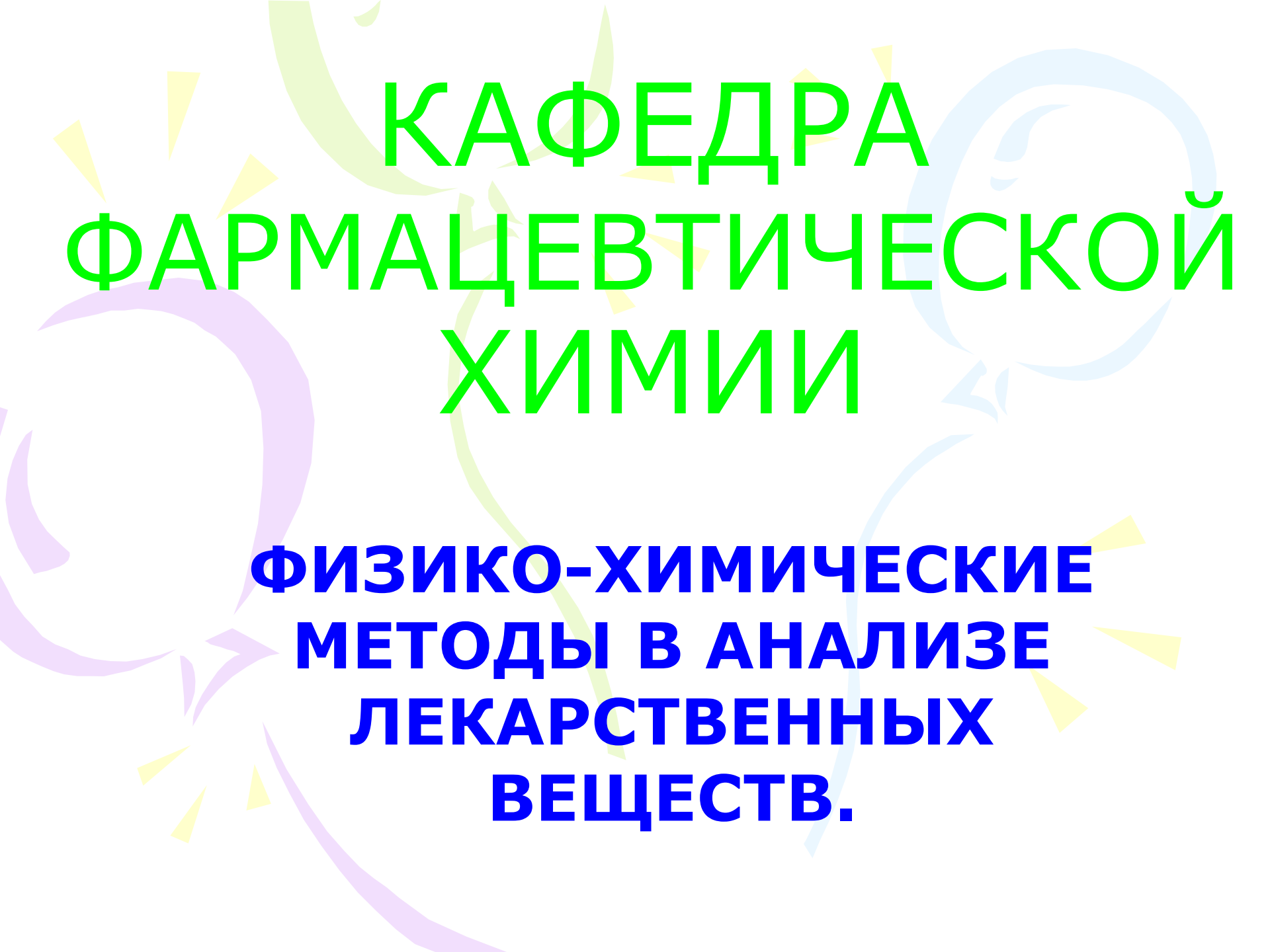




КАФЕДРА ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ ХИМИИ

**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 ($E^{1\%}_{1\text{см}}$) – 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.

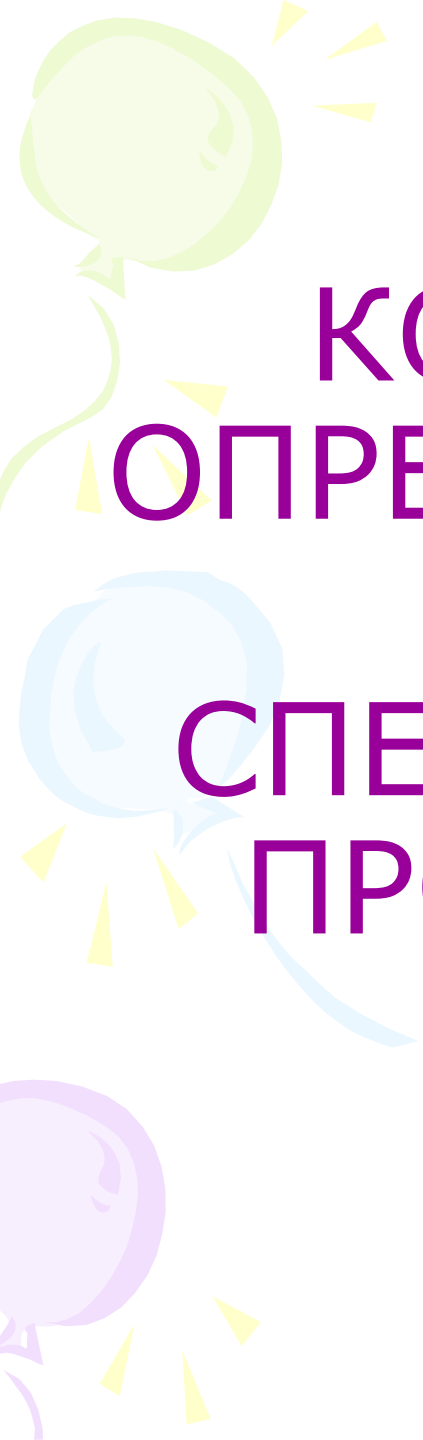
Устройство приборов (УФ и ИК спектрофотометров)

- 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:

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

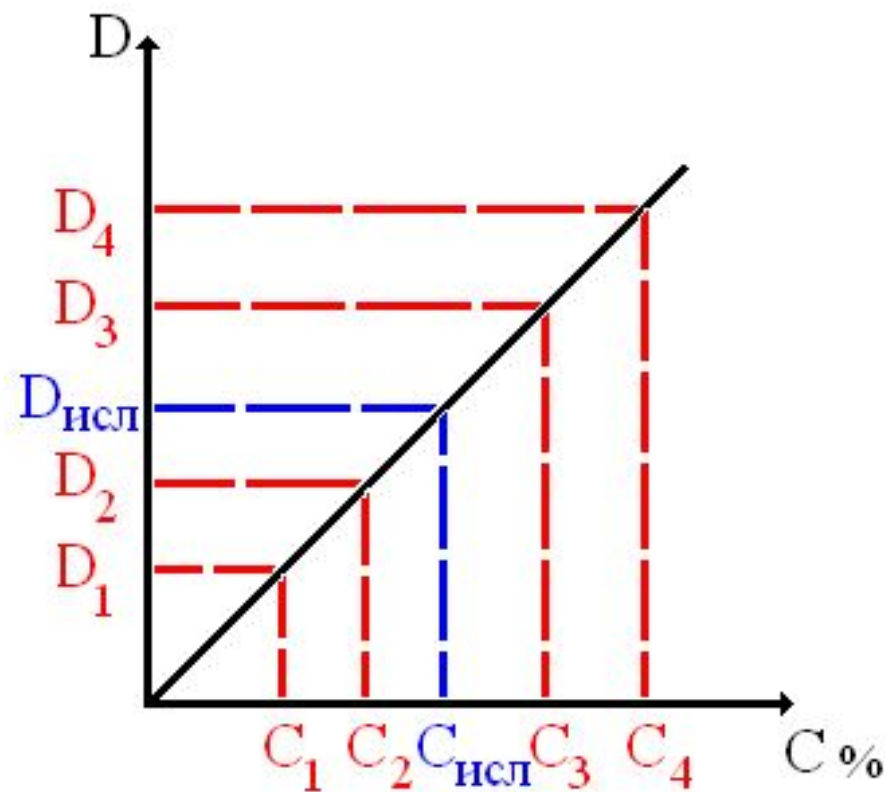
5



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:

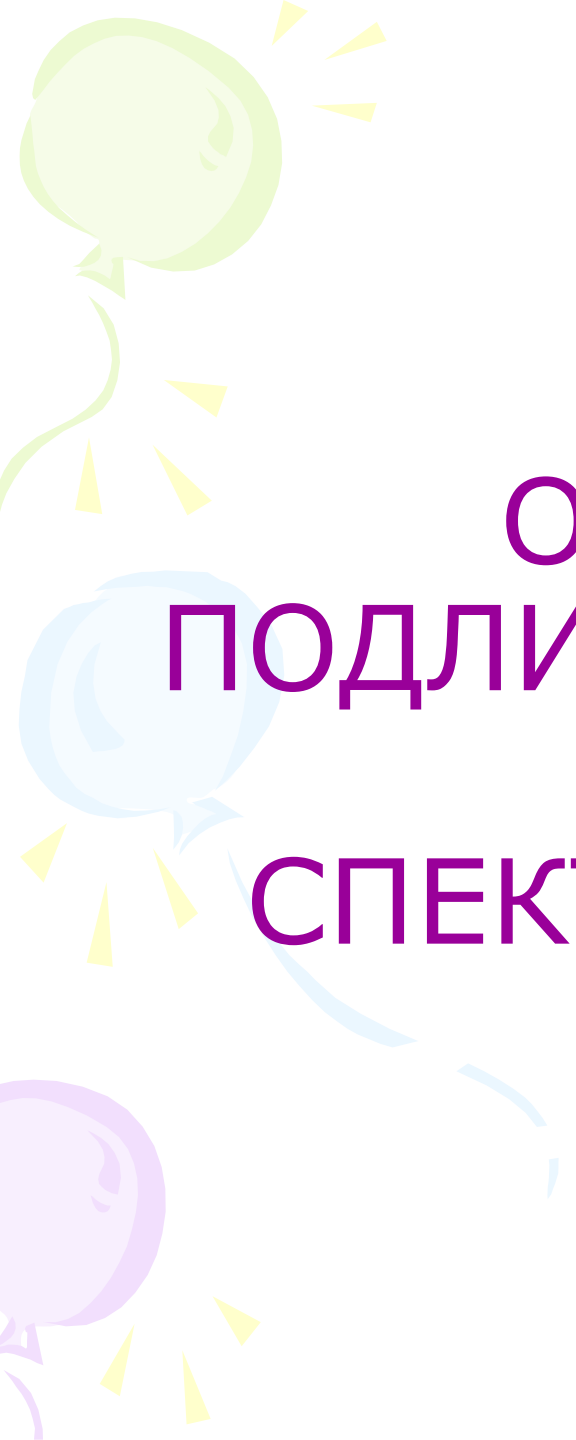
$$D_{\text{исл}} = X \cdot C_{\text{исл}} \cdot b$$

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:

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

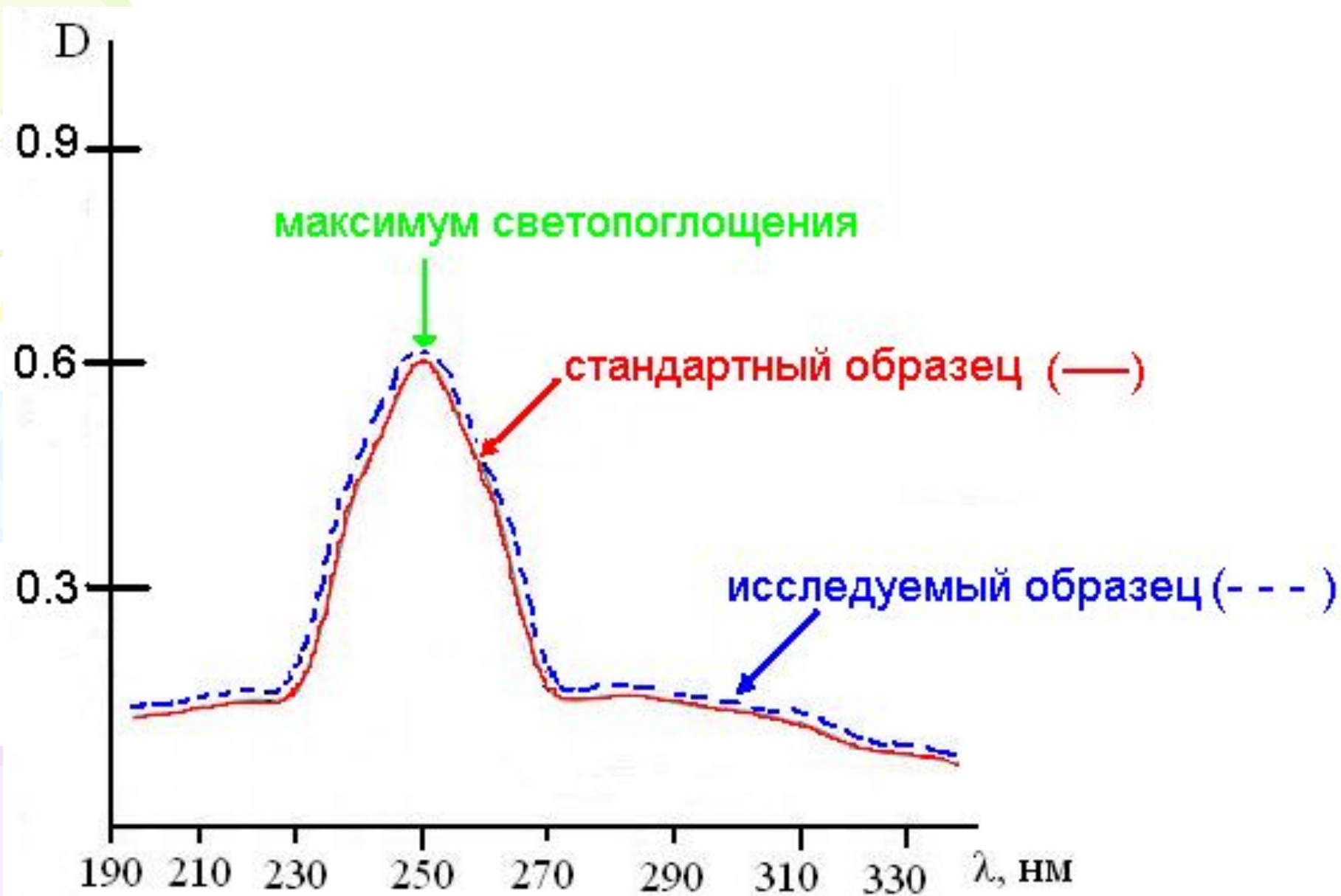


ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПОДЛИННОСТИ ВЕЩЕСТВ МЕТОДОМ СПЕКТРОФОТОМЕТРИИ

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.

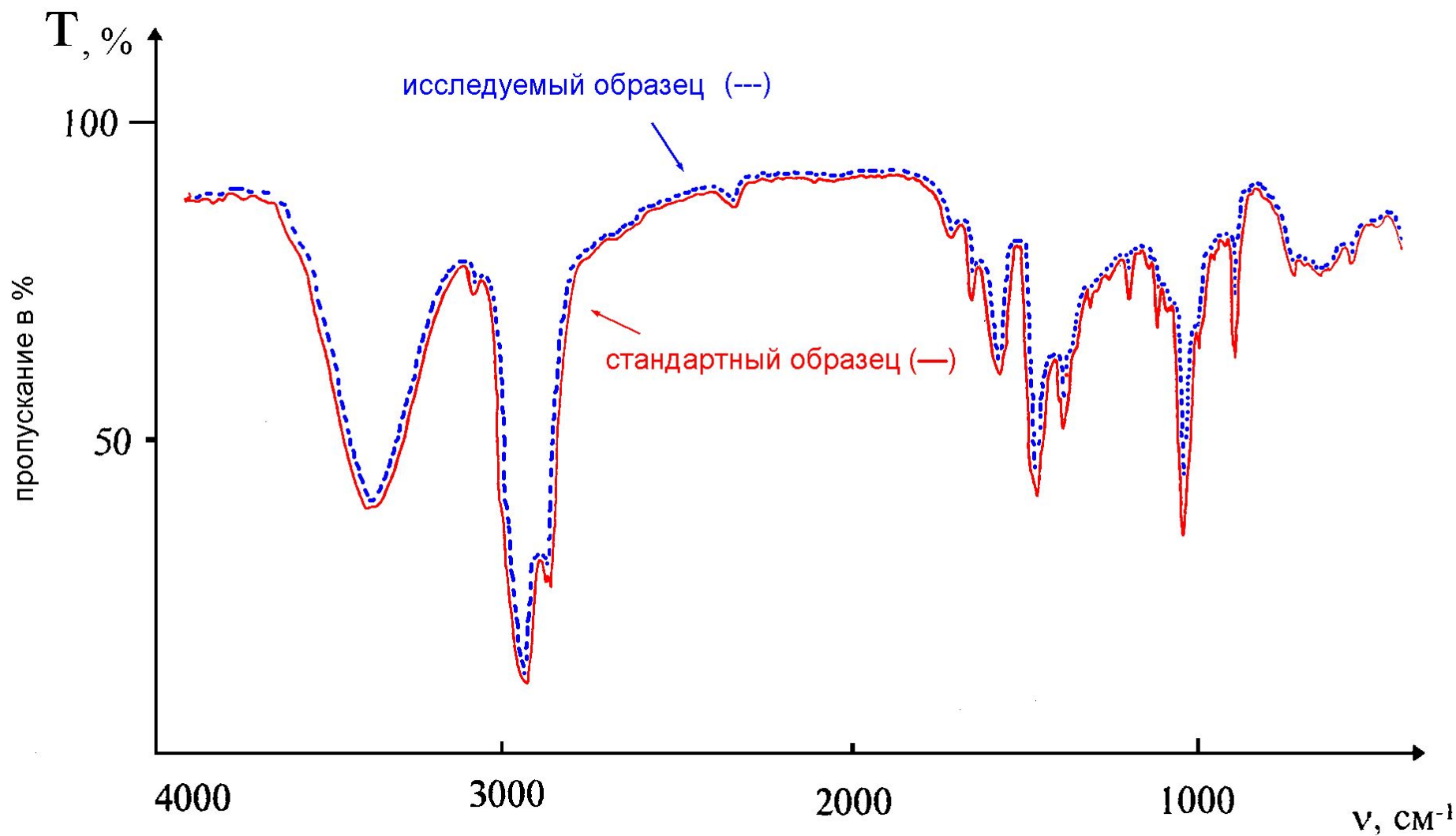


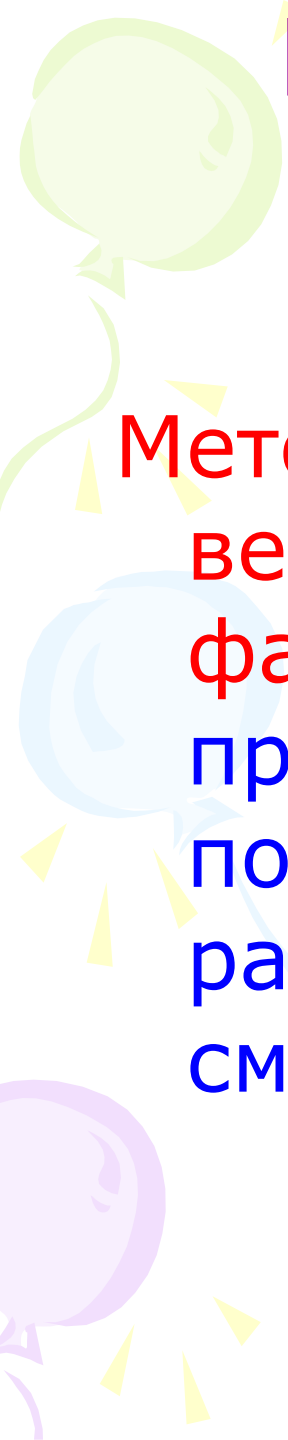
Подлинность с помощью ИК спектрофотометрии.

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

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

Метод ИК – спектрофотометрии более точен, чем УФ – спектрофотометрия, 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).

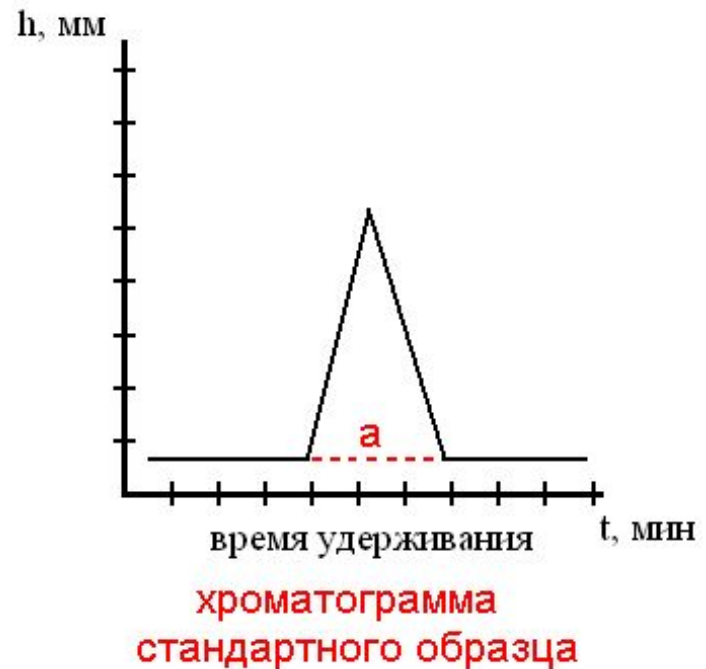
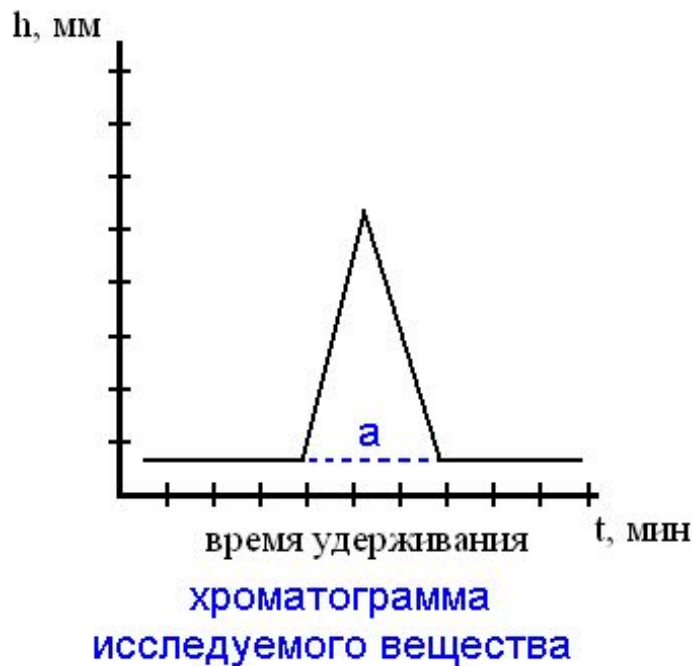
ПОДЛИННОСТЬ ВЕЩЕСТВ С ПОМОЩЬЮ МЕТОДА ВЭЖХ.

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.

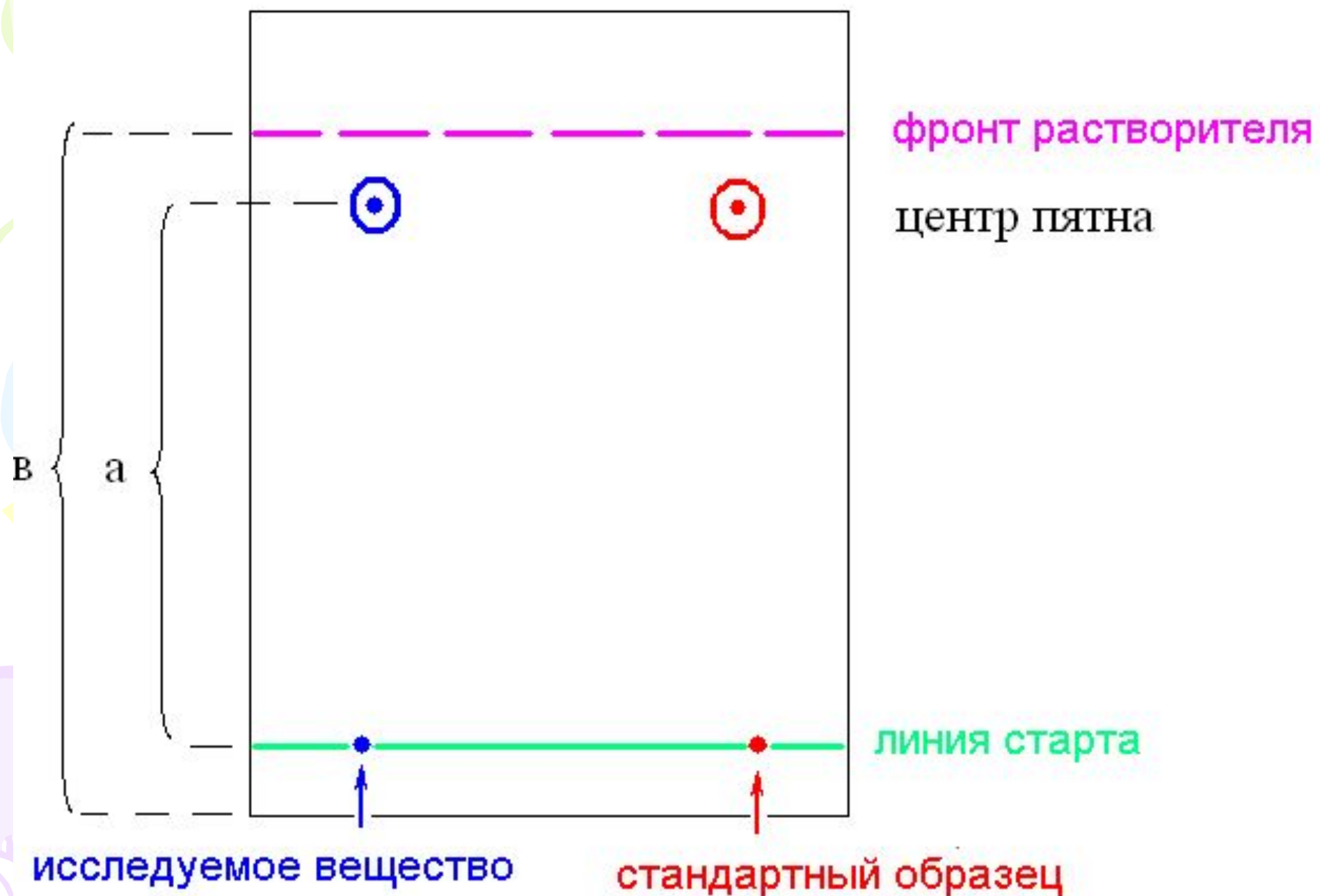
Берут хроматографическую пластинку 10 x 15 см, отступая от края пластинки 1 см, наносят карандашом **линию старта**. Затем на нее микропипеткой наносят каплю **исследуемого вещества** и каплю **стандартного образца**. Пластинку высушивают и помещают в хроматографическую камеру с системой растворителей. 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:

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