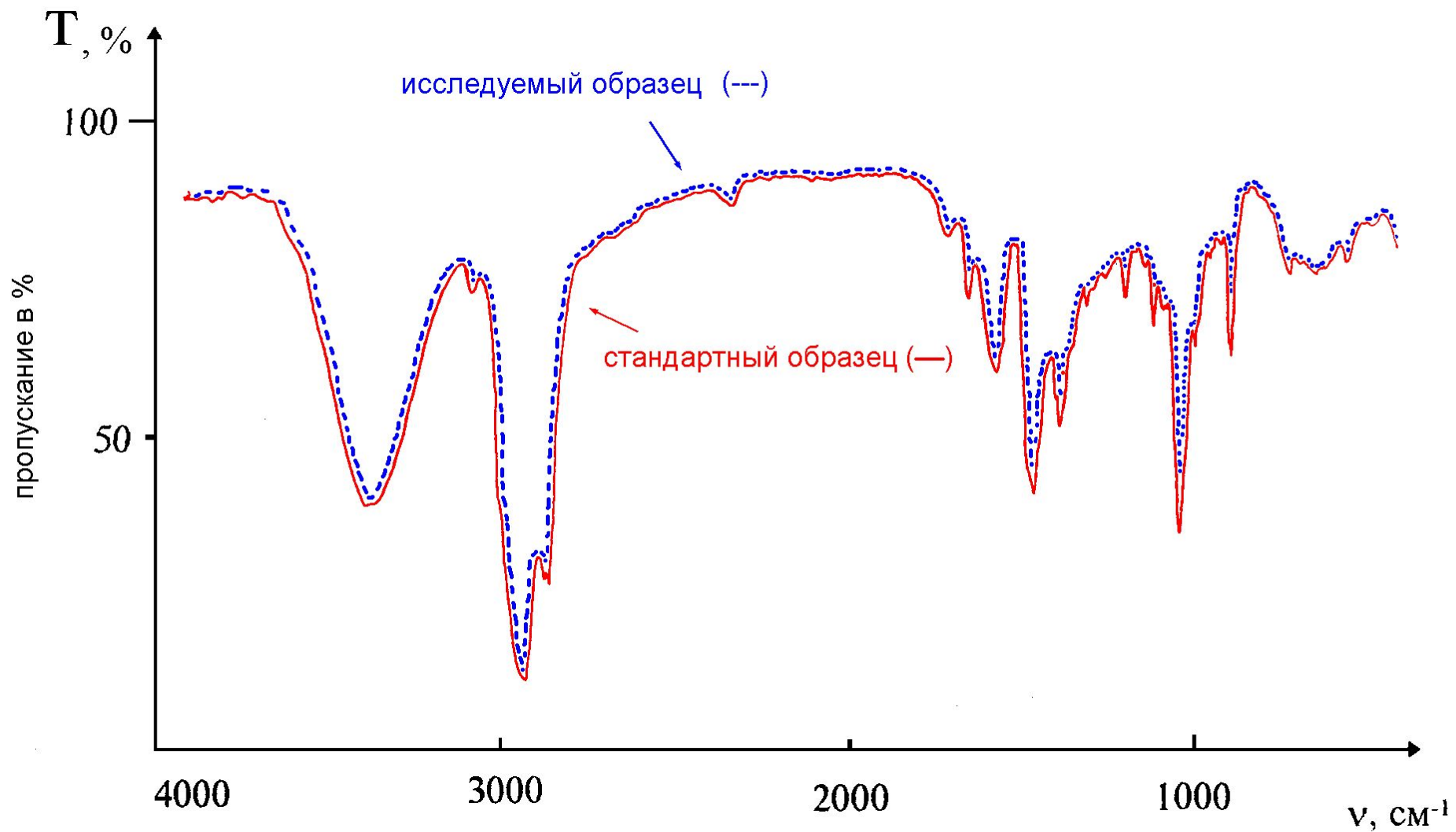


Подлинность с помощью ИК спектроскопии.

Снимают ИК - спектр исследуемого образца, затем снимают ИК - спектр **стандартного образца**. Они должны быть **идентичны**.

В ИК- спектроскопии электромагнитное излучение поглощают функциональные группы молекулы лекарственного вещества и на спектрограмме мы наблюдаем **много максимумов поглощения**.

Метод ИК – спектроскопии более точен, чем УФ – спектроскопия, так как идентифицирует все функциональные группы и фрагменты молекулы лекарственного вещества.



ВЫСОКО ЭФФЕКТИВНАЯ ЖИДКОСТНАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ.

Метод основан на распределении вещества между двумя жидкими фазами. Жидкость через колонку проходит с большой скоростью, поэтому этот метод позволяет разделять многокомпонентные смеси за 20-30 минут.

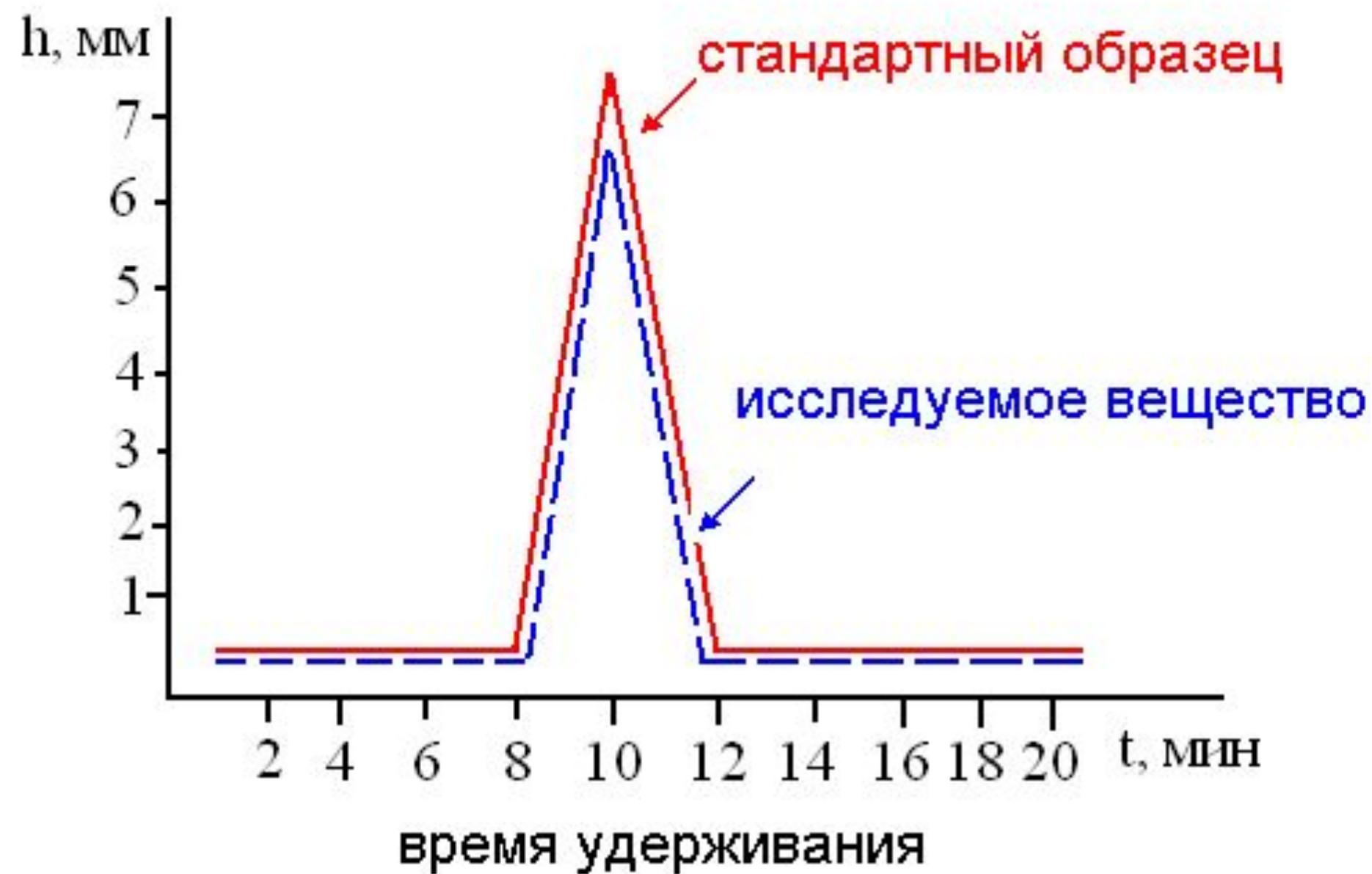
Жидкостной хроматограф включает следующие узлы:

- 1) дозатор;
- 2) насос высокого давления;
- 3) высоко эффективная колонка, наполненная сорбентом

Колонка изготавливается из нержавеющей стали, длина 10-25 см, диаметр 0,3-0,8 см и плотно набивается сорбентом с размером частиц 5-10 мкм. В качестве жидкости используют различные углеводороды в сочетании с этанолом. Детектором служит спектрофотометр с переменной длиной волны (190-900 нм).

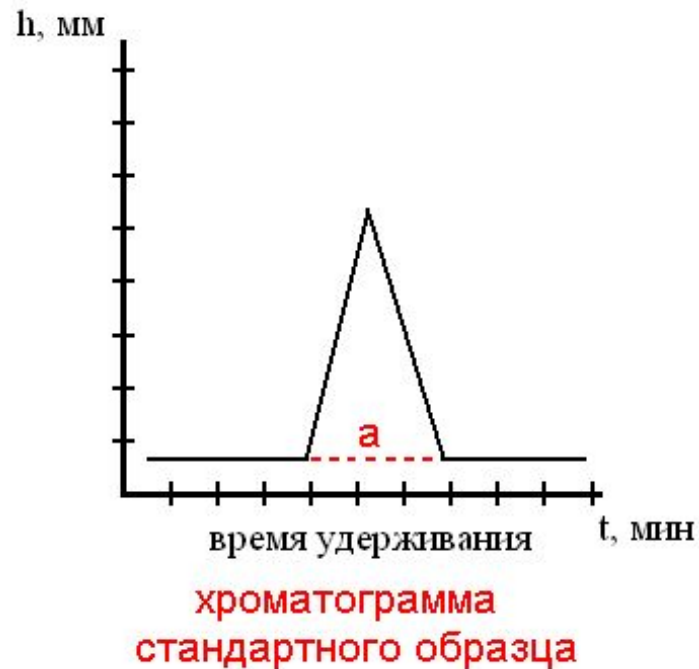
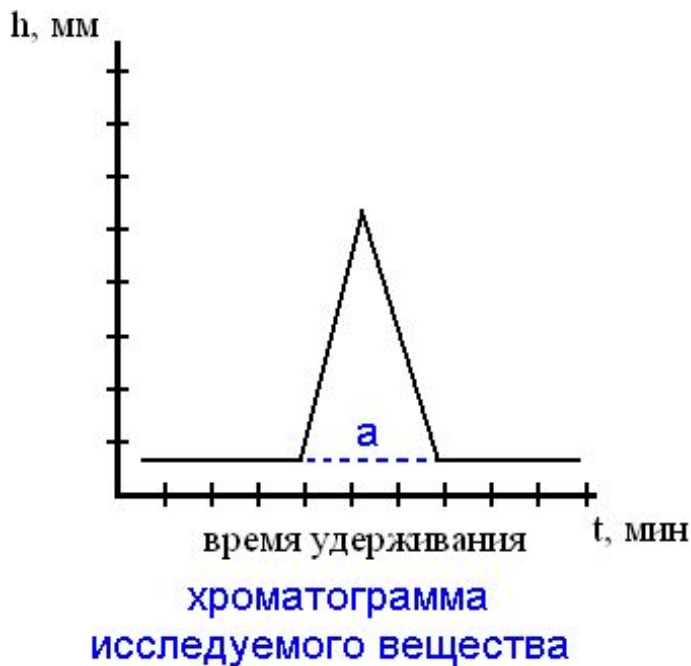
ПОДЛИННОСТЬ ВЕЩЕСТВ С ПОМОЩЬЮ МЕТОДА ВЭЖХ.

Хроматографируют (пропускают через колонку) исследуемое вещество, затем хроматографируют стандартное вещество. Время удерживания исследуемого вещества в колонке должно соответствовать времени удерживания стандартного образца.



КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВЕЩЕСТВ МЕТОДОМ ВЭЖХ.

Хроматографируют (пропускают через высокоэффективную колонку) исследуемое вещество. Затем через эту же колонку пропускают **стандартное вещество**. Получают хроматограммы исследуемого вещества и **стандартного вещества**.



КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВЕЩЕСТВ МЕТОДОМ ВЭЖХ.

Затем рассчитывают площадь пиков исследуемого вещества и стандартного образца по формуле:

$$S = \frac{1}{2} a \cdot h$$

Находят площадь пика исследуемого вещества:

$$S_{\text{исл}} = \frac{1}{2} a_{\text{исл}} \cdot h$$

Находят площадь пика стандартного образца:

$$S_{\text{ст}} = \frac{1}{2} a_{\text{ст}} \cdot h$$

Составляют пропорцию:

$$S_{\text{исл}} = S_{\text{исл}}$$

$$C_{\text{ст}} = S_{\text{ст}}$$

Из которой находят концентрацию исследуемого вещества:

$$C_{\text{исл}} = \frac{C_{\text{ст}} \cdot S_{\text{исл}}}{S_{\text{ст}}}$$



ТОНКОСЛОЙНАЯ ХРОМАТОГРАФИЯ.

- Это распределение вещества между жидкой фазой (растворитель или система растворителей) и твердым сорбентом, нанесенным тонким слоем на инертную поверхность. Сорбентом служит силикагель или оксид алюминия. Используют пластинки «Силуфол УФ-254» или «Сорбфил».

ПОДЛИННОСТЬ ВЕЩЕСТВ С ПОМОЩЬЮ МЕТОДА ТСХ.

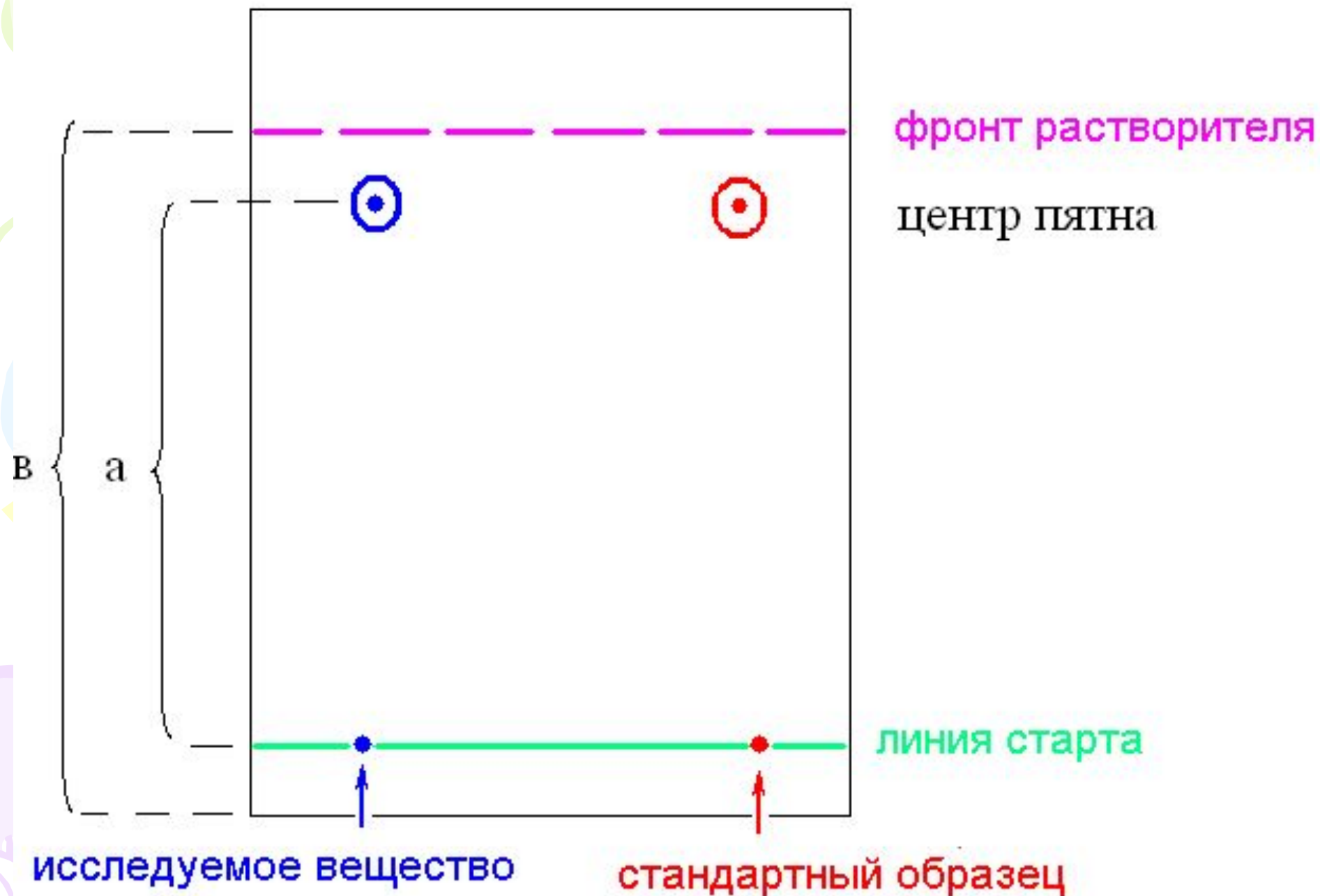
Берут хроматографическую пластинку 10 x 15 см, отступая от края пластинки 1 см, наносят карандашом **линию старта**. Затем на нее микропипеткой наносят каплю исследуемого вещества и каплю **стандартного образца**. Пластинку высушивают и помещают в хроматографическую камеру с системой растворителей. Хроматографируют до тех пор, пока **фронт растворителя** не дойдет до края пластинки 2-3 см. Пластинку вынимают из камеры, отмечают карандашом **фронт растворителя**, высушивают и проявляют в УФ-свете или соответствующими реактивами и отмечают пятна исследуемого вещества и **стандартного образца**.

ПОДЛИННОСТЬ ВЕЩЕСТВ С ПОМОЩЬЮ МЕТОДА ТСХ.

Затем рассчитывают R_f – это отношение расстояния пройденное веществом (а) от **линии старта** до центра пятна к расстоянию пройденному растворителем (в) от **линии старта** до **фронта растворителя**.

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

Вещества считаются идентичными, когда R_f исследуемого вещества соответствует R_f стандартного образца.²³



КОЛИЧЕСТВЕННОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ВЕЩЕСТВ МЕТОДОМ ТСХ.

Далее проявленные пятна вырезают, растворяют в соответствующем растворителе и определяют спектрофотометрическим методом. Сначала измеряют оптическую плотность исследуемого раствора :

$$D_{\text{исл}} = X \cdot C_{\text{исл}} \cdot b$$

Затем измеряют оптическую плотность **стандартного образца**:

$$D_{\text{ст}} = X \cdot C_{\text{ст}} \cdot b$$

И потом по формуле находят концентрацию исследуемого вещества:

$$C_{\text{исл}} = \frac{D_{\text{исл}} \cdot C_{\text{ст}}}{D_{\text{ст}}}$$