

ГОСУДАРСТВЕННОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО
ПРОФЕССИОНАЛЬНОГО ОБРАЗОВАНИЯ
СИБИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
ФЕДЕРАЛЬНОГО АГЕНТСТВА ПО ЗДРАВООХРАНЕНИЮ И СОЦИАЛЬНОМУ
РАЗВИТИЮ

А.А. Блинникова

**СПЕКТРОФОТОМЕТРИЯ И
ФОТОЭЛЕКТРОКОЛОРИМЕТРИЯ
В АНАЛИЗЕ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ**

УЧЕБНОЕ ПОСОБИЕ

Рекомендовано Учебно-методическим объединением по медицинскому и фармацевтическому образованию вузов России в качестве учебного пособия для студентов, обучающихся по специальности 040500 - фармация.

Сибирский государственный медицинский университет
Томск 2005

УДК 615.073: 535.243: 535.65
ББК Р 292.51+Р.с251.32
Б 694
ISBN5-98591-013-х

Блинникова А.А. Спектрофотометрия и фотоэлектроколориметрия в анализе лекарственных средств: Учебное пособие. – Томск, 2005. – 96 с.

В учебном пособии рассмотрены физические основы и аппаратное оформление широко применяемых в фармации оптических методов анализа – спектрофотометрии и фотоэлектроколориметрии. Значительное внимание уделяется анализу двух- и многокомпонентных лекарственных средств. Приведены примеры применения спектроскопии в УФ- и видимой областях для установления подлинности, испытания на чистоту и количественного определения лекарственных средств. Дано описание дифференциальной фотометрии и фотометрического титрования.

Пособие рассчитано на студентов фармацевтических факультетов высших учебных заведений.

Табл. 8. Ил. 15. Библиогр.: 13 назв.

Рецензенты:

Заведующий кафедрой фармацевтической химии фармацевтического факультета ММА им. Сеченова, академик РАМН,
профессор

А.П.Арзамасцев

Заведующий кафедрой химии фармацевтического факультета Самарского государственного медицинского университета, д.б.н.,
профессор

И.Ф.Шаталаев

Утверждено и рекомендовано к изданию методическим советом фармацевтического факультета (протокол № 1 от 02.11.2004 г.) и центральным методическим советом СибГМУ (протокол № 56 от 28.02.2005 г.)

© Е.А.Краснов, А.А.Блинникова, 2005
© Сибирский государственный
медицинский университет, 2005

СОДЕРЖАНИЕ

Введение	4
Общие теоретические положения. Электронный спектр поглощения и его характеристики	5
Основной закон светопоглощения	12
Причины отклонения от закона светопоглощения	16
Применение спектроскопии в УФ- и видимой областях в фармацевтическом анализе	18
1. Испытание на подлинность лекарственных веществ	18
2. Испытание на чистоту	19
3. Определение количественного содержания лекарственных веществ	21
Анализ двух- и многокомпонентных лекарственных средств	26
Особенности анализа лекарственных веществ в видимой области спектра	29
Этапы фотометрического определения лекарственных средств при разработке методики анализа	31
Дифференциальная фотометрия	32
Фотометрическое титрование	33
Аппаратура фотометрии	35
Фотоэлектроколориметрия	38
Метрологическая характеристика спектрофотометрического метода анализа	43
Вопросы для самоподготовки	47
Лабораторные работы	48
Спектрофотометрическое определение:	49
1. Подлинности и количественного содержания сульфацил-натрия	48
2. Подлинности, чистоты, количественного содержания цианокобаламина в растворе витамина В ₁₂ для инъекций (см. ФС 42-3604-98, приложение 3)	50
3. Подлинности, количественного содержания левомецетина в таблетках (ФС 42-3679-98, приложение 4)	50
Фотоэлектроколориметрическое определение количественного содержания:	
1. Тимола	51
2. Новокаина	53
3. Сульфацил-натрия	55
Приложение 1	57
Приложение 2	58
Приложение 3	60
Приложение 4	68
Приложение 5 (ситуационные задачи, примеры расчётов)	84
Приложение 6	86
Приложение 7 (тестовые задания)	89
Список литературы	96

ВВЕДЕНИЕ

Расширение арсенала лекарственных средств (ЛС) сопровождается развитием новых методов их анализа. Это связано с тем, что выход и качество конечных продуктов химико-фармацевтического производства зависит не только от строгого проведения процесса согласно технологическому регламенту, от качества исходного сырья, но и от применения надежных методов постадийного контроля. Поэтому вопросам совершенствования контроля качества ЛС в последнее десятилетие уделяется значительное внимание.

Как известно, аналитический контроль проводится на всех этапах производства, начиная от входного контроля качества сырья и заканчивая анализом готовой продукции. Этот контроль должен осуществляться в полном соответствии с действующей нормативной документацией (национальная фармакопея, ФСП). Нормативный документ содержит совокупность официальных методов исследования субстанций и их лекарственных форм, на основании результатов анализа которых решается вопрос о возможности их применения в медицинской практике. При этом устанавливается доброкачественность ЛС, складывающаяся как из определения подлинности, так и обнаружения примесей и количественного содержания действующего вещества. Основными требованиями фармакопейного анализа ЛС являются высокая чувствительность, специфичность, точность и экспрессность. Этим требованиям удовлетворяют физические и физико-химические методы анализа, основанные на измерениях некоторых констант, присущих каждому веществу.

В основном физико-химические методы разделяют на три группы:

- 1) оптические методы, базирующиеся на закономерностях взаимодействия вещества с электромагнитным излучением;
- 2) электрохимические методы анализа, в основе которых лежат электрохимические свойства вещества;
- 3) хроматографические методы разделения и количественного определения смеси веществ, основанные на различии распределения компонентов между подвижной и неподвижной фазой.

К числу оптических методов относятся следующие: рефрактометрия, поляриметрия, интерферометрия, фотокolorиметрия, фототурбидиметрия, флуориметрия, спектрофотометрия, ИК-спектроскопия.

Высокая специфичность, возможность широкого выбора полос поглощения, сравнительная простота и точность измерений, достигаемые современной аппаратурой, обеспечивают фотометрическому анализу широкое использование в анализе различных лекарственных средств.

Спектрофотометрический метод широко используется для идентификации, установления количественного содержания и определения

чистоты веществ. Указанный метод с успехом применяется также для количественного анализа многокомпонентных смесей. Достоинствами метода являются относительная простота эксперимента, специфичность и использование сравнительно небольшого количества вещества (2-5 мг). Метод относится к среднечувствительным (в большинстве случаев измеряют концентрации 10^{-1} - 10^1 мкг/мл).

ОБЩИЕ ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ ПОЛОЖЕНИЯ. ЭЛЕКТРОННЫЙ СПЕКТР ПОГЛОЩЕНИЯ И ЕГО ХАРАКТЕРИСТИКИ

Одним из общих свойств молекул является способность к избирательному поглощению электромагнитного излучения, что и положено в основу исследования строения и идентификации веществ.

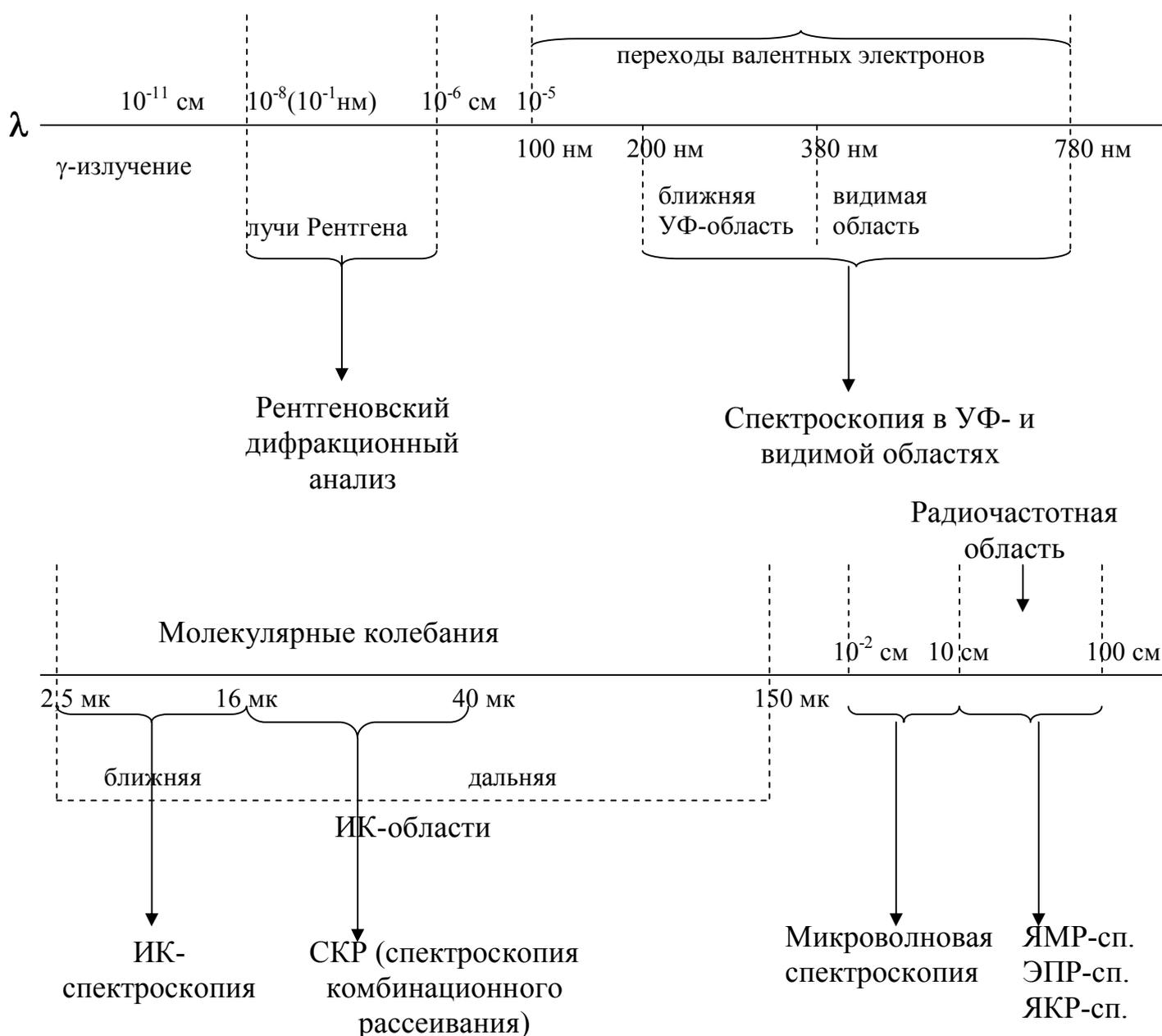


Рис. 1. Области электромагнитного спектра и используемые методы исследования

Испускание и поглощение электромагнитного излучения происходит квантами, энергия которых описывается уравнением:

$$\Delta E = h \cdot \frac{C}{\lambda} \quad (1),$$

где h – постоянная Планка ($6,5 \cdot 10^{-27}$ эрг/с);
 C – скорость света в вакууме ($3 \cdot 10^{10}$ см/с);
 λ – длина волны излучения, выражается в долях метра: см, мкм (10^{-6} м), нм (10^{-9} м) и ангстремах ($\text{Å} = 10^{-10}$ м).

Основные области электромагнитного спектра, расположенные в порядке уменьшения энергии (увеличения λ), представлены на рис. 1.

Наибольший интерес для анализа лекарственных средств представляет ультрафиолетовая (200-400 нм), видимая (400-800 нм), инфракрасная (2-15 мк) и радиочастотная (10-100 см) области спектра.

Механизмы взаимодействия электромагнитного излучения с веществом в перечисленных областях спектра существенно отличаются друг от друга, но в любом случае происходит поглощение молекулой определенного количества энергии.

Из рис. 1 видно, что с уменьшением λ увеличивается энергия электромагнитного излучения, что определяет характер взаимодействия электромагнитных волн с исследуемым веществом.

Использование указанного в таблице интервала спектра в аналитических целях обусловлено тем, что излучение в данной области обладает энергией, соизмеримой с энергией связей химических соединений.

Спектрофотометрия в ультрафиолетовой и видимой областях спектра для целей анализа веществ основана на поглощении электромагнитного излучения с длиной волны от 200 до 800 нм.

При облучении исследуемого вещества электромагнитным излучением с постепенно меняющейся длиной волны (энергией) можно проследить изменение интенсивности его поглощения. Графическое изображение этой зависимости называется **электромагнитным спектром** (рис. 2). Область интенсивного поглощения в нем называется **полосой поглощения**. Длина волны, при которой наблюдается максимум поглощения, обозначается λ_{\max} , ее также называют **аналитической длиной волны**.

На рис. 2 представлены УФ-спектры различных лекарственных веществ. УФ-спектр вещества может иметь несколько максимумов поглощения (например, анаприлин, дибазол, димедрол), каждый из которых соответствует различным типам электронных переходов.

Поглощение световой энергии органическими соединениями в УФ- и видимой областях спектра связано с переходом σ -, π - и n -электронов из основного состояния в состояние с более высокой энергией. Электронные

переходы классифицируют в зависимости от типа связи, обусловливаемой характером связывающих орбиталей: σ – простая связь, π – двойная или тройная связь, а также несвязывающими (n) орбиталями. На несвязывающих орбиталях располагаются свободные электронные пары гетероатомов – O, S, N, Hal.

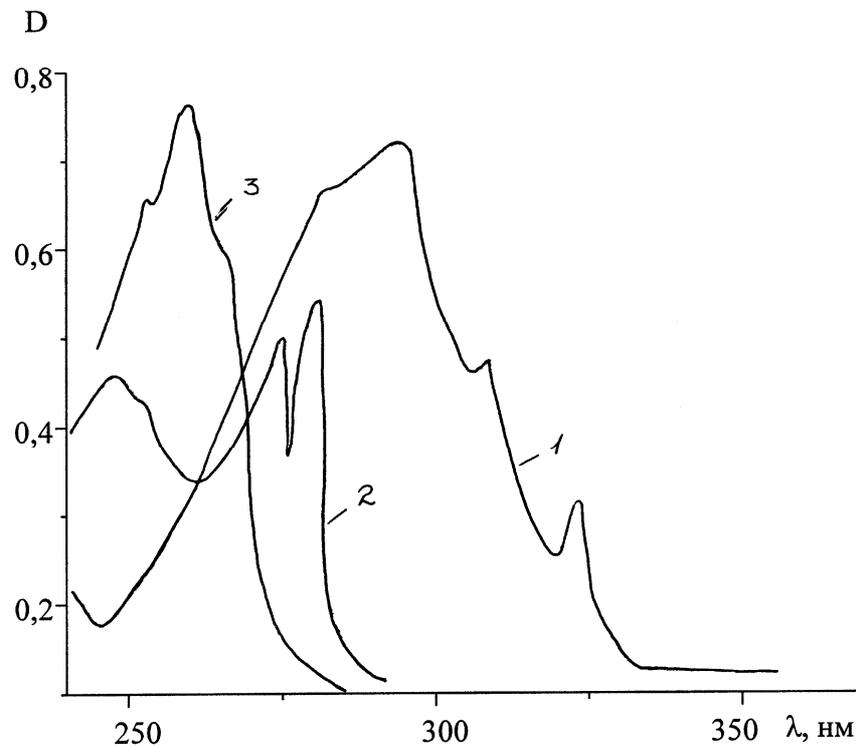


Рис. 2. УФ-спектры:

- 1 – анапирин, с $2,0 \cdot 10^{-3}$ %, метанол;
- 2 – дибазол, с $1,0 \cdot 10^{-3}$ %, этанол
с добавлением 0,1 моль/л NaOH;
- 3 – димедрол, с $5,0 \cdot 10^{-2}$ %, этанол.

Расположение электронов на связывающих и несвязывающих орбиталях соответствует основному состоянию молекулы.

Нахождение электронов на разрыхляющих орбиталях соответствует возбужденному состоянию, которое возникает при поглощении молекулой вещества определенного количества энергии. При возбуждении возможен переход электронов с одних орбиталей на другие, что можно выразить схемой (рис. 3).

Имеются следующие типы электронных переходов, происходящих в

УФ- и видимых областях спектра:

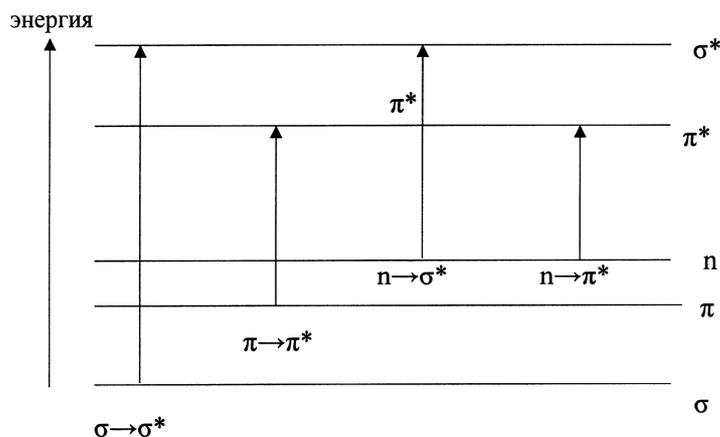


Рис. 3. Схема энергетических электронных уровней и электронных переходов

Переходы $\sigma - \sigma^*$ наблюдаются у насыщенных соединений с σ -связью ($-\overset{|}{\underset{|}{C}}-\overset{|}{\underset{|}{C}}-$; $-\overset{|}{\underset{|}{C}}-O-$; $-\overset{|}{\underset{|}{C}}-H$) и требуют значительных затрат энергии. Максимумы поглощения таких соединений расположены в дальней (вакуумной) УФ-области спектра (100-150 нм) и не имеют аналитического значения в виду сложности снятия спектров, так как в этой области поглощают составные компоненты воздуха, поэтому необходимо получать спектры в вакууме и вследствие этого использовать вакуумные камеры.

Переходы электронов типа $\pi-\pi^*$ в ординарной π -связи имеют малое аналитическое значение (область спектра 180-200 нм). При появлении сопряженных π -связей максимум сдвигается в ближнюю УФ- или видимую область спектра.

Переходы электронов типа $n-\sigma^*$ и $n-\pi^*$ требуют затраты меньшей энергии. Указанные переходы появляются в органических соединениях с гетератомами – Cl, N, S, O, галоидами и т.д., обладающими свободными парами электронов, расположенными на несвязывающих n-орбиталях.

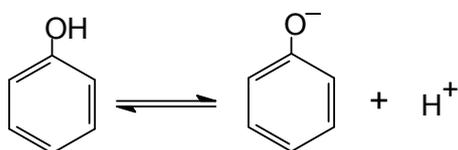
Таким образом, существенными элементами, обуславливающими наличие электронных факторов органических молекул, являются **кратная связь и неподеленная пара электронов**. Группировки, содержащие в своем составе сопряженные двойные связи и неподеленные пары электронов, называют **ХРОМОФОРАМИ**.

Т а б л и ц а 1

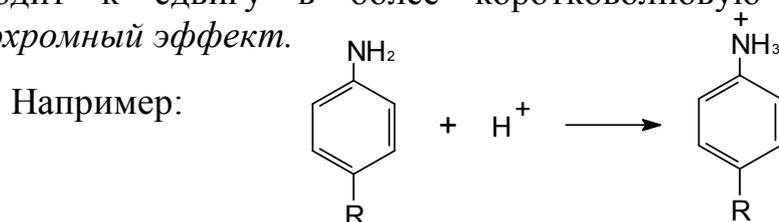
Некоторые полосы поглощения основных функциональных групп

Тип связи	Тип перехода	λ_{\max} , нм	Тип связи	Тип перехода	λ_{\max} , нм
$\begin{array}{c} \\ -\text{C}-\text{C}-\text{C}- \\ \quad \quad \end{array}$	$\sigma-\sigma^*$	125-190	$-\text{NO}_2$	$\pi-\pi^*$	200-250
$> \text{C} = \text{C} <$	$\pi-\pi^*$	160-200	$-\text{C}_6\text{H}_5$	$n-\pi^*$	270-330
$> \text{C} = \text{O}$	$n-\pi^*$	270-300		$\begin{array}{c} \quad \quad \quad \\ -\text{C}=\text{C}-\text{C}=\text{C}- \\ \quad \quad \quad \end{array}$	$\pi-\pi^*$
$-\text{NH}_2$	$n-\pi^*$	170-190			
$> \text{C} = \text{N} -$	$n-\pi^*$	210-230	$\begin{array}{c} \quad \quad \\ -\text{C}=\text{C}-\text{C}=\text{O} \end{array}$	$\pi-\pi^*$	214-250
$\begin{array}{c} \\ -\text{C}-\text{H} \\ \end{array}$	$\pi-\pi^*$	230-250		$\pi-\pi^*$	220-260
		190-210		$n-\pi^*$	300-320

На положение и интенсивность полос поглощения (табл. 1) большое влияние оказывают электронно-донорные ($-\text{NH}_2$; $-\text{OH}$; $-\text{SH}$) и электронно-акцепторные (CH_3 ; $-\text{N}=\text{O}$; $-\text{COH}$) заместители, содержащиеся в молекуле органического соединения. Как правило, введение таких заместителей приводит к смещению полос поглощения веществ в длинноволновую область спектра, называемому *батохромным сдвигом* (рис. 4). На положение полос поглощения значительное влияние оказывают также процессы ионизации и комплексообразования. При ионизации по кислотному типу имеет место дополнительный батохромный сдвиг на 25-29 нм (до 289 нм).



Ионизация по основному типу (протонизация), наоборот, часто приводит к сдвигу в более коротковолновую область спектра – *гипсохромный эффект*.



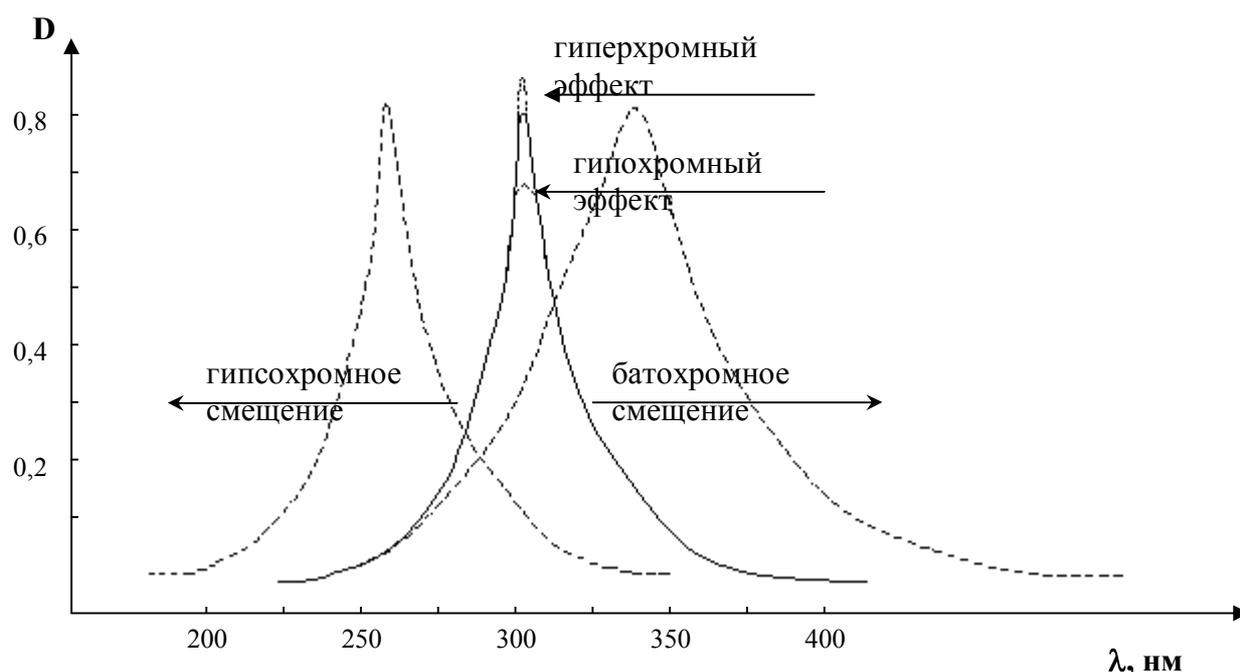


Рис. 4. **Эффекты изменения интенсивности и смещения максимума поглощения**

Помимо батохромного и гипсохромного сдвигов, влияние ауксохромных групп может проявляться в виде *гиперхромного* (увеличение интенсивности) и *гипохромного* (уменьшение интенсивности) *эффектов*.

Вид спектральной кривой зависит от ряда факторов:

- строения молекул вещества;
- растворителя;
- наличия в молекуле исследуемого вещества тех или иных заместителей;
- поведения вещества в растворе (способность образовывать внутри- и межмолекулярные водородные связи);
- наличия или отсутствия динамической изомерии и т.д.

Природа полос поглощения в УФ- (200-360 нм) и видимой (360-800 нм) областях спектра одинакова и связана главным образом с числом и расположением электронов в поглощающих молекулах и ионах. Вещества, поглощающие только в УФ-области, для человеческого глаза бесцветны.

Поглощение вещества при облучении его монохроматическим УФ-светом изображают графически – чаще в виде кривой зависимости оптической плотности (D) от длины волны падающего света (λ , нм), называемой УФ-спектром (см. рис. 2, приложение 1).

Образец анализируемого вещества при спектрофотометрических определениях обычно растворяют в соответствующем растворителе. Для этой цели пригодны многие растворители: вода, спирты, низшие углеводороды, хлороформ, разведенные растворы едкого натра, аммиака, хлористоводородной или серной кислоты. Следует использовать растворители, не содержащие примесей, поглощающих в данной спектральной области.

Для получения УФ спектров, как правило, используют растворители, не обладающие собственным поглощением в записываемой области, т.е. получают спектры при длинах волн выше нижних пределов пропускания используемых растворителей (табл. 2)

Т а б л и ц а 2

Нижние пределы пропускания некоторых растворителей

Растворитель	Нижний предел пропускания, нм	Растворитель	Нижний предел пропускания, нм
Вода	200	Этилацетат	251
Метиловый спирт	210	Бензол	280
Этиловый спирт	210	Уксусная кислота	250
Изопропиловый спирт	210	Диметилформамид	270
Хлороформ	250	н-Гексан	210
Четыреххлористый углерод	260	Ацетон	326

ОСНОВНОЙ ЗАКОН СВЕТОПОГЛОЩЕНИЯ

При прохождении света через раствор изменение его интенсивности может быть вызвано светопоглощением определяемого вещества, растворителя, рассеянием, отражением и т.д. (рис. 5).

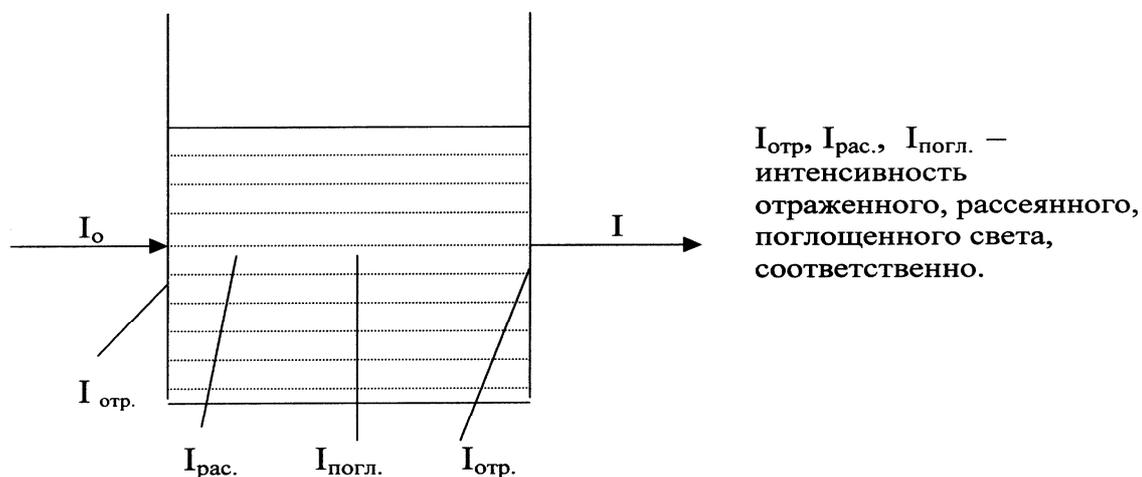


Рис. 5. Прохождение светового потока через раствор

Чтобы исключить влияние светорассеяния, анализируемый раствор должен быть прозрачным, то есть не должно быть взвешенных частиц. Прочие эффекты компенсируют, используя раствор сравнения и одинаковые кюветы.

Зависимость интенсивности монохроматического светового потока, прошедшего через анализируемый раствор, определяется объединенным законом Бугера-Ламберта-Бера:

$$I = I_0 \cdot 10^{-kCl}, \quad (1)$$

где I или I_0 – интенсивность прошедшего и падающего света соответственно;

k – коэффициент светопоглощения, пропорциональности;

C – концентрация растворенного вещества;

l – толщина поглощающего слоя.

Зависимость поглощения света от толщины слоя анализируемого раствора была открыта в 1729 г. французским физиком-оптиком и мореходом Бугером, занимавшимся изучением поглощения света атмосферой и цветными стеклами. Спустя более 30 лет Ламберт придал ей современную математическую трактовку. Бер проверил справедливость этого закона для растворов различных концентраций веществ.

Объединенный закон светопоглощения справедлив не только для спектрофотометрии, но и для других абсорбционных спектроскопических методов (атомно-абсорбционных, инфракрасных, рентгеновских).

Величина k является специфической физической константой для каждого вещества; она зависит от природы растворенного вещества, растворителя, температуры, длины волны света и не зависит от концентрации растворенного вещества, толщины поглощающего слоя. В зависимости от способа выражения концентрации вещества коэффициент поглощения в формуле (1) может иметь два значения: **молярного показателя поглощения (ε)** и **удельного показателя поглощения ($E_{1\text{см}}^{1\%}$)**.

Молярный показатель поглощения $\left(\varepsilon = \frac{D}{C \cdot l} \right)$ представляет собой оптическую плотность раствора с концентрацией вещества 1 моль/л и толщиной поглощающего слоя 1 см.

Удельный показатель поглощения ($E_{1\text{см}}^{1\%}$) – оптическая плотность 1 % раствора при толщине поглощающего слоя 1 см.

Принято называть их единым термином – **коэффициенты экстинкции ε и $E_{1\text{см}}^{1\%}$** . Связь между величинами молярного и удельного

показателей поглощения определяется соотношениями: $E_{1\text{см}}^{1\%} = \frac{10}{M.м.} \cdot \varepsilon$

или $\varepsilon = E_{1\text{см}}^{1\%} \cdot \frac{M.м.}{10}$ (2), где М.м. – молекулярная масса.

В практике фармацевтического анализа наибольшее применение находит удельный показатель поглощения.

Чувствительность метода для конкретного вещества определяется величиной ($E_{1\text{см}}^{1\%}$): чем больше числовое значение ($E_{1\text{см}}^{1\%}$), тем выше чувствительность. Величины удельных показателей поглощения вычисляют по опытным данным серии растворов различных концентраций

(в %) конкретного вещества $\left(E_{1\text{см}}^{1\%} = \frac{D}{C \cdot l} \right)$.

Значения удельных показателей поглощения для некоторых лекарственных веществ представлены в табл. 3; они обычно приводятся в справочных руководствах по спектроскопии, указываются при характеристике спектров, в фармакопеях и в фармакопейных статьях, периодической литературе.

Интенсивность прошедшего потока излучения (уравнение 1) в логарифмической форме имеет вид: $\lg \frac{I_o}{I} = E_{1\text{см}}^{1\%} C \cdot l$ (3).

Величину $\lg \frac{I_o}{I}$ называют **оптической плотностью** и обозначают буквой **D**.

$$D = E_{1\text{см}}^{1\%} C \cdot l \quad (4)$$

Отношение интенсивности монохроматического потока излучения, прошедшего через исследуемый объект, к интенсивности падающего потока называется **прозрачностью** или **пропусканием** и обозначается буквой **T**:

$$T = \frac{I}{I_o} \quad (5)$$

Оптическая плотность **D** и пропускание (прозрачность) **T** связаны уравнением:

$$D = -\lg T \quad (6).$$

Т а б л и ц а 3

Максимумы поглощения и величины удельных коэффициентов в УФ-спектрах некоторых лекарственных веществ

Вещество	$\lambda_{\text{макс}}$, нм	$E_{1\text{см}}^{1\%}$	Растворитель	Вещество	$\lambda_{\text{макс}}$, нм	$E_{1\text{см}}^{1\%}$	Растворитель
1	2	3	4	5	6	7	8
Адреналин	280	150	0,01 моль/л HCl	Метилсалицилат	238	570	Этиловый спирт
Аминазин	254 305	880 110	0,1 моль/л H ₂ SO ₄	Никотинамид	262	238	Этиловый спирт
п-Аминобензойная кислота	228 289	340 1256	Этиловый спирт	Парацетамол	256,5 242 249	770 700 900	0,1 моль/л NaOH 0,1 моль/л H ₂ SO ₄ Метиловый спирт
Анаприлин	217 293	1350 220	0,1 моль/л H ₂ SO ₄	Новокаин	290	680	Вода
Анестезин	221 294 227 272 278	553 1349 788 101 99	Этиловый спирт 0,1 моль/л HCl	Рибофлавин	222 267 371,5 445	942 873 277 324	Вода

1	2	3	4	5	6	7	8
Бутадион	240	534	Этиловый спирт	Сульфадиметоксин	269	840	0,001 моль/л NaOH
	264	660	0,1 моль/л NaOH				
Викасол	298	133	Вода	Теофиллин	270	530	0,1 моль/л HCl
Гидрокортизон	240	420–450	Абсолютный этиловый спирт	Фолиевая кислота	256	545–565	0,1 моль/л NaOH
					283	530–545	
					365	190–200	
Диазепам	241	1402	0,1 моль/л H ₂ SO ₄	Фурацилин	365	850–875	Этиловый спирт
	284	700					
	359	170					
Кодеина фосфат	284	52,3	Вода	Эргокальциферол	265	460–504	Абсолютный этиловый спирт
Кордиамин	255	840	0,1 моль/л NaOH	Этакридин	269,5	1874	0,1 моль/л H ₂ SO ₄
	260	860					
	263,5	273	0,1 моль/л H ₂ SO ₄	Эуфиллин	274	570	0,1 моль/л NaOH
					270	485	0,1 моль/л H ₂ SO ₄

Обычно T выражают в процентах, тогда $D = 2 - \lg T$.

Величины оптической плотности и пропускания зависят от длины волны и концентрации вещества в растворе.

ЗАКОН АДДИТИВНОСТИ ОПТИЧЕСКИХ ПЛОТНОСТЕЙ

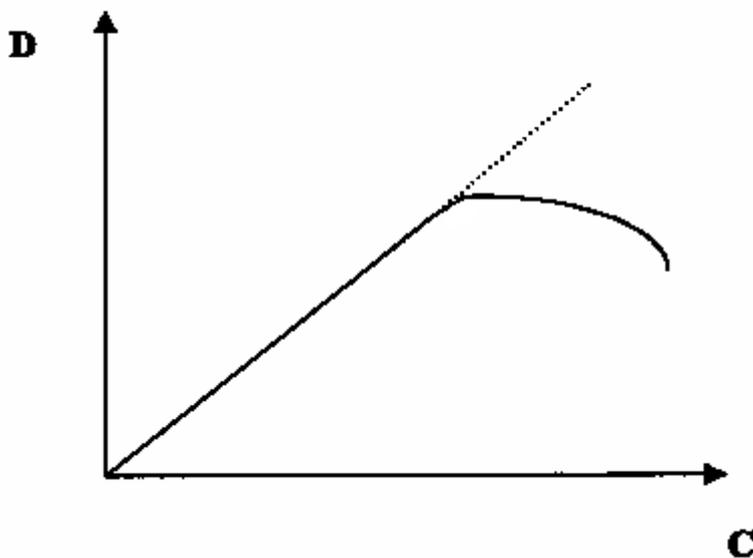
Если в растворе присутствует несколько поглощающих веществ, то оптическая плотность раствора равна сумме вкладов каждого из компонентов:

$$D = \varepsilon_1 C_1 l_1 + \varepsilon_2 C_2 l_2 + \dots \quad (7)$$

Согласно уравнению (4), при подчинении растворов закону светопоглощения наблюдается прямолинейная зависимость оптической плотности от концентрации вещества в растворе при постоянном значении толщины поглощающего слоя.

ПРИЧИНЫ ОТКЛОНЕНИЙ ОТ ЗАКОНА ПОГЛОЩЕНИЯ

На практике могут наблюдаться отклонения от линейного характера, особенно в области высоких концентраций или значений оптических плотностей, обусловленные несколькими причинами: немонохроматичностью источника света, наличием постороннего излучения, химическими процессами (диссоциация, ассоциация, комплексообразование).



1. Немонохроматичность источника

При выводе основного закона светопоглощения сделано предположение о строгой монохроматичности источника света. В действительности, в спектре испускания любого источника всегда присутствуют фотоны различных длин волн. Для различных приборов спектральная ширина полосы пропускания может быть различной.

Поэтому в спектрофотометрии построение градуировочного графика и измерение оптической плотности анализируемого образца выполняют на одном и том же приборе.

2. Посторонние излучения

Такие же отклонения от основного закона светопоглощения вызывает и влияние рассеянного света.

Рассеянный свет – это постороннее излучение, которое возникает в оптической системе прибора вследствие отражения и рассеяния света от поверхностей линз, зеркал и других оптических деталей. Рассеянное излучение включает все длины волн источника излучения и накладывается на излучение из монохроматора.

Следовательно, на раствор попадает излучение, выходящее из монохроматора, равное:

$$I_0 + I_{\text{рас.}}$$

где I_0 – излучение, вышедшее из монохроматора;
 $I_{\text{рас.}}$ – рассеянное излучение.

На раствор попадает тем больше рассеянного света, чем шире щель монохроматора. Раскрывать щель монохроматора приходится, если I_0 мало или оптическая плотность раствора сравнения велика. Щель увеличивают так же при уменьшении чувствительности детектора. Особенно сильно рассеянное излучение сказывается в УФ-области, где чувствительность детектора в несколько раз меньше, чем в длинноволновой. Рассеянный свет может вызвать смещение максимума поглощения или даже появления ложных максимумов.

Для уменьшения рассеянного излучения в монохроматорах перед попаданием излучения на кювету в областях, где влияние его особенно велико, на пути светового потока ставят специальные светофильтры.

3. Химические процессы

При разбавлении растворов электролитов изменяется степень диссоциации их на ионы, что вызывает отклонения от закона Бугера-Ламберта-Бера. На светопоглощение также оказывают влияние явления гидролиза, комплексообразования, таутомерные превращения, сольватация и т.д.

ПРИМЕНЕНИЕ СПЕКТРОСКОПИИ В УФ- И В ВИДИМОЙ ОБЛАСТЯХ В ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОМ АНАЛИЗЕ

1. Испытание на подлинность лекарственных веществ

1.1. Для идентификации неизвестного вещества спектр исследуемого вещества обычно сравнивается с полученным при тех же условиях спектром стандартного вещества (ГСО или РСО) (рис. 6).

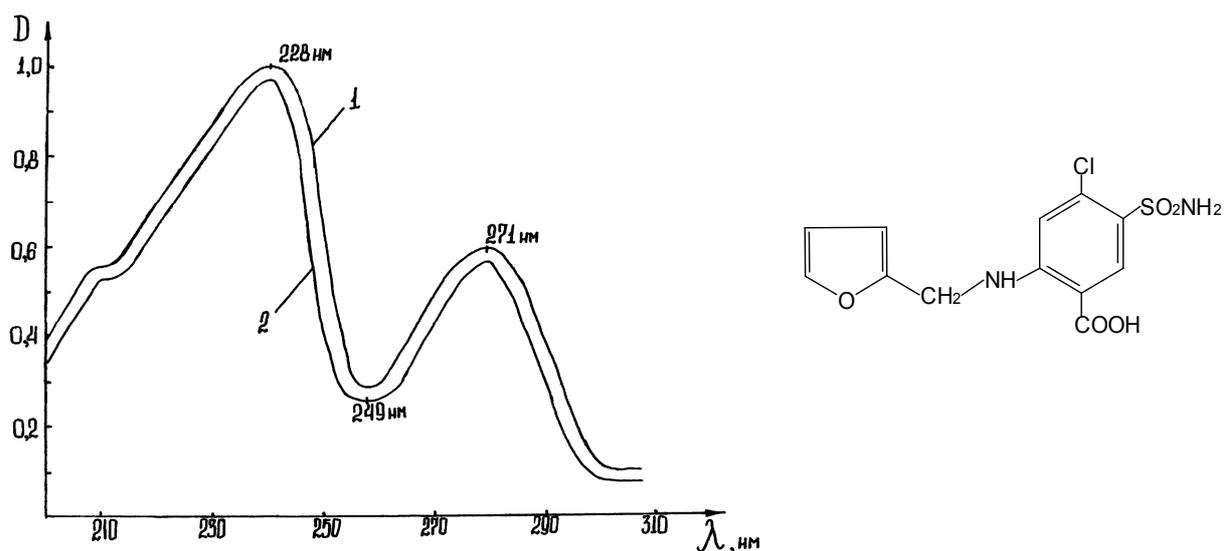


Рис. 6. УФ-спектр фуросемида:

- 1 – РСО, с $0,9 \cdot 10^{-4} \%$ (0,01 моль/л NaOH)
 2 – таблетки фуросемида 0,04 г, с $0,8 \cdot 10^{-4} \%$
 (0,01 моль/л NaOH)

1.2. При отсутствии стандартных образцов можно пользоваться описанием их спектров, предложенным в соответствующем НД (нормативном документе).

Например, подлинность нитроксолина, согласно ФС 42-1854-94, определяется следующим образом: «Ультрафиолетовый спектр 0,0005 % раствора препарата в смеси спирт 95% – буферный раствор с pH 9,18 (98 : 2) в области от 220 до 550 нм имеет максимумы поглощения при 249 ± 2 нм; 341 ± 3 нм, $452,5 \pm 3$ нм и два плеча от 228 до 238 нм и от 258 до 268 нм». В таком случае проверяют идентичность параметров полученного спектра поглощения анализируемого вещества описанному в НД (длины волн максимального и минимального поглощения, плеча, неидентифицированного плеча).

В обоих случаях необходимо строго соблюдать условия, приведенные в НД: растворитель, концентрация растворенного вещества, размер кюветы, интервал длин волн.

1.3. Определяют отношение оптических плотностей при различных длинах волн.

Это уменьшает влияние переменных характеристик прибора на испытание и исключает необходимость использования стандартных образцов (табл. 4).

Например, при определении подлинности инозина по НД 42-8962-98 измеряют оптическую плотность его $0,6 \cdot 10^{-3}$ % раствора в фосфатном буфере при 250, 260, 280 и 290 нм. Должны быть следующие значения

отношений: $\frac{D_{250}}{D_{260}} = 1,63 \div 1,83$; $\frac{D_{280}}{D_{260}} = 0,18 \div 0,30$; $\frac{D_{290}}{D_{260}}$ – не более 0,06.

1.4. Рассчитывают ($E_{1\text{см}}^{1\%}$) или оптическую плотность при λ_{max} (табл. 4).

Например, при идентификации парацетамола (НД 42-4590-95, Китай) удельный показатель поглощения при 240 нм (максимум) должен быть около 880 (растворитель – 0,1 моль/л кислота хлористоводородная).

2. Испытание на чистоту

При наличии примесей могут изменяться максимумы их интенсивность, появляться дополнительные максимумы поглощения,.

2.1. С целью обнаружения примесей используют те же характеристики, что и при испытаниях на подлинность, т.е. величины отношений оптических плотностей при различных максимумах и значение удельных показателей поглощения (табл. 3, 4).

2.2. При хранении некоторые препараты могут частично окисляться с появлением окраски, интенсивность которой контролируется величиной оптической плотности приготовленного раствора при определенной длине волны.

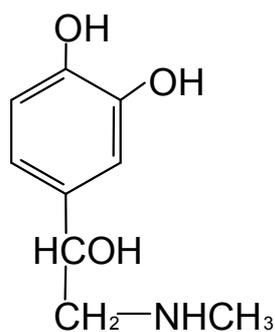
Например, при определении цветности 16 % водного раствора метамизола (анальгина) измеряют его оптическую плотность при 400 нм, которая не должна быть более 0,10 (НД 42-4593-95, Китай). При определении цветности 10 % водного раствора ампициллина натриевой соли измеряют его оптическую плотность при длине волны 430 ± 1 нм; она не должна превышать 0,15 (ФС 42-3535-98).

Характеристики УФ-спектров, используемые при идентификации некоторых лекарственных веществ в фармакопейном анализе

Лекарственное вещество	Концентрация и растворитель	Показатель, используемый для идентификации
Адреналин	0,005 % в 0,01 моль/л HCl	λ_{\max} 278 нм; $E_{1\text{см}}^{1\%} = 78-82$
Левомецетин	0,002 % в H ₂ O	λ_{\max} 278 нм; $E_{1\text{см}}^{1\%} = 290-305$
Токоферол	0,01% в абсолютном спирте	λ_{\max} 285 нм; $E_{1\text{см}}^{1\%} = 42-47$
Тетрациклин	0,001 % в 0,2 моль/л NaOH	λ_{\max} 380 нм; $E_{1\text{см}}^{1\%} = 290-305$
Феноксиметил-пенициллин	0,02% в 0,4 % растворе NaHCO ₃	$\frac{D_{268}}{D_{274}} = 1,21 - 1,24$
Натрия пара-аминосалицилат	0,001 % водный раствор	$\frac{D_{265}}{D_{299}} = 1,50 - 1,56$
Цианокобаламин	0,002% водный раствор	λ_{\max} 278, 361 и 548 нм
Прогестерон	0,001 % в 95 % спирте	$\frac{D_{361}}{D_{278}} = 1,70 - 1,88$
Рибоксин-стандарт	0,001 % водный раствор	$\frac{D_{361}}{D_{548}} = 3,0 - 3,4$
		λ_{\max} 241 нм; $E_{1\text{см}}^{1\%} = 518-545$
		λ_{\max} 241 нм; $E_{1\text{см}}^{1\%} = 445-465$

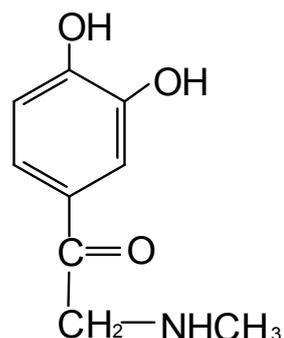
2.3. Специфические примеси, присутствующие в лекарственных веществах, как правило, имеют близкое химическое строение с исследуемым веществом, однако поглощают УФ-свет при разных длинах волн.

Например, λ_{\max} растворов адреналина (I) находится при 278 нм, а его специфическая токсичная примесь – адреналон (II) имеет максимум поглощения при длине волны 310 нм.



λ_{\max} 278 нм

I



λ_{\max} 310 нм

II

Согласно ФС, оптическая плотность 0,05 % раствора адреналина при 310 нм не должна превышать 0,1 (т.е. в адреналине допускается незначительное строго нормируемое содержание адреналона).

3. Определение количественного содержания лекарственных веществ

При количественном определении в УФ-области спектра точную массу или объем анализируемого образца (субстанция, таблетки, инъекционные растворы и т.д.) растворяют в подходящем растворителе, при необходимости готовят соответствующее разведение и измеряют оптическую плотность приготовленного раствора при длине волны, указанной в НД, на приборе спектрофотометре. Концентрацию (или массовую долю в процентах) анализируемого вещества определяют одним из нижеприведенных способов.

3.1. Сравнение поглощения раствора испытуемого вещества с поглощением стандартного раствора

Готовят раствор стандартного образца анализируемого вещества с концентрацией, близкой к концентрации анализируемого вещества. Согласно закону Бугера-Ламберта-Бера для одного и того же вещества отношения оптических плотностей к соответствующей концентрации равны между собой.

$$\frac{D_X}{D_{СТ}} = \frac{C_X}{C_{СТ}}, \text{ отсюда } C_X = \frac{C_{СТ} \cdot D_X}{D_{СТ}}$$

Указанный способ часто используется в практике фармацевтического анализа.

Основным ограничением его является наличие стандартного образца.

Стандартные образцы – это дополнительно очищенные вещества, которые используются как эталонные при проведении анализа физическими, физико-химическими и биологическими методами. Стандартные образцы подразделяются на государственные стандартные образцы (ГСО), рабочие стандартные образцы (РСО) и стандартные образцы веществ-свидетелей (СОВС). ГСО выпускаются в соответствии со специальными требованиями. На них, как и на лекарственные вещества, имеются отдельные фармакопейные статьи. При расчете количественного содержания стандартный образец принимают за 100 %.

В качестве РСО используют образцы серийных лекарственных веществ, соответствующих требованиям фармакопейных статей на эти вещества.

Стандартные образцы веществ-свидетелей используют для определения примесей или компонентного состава лекарственных средств. В качестве СОВС могут быть использованы ГСО, РСО, а также вещества, специально изготовленные и аттестованные в порядке, предусмотренном частной фармакопейной статьей. Расчет количественного содержания индивидуального вещества в процентах (X) в субстанциях проводят по формуле:

$$X = \frac{D \cdot C \cdot 100 \cdot 100}{D_{\text{ГСО}} \cdot a \cdot 5} \cdot 100\% \quad (8),$$

где D и $D_{\text{ГСО}}$ – оптическая плотность растворов исследуемого и государственного стандартного образца соответственно;

C – концентрация раствора стандартного образца, г/мл;

a – точная масса лекарственного вещества, г;

5, 100, 100 – разведения, согласно НД, мл..

Более практичен вариант записи формулы (8), где указан способ приготовления раствора стандартного образца:

$$X = \frac{D \cdot v \cdot 100 \cdot 100 \cdot 10}{D_{\text{ГСО}} \cdot a \cdot 5 \cdot 100 \cdot 100} \cdot 100\% = \frac{D \cdot v \cdot 2}{D_{\text{ГСО}} \cdot a} \cdot 100\% \quad (9),$$

где 5, 10, 100, 100, 100, 100 – разведения, согласно НД, мл;

v – точная масса ГСО, г.

При анализе лекарственных форм формула (9) принимает следующий вид:

а) в таблетках, драже, суппозиториях

$$X(\text{г}) = \frac{D \cdot v \cdot 100 \cdot 100 \cdot 10 \cdot M}{D_{\text{РСО}} \cdot a_1 \cdot 5 \cdot 100 \cdot 100} = \frac{D \cdot v \cdot 2 \cdot M}{D_{\text{РСО}} \cdot a_1} \quad (10),$$

где D_{PCO} – оптическая плотность раствора рабочего стандартного образца;

a_1, v – точная масса лекарственной формы и рабочего стандартного образца соответственно, г;

M – средняя масса таблеток, драже, суппозиторий, г;

б) в жидких лекарственных формах

$$X(\Gamma) = \frac{D \cdot v \cdot 100 \cdot 100 \cdot 10 \cdot V}{D_{ГСО} \cdot V_1 \cdot 2 \cdot 100 \cdot 100} \quad (11),$$

где V_1 – объем анализируемого раствора, взятый для анализа, мл;

V – объем лекарственной формы по прописи, мл;

2, 10, 100, 100, 100, 100 – разведения, согласно НД, мл.

Предлагаемый способ реализуется лишь при наличии ГСО или РСО.

В противном случае определение проводят по п. 3.2.

3.2. Определение концентрации по величинам удельного или молярного коэффициентов поглощения

Расчет концентрации лекарственных веществ в субстанциях, твердых и жидких лекарственных формах проводят по формулам, аналогичным (9), (10), (11).

При этом в них $\frac{D_{PCO(ГСО)}}{C_{PCO(ГСО)}} = \frac{D_{PCO(ГСО)} \cdot 100 \cdot 100}{v \cdot 10}$ заменены на

величины $E_{1cm}^{1\%}$ или ε . При количественном анализе, как правило,

используется величина $E_{1cm}^{1\%}$.

В субстанциях

$$X(\%) = \frac{D \cdot 100 \cdot 100}{E_{1CM}^{1\%} \cdot a \cdot 5 \cdot 100} \cdot 100\% \quad (12),$$

где 100 (в знаменателе) – пересчет концентрации растворов (г/мл в %).

В таблетках, суппозиториях, драже

$$X(\Gamma) = \frac{D \cdot 100 \cdot 100 \cdot M}{E_{1CM}^{1\%} \cdot a_1 \cdot 5 \cdot 100} \quad (13).$$

В жидких лекарственных формах

$$X_{(г)} = \frac{D \cdot 100 \cdot 100 \cdot V}{E_{1CM}^{1\%} \cdot V_1 \cdot 2 \cdot 100} \quad (14).$$

В фармацевтическом анализе достаточно часто используют значение удельного показателя поглощения определяемого вещества, например, при количественном анализе субстанций рутина, рибофлавина, феноксиметилпенициллина, капсул троксевазина, настойки пустырника, ингаляционного аэрозоля «Астмопент» и др.

3.3. По градуировочному графику

Готовят серию растворов (5-10) стандартного образца (ГСО или РСО) исследуемого вещества с постепенно возрастающей концентрацией. Измеряют оптическую плотность каждого из приготовленных растворов при λ_{max} и строят график зависимости $D = f(C)$ (рис. 7).

Затем измеряют оптическую плотность исследуемого раствора – D_x и графически определяют искомую концентрацию – C_x .

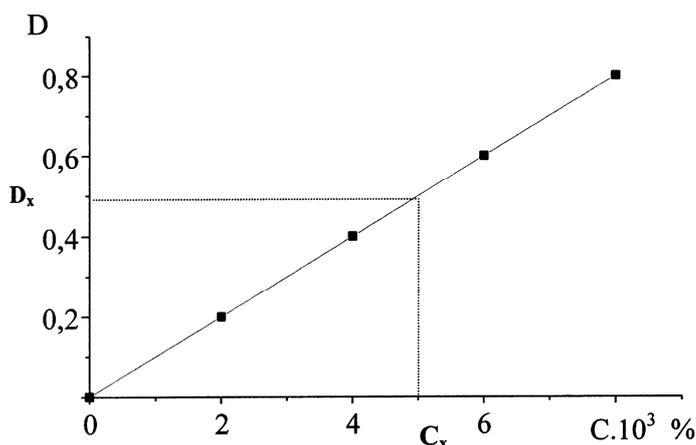


Рис. 7. Градуировочный график

Учитывая, что величина оптической плотности меняется в зависимости от используемой аппаратуры, градуировочный график строят для каждого конкретного прибора, на котором работает аналитик, и его периодически следует проверять. Содержание лекарственного вещества в процентах (X) определяют по формуле:

$$X = \frac{C_x \cdot P(V) \cdot 100}{m} \quad (15),$$

где m – масса (объем) лекарственного вещества или лекарственной формы, взятых для анализа, г (мл);

C_x – количество вещества, найденное по градуировочному графику, г/мл или %;

P – масса лекарственной формы, г; или V – объем лекарственной формы, мл.

Данный способ используется редко для определения содержания лекарственных веществ. Однако градуировочный график позволяет определить диапазон концентраций анализируемого вещества, при котором соблюдается линейная зависимость оптической плотности от концентрации (подчинение основному закону светопоглощения Бугера-Ламберта-Бера) и является необходимым при разработке методик определения количественного содержания лекарственных веществ. Данные градуировочных графиков также используются для определения значений удельных показателей поглощения анализируемых веществ.

При этом для каждой концентрации рассчитывают значение $E_{1\text{см}}^{1\%}$, пользуясь формулой

$$E_{1\text{см}}^{1\%} = \frac{D}{C \cdot l}$$

и на основании полученных данных определяется среднее значение удельного показателя поглощения по формуле:

$$\bar{E}_{1\text{см}}^{1\%} = \frac{\sum_{i=1}^n E_i}{n},$$

где n – число фотометрируемых растворов.

3.4. Определение количества действующего вещества, перешедшее в раствор через время, указанное в НД при растворении таблеток (тест «Растворение»). См. Приложение 2 (таблетки анаприлина 0,01 г и 0,04 г, ФС 42-1549-98).

3.5. При испытаниях на однородность дозирования определяют содержание действующего вещества в каждой отдельной дозе, см. Приложение 2 (таблетки анаприлина 0,01 г и 0,04 г, ФС 42-1549-98).

В соответствии с современными требованиями для таблеток, стерильных сухих лекарственных средств для инъекций и лекарственных веществ в капсулах с содержанием вещества 0,05 г и менее обязательным является испытание на однородность дозирования. Для такой оценки требуется применение высокочувствительного метода. Одним из таких методов является УФ-спектрофотометрия.

При количественном определении целесообразно использовать такие полосы поглощения, которые отвечают следующим условиям:

- **данная полоса поглощения должна быть по возможности свободна от наложения полос других компонентов анализируемой системы;**
- **выбранная полоса должна обладать достаточно высоким показателем поглощения для индивидуального соединения.**

При анализе используют максимум, реже – минимум полосы поглощения. Не следует производить измерения на участках крутого спада или подъема кривой.

АНАЛИЗ ДВУХ-И МНОГОКОМПОНЕНТНЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

Спектрофотометрический метод широко применяется в анализе многокомпонентных систем, так как в ряде случаев позволяет провести количественное определение компонентов без их предварительного разделения.

Здесь возможно несколько вариантов без предварительного разделения компонентов в зависимости от характера светопоглощения каждого из них.

1. Анализ соединений с неперекрывающимися полосами поглощения, когда одно вещество имеет максимум светопоглощения, а другое не поглощает УФ-свет в данной области.

Например анализ лекарственной формы, состоящей из дибазола и папаверина гидрохлорида, в которой качественное определение второго компонента может быть определено по собственному поглощению в длинноволновой области при длине волны 324 нм.

Это наиболее оптимальный вариант, позволяющий без разделения определить концентрацию обоих компонентов, содержащихся в лекарственной форме. В этом случае каждый из компонентов анализируют в соответствующем максимуме светопоглощения.

2. Анализ лекарственной смеси, каждый из двух компонентов которой имеет свой максимум светопоглощения, в которой второй компонент оптически прозрачен.

Такие смеси анализируют методом изолированной абсорбции. Лекарственное вещество, в максимуме светопоглощения которого другой компонент не поглощает, определяют как в однокомпонентной лекарственной форме.

3. Анализ соединений с частично перекрывающимися полосами поглощения.

Расчёт содержания второго компонента (X_2), в максимуме светопоглощения которого поглощает также первое вещество, проводят по формуле:

$$X_2 = \frac{\left[\left(D_2 - \frac{D_1 \cdot E_3}{D_1} \right) \cdot W \cdot b \right]}{E_2 \cdot a \cdot 100},$$

где D_1 – оптическая плотность раствора в максимуме поглощения первого компонента;

D_2 – оптическая плотность раствора в максимуме поглощения второго компонента (сумма светопоглощений растворов обоих компонентов);

E_1 и E_2 – удельный показатель поглощения первого и соответственно второго компонента в их максимумах поглощения;

E_3 – удельный показатель поглощения первого компонента в максимуме поглощения второго компонента;

a – навеска (или объём) лекарственной формы, взятой для анализа, г (мл);

b – общая масса (или объём) прописанной лекарственной формы, г (мл);

W – разведение.

4. Анализ соединений с полным наложением полос поглощения.

Это наиболее сложный вариант анализа, разрешаемый расчётным методом Фирордта с использованием числа длин волн, превышающего число компонентов. Метод приемлем, если при двух длинах волн наблюдается значительное различие в интенсивности поглощения обоих компонентов при каждой выбранной для анализа длине волны. Затем для определения каждого компонента устанавливают оптическую плотность анализируемого раствора смеси при обеих длинах волн. Точность определения зависит от того, насколько велико различие между светопоглощением компонентов смеси: она будет наибольшей, когда одна длина волны является максимумом для второго компонента, а при второй длине волны наблюдается обратное явление.

При выполнении анализа методом Фирордта концентрацию (C_1 и C_2) в двухкомпонентной смеси рассчитывают по формуле:

$$C_1 = \alpha_1 D_1 - \beta_1 D_2; C_2 = \alpha_2 D_2 - \beta_2 D_1.$$

Предварительно вычисляют значения коэффициентов α_1 , α_2 , β_1 , β_2 :

$$\alpha_1 = \frac{E''_2}{\left(E'_1 \cdot E''_2 - E'_2 \cdot E''_1 \right)}; \quad \beta_1 = \frac{E''_2}{\left(E'_1 \cdot E''_2 - E'_2 \cdot E''_1 \right)};$$

$$\alpha_2 = \frac{E'_1}{\left(E'_1 \cdot E''_2 - E'_2 \cdot E''_1 \right)}; \quad \beta_2 = \frac{E'_1}{\left(E'_1 \cdot E''_2 - E'_2 \cdot E''_1 \right)},$$

где E'_1, E'_2 – удельные показатели поглощения первого и второго компонентов при длине волны λ_1 ;

E''_1, E''_2 – удельный показатель поглощения первого и второго компонентов при λ_2 ;

D_1 и D_2 – оптические плотности смесей при длинах волн λ_1 и λ_2 соответственно.

На основе использования метода Фирордта разработаны способы анализа многих лекарственных форм, например, содержащих кислоты салициловую и бензойную, резорцин и новокаин, смесь папаверина с анестезином и новокаином, смеси сульфаниламидов и др.

Недостаток метода Фирордта заключается в том, что при анализе трёх- и более компонентных систем даже небольшие ошибки в измерениях $E_{1\text{см}}^{1\%}$ и D приводят к значительному снижению точности анализа.

ОСОБЕННОСТИ АНАЛИЗА ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ В ВИДИМОЙ ОБЛАСТИ СПЕКТРА

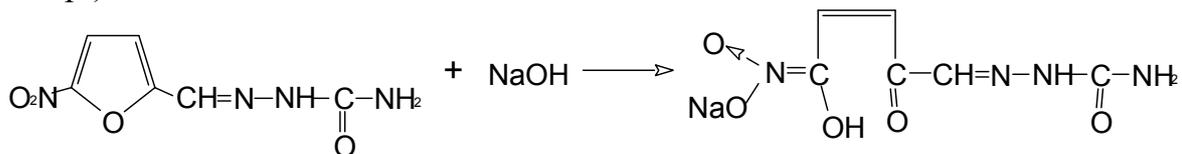
В видимой области спектра электромагнитное излучение (360-780 нм) обычно поглощают окрашенные вещества: либо за счёт собственной окраски (например, рибофлавин), либо за счёт окрашенных продуктов реакции определяемых веществ с реагентами (функциональный анализ). Основная сложность при реализации методики заключается в том, что многие реакции протекают достаточно медленно (при комнатной температуре иногда часами). Увеличение температуры приводит не только к ускорению основной реакции, но и побочных. Состав продуктов порой до конца неизвестен.

Требования к реакциям, применяемым в фотометрии

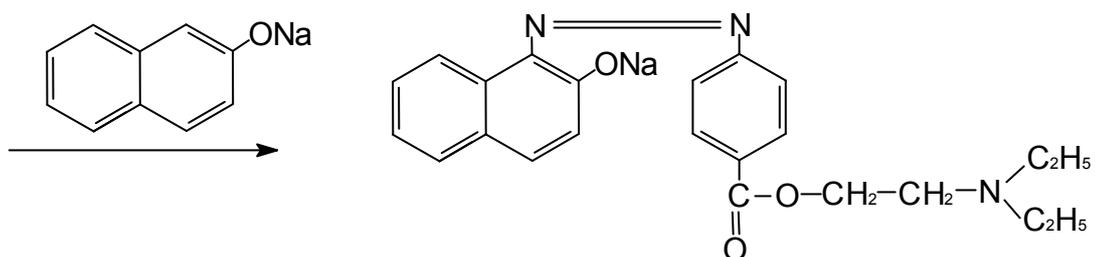
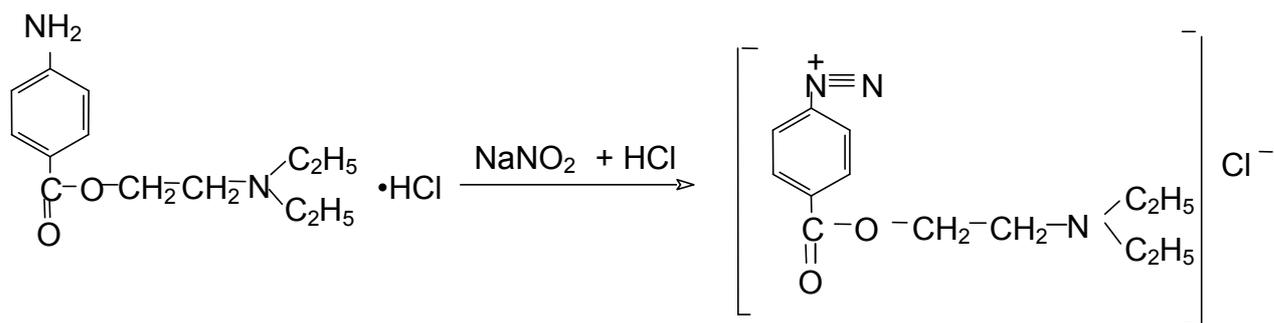
1. Полученное окрашенное соединение должно быть устойчивым и иметь постоянный состав.
2. Реакция должна протекать быстро.
3. Реакция должна быть стехиометрической.
4. Реакция должна быть избирательной и чувствительной.
5. Используемые реагенты должны быть доступны, экологически безвредны и рентабельны.
6. Продукт реакции должен иметь возможно большую величину удельного коэффициента поглощения ($E_{1\text{см}}^{1\%}$).

Для получения окрашенных соединений используют ряд реакций.

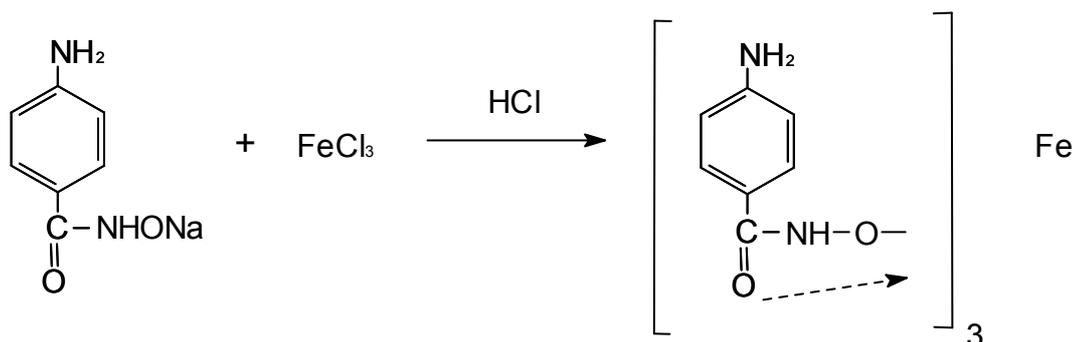
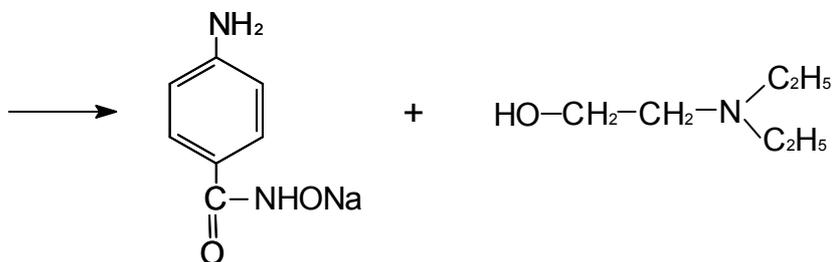
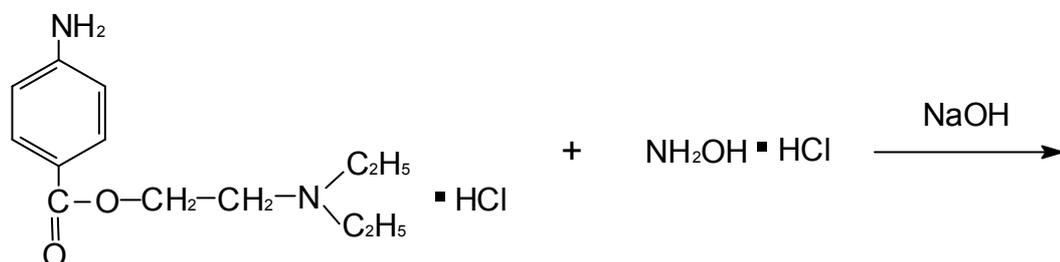
- 1) Получение АЦИ-солей с натрия гидроксидом на препараты, содержащие нитрогруппу (фурацилин, фуразолидон, левомецетин, нитроксолин и др.):



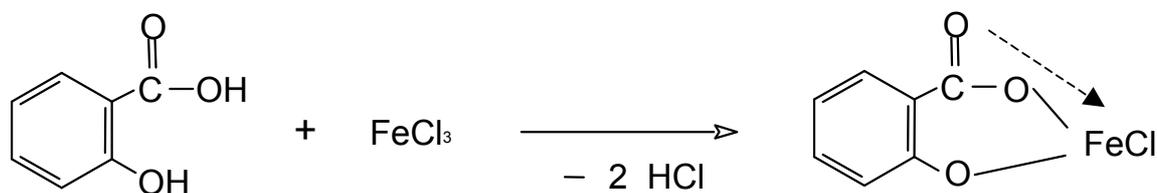
- 2) Диазотирование с последующим азосочетанием на лекарственные вещества, содержащие первичную ароматическую аминогруппу (анестезин, новокаин, сульфаниламиды и др.):



3) Получение гидроксаматов меди и железа для препаратов, содержащих сложноэфирную (новокаин), лактонную (пилокарпин), лактамную (бензилпенициллина калиевая и натриевая соли) группы:



- 4) Комплексообразование с железа (III) хлоридом, железоаммонийными квасцами (кислота салициловая):



Если полученное окрашенное соединение не растворимо в воде, его извлекают органическим растворителем, не смешивающимся с водой (хлороформ, бензол и др.), и определяют оптическую плотность окрашенной жидкости при определённой длине волны (метод экстракционной спектрофотометрии).

ЭТАПЫ ФОТОМЕТРИЧЕСКОГО ОПРЕДЕЛЕНИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ ПРИ РАЗРАБОТКЕ МЕТОДИК АНАЛИЗА

1. Приготовление раствора анализируемого препарата.

С этой целью в случае отсутствия государственных стандартных образцов (ГСО) берут препараты, соответствующие требованиям ГФ, ФС, т.е. РСО. Для измерения готовят растворы с концентрациями в пределах 10^{-2} - $10^{-3}\%$ методом последовательного разведения. Полученные растворы должны быть прозрачными.

2. Установление зависимости оптической плотности растворов от длины волны (получение электронного спектра).

Электронные спектры необходимы для целей идентификации, испытания на чистоту (по величине отношений оптических плотностей при различных максимумах поглощения и по положению максимумов полос поглощения на оси длин волн) и количественного определения.

3. Определение области концентраций веществ, в которой наблюдается подчинение основному закону светопоглощения (Бугера-Ламберта-Бера) – составление калибровочного графика.

Данный метод можно использовать для области концентраций растворов, где имеет место линейная зависимость.

В случае исследования окрашенных растворов в видимой области спектра важным моментом является время, в течение которого для одной и той же концентрации сохраняется постоянное значение оптической

плотности, поэтому в методике его необходимо указать (когда, после проведения цветной реакции, раствор фотометрируют).

Оптимальными значениями оптических плотностей является диапазон 0,3-0,7, в пределах которого имеют место минимальные отклонения от закона Бугера-Ламбера-Бера. Указанными величинами оптической плотности следует руководствоваться при количественных определениях.

Калибровочный график можно использовать также для определения удельного показателя поглощения и установления неизвестной концентрации вещества.

4. Определение неизвестной концентрации вещества следующими методами:

а) путём сравнения со стандартным раствором;

б) по формуле (используя значение $E_{1\text{см}}^{1\%}$);

в) по градуировочному графику.

При разработке методики фотоэлектроколориметрического определения веществ вместо снятия электронного спектра подбирают подходящий светофильтр (учитывают окраску раствора и значения оптических плотностей при различных светофильтрах).

Спектрофотометрический и фотоэлектроколориметрический методы возможно применять для анализа субстанций препаратов только при наличии Государственных стандартных образцов (ГСО). Анализ лекарственных форм можно проводить, используя в качестве стандартных образцов вещества, соответствующие требованиям ГФ, ФС (РСО).

ДИФФЕРЕНЦИАЛЬНАЯ ФОТОМЕТРИЯ

При определении поглощения интенсивно окрашенных растворов с пропусканием $< 10\%$ ($D > 1,0$), соответствующих высокому содержанию определяемого вещества в растворе, погрешность определения концентрации будет недопустимо велика. Её можно уменьшить, используя метод дифференциальной фотометрии. В отличие от обычной фотометрии, поглощение исследуемого и стандартного растворов измеряют относительно раствора сравнения, содержащего точно известное количество определяемого вещества, переведённого в аналитическую форму. При этом концентрация поглощающего вещества в растворе сравнения близка к его концентрации в фотометрируемом растворе.

В дифференциальной фотометрии используют различные приёмы работы, чаще всего метод «определения больших концентраций». В этом методе оптический нуль фотометрического прибора по шкале поглощений ($D = 0$; $T = 100\%$) устанавливают по раствору сравнения, содержащему аналитическую форму определяемого вещества. Обычно таким раствором

сравнения является один из растворов стандартного ряда. Тогда, выполняя измерение светопоглощения фотометрируемого раствора относительно этого стандартного раствора, может быть достигнуто расширение фотометрической шкалы и, следовательно, уменьшение погрешности измерения пропускания или поглощения.

Так как соотношение поглощений растворов сравнения и фотометрируемого в дифференциальной фотометрии может быть и больше, и меньше единицы, при работе удобно использовать метод двусторонней дифференциальной фотометрии: если $D > D_{CP}$, используют прямой порядок измерения, если $D < D_{CP}$ – обратный порядок измерения, то есть суммируют поглощение раствора сравнения относительно фотометрируемого и поглощение записывают со знаком минус. При этом градуировочный график не проходит через начало координат, но пересекает ось концентраций в точке, соответствующей концентрации определяемого вещества в растворе сравнения. Результат определения может быть найден также и по формуле: $C_x = DF + C_0$.

Аналитический фактор F рассчитывают по формуле:

$$F = \frac{C_{i+1} - C_i}{D_{i+1} - D_i}$$

где D_{i+1} , D_i – поглощение каких-либо двух стандартных растворов с концентрациями определяемого вещества C_{i+1} , C_i .

ФОТОМЕТРИЧЕСКОЕ ТИТРОВАНИЕ

Фотометрическое титрование основано на регистрации изменения поглощения (или пропускания) анализируемого раствора по мере прибавления титранта. По результатам этих измерений в координатах $D = f(V_B)$, где V_B – объём добавленного титранта, строят кривую титрования и по излому на ней или по скачку находят конечную точку титрования (рис. 8).

Зная расход титранта, соответствующий этому моменту, находят содержание определяемого вещества в титруемом растворе по обычным формулам титриметрического анализа. Реакции, используемые в титриметрии, должны быть стехиометричными, быстрыми, иметь достаточно большую константу равновесия и удобный способ индикации конечной точки. Преимуществом метода является возможность использования реакций, не заканчивающихся в точке эквивалентности (рис. 8, кривые 2, 4).

В фотометрическом титровании могут быть использованы все химические реакции, применяемые в титриметрии – кислотно-основное взаимодействие, реакции окисления-восстановления, осаждения, комплексообразования.

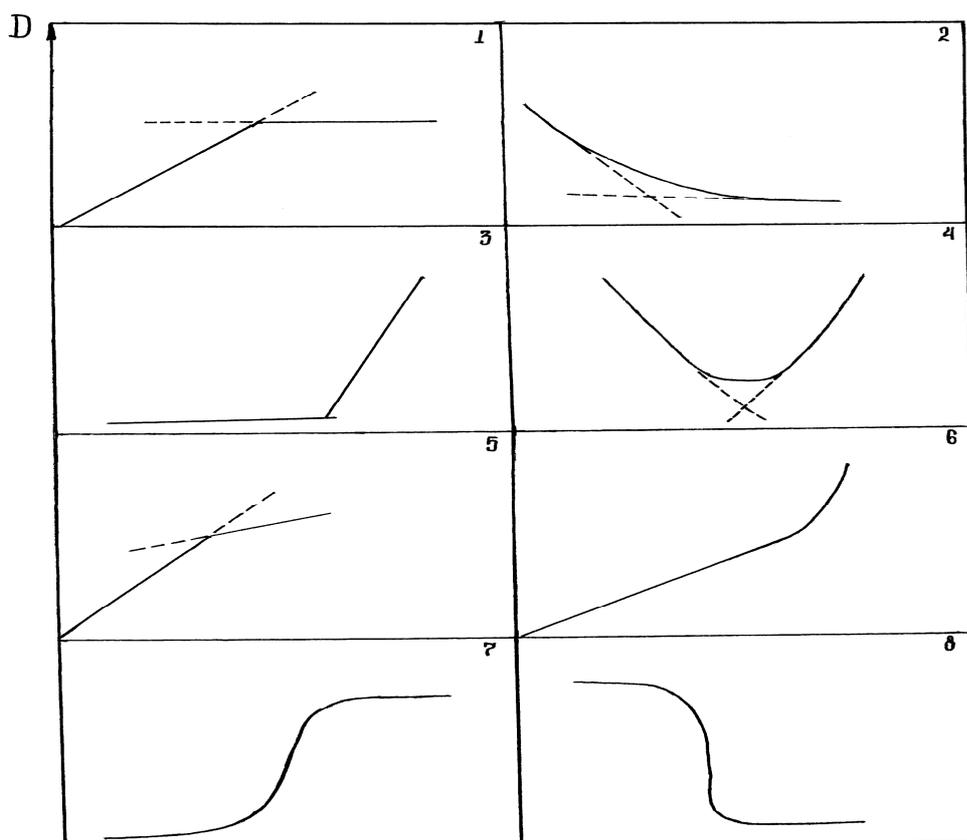


Рис. 8. Типы кривых фотометрического титрования

ПРЕИМУЩЕСТВА ФОТОМЕТРИЧЕСКОГО ТИТРОВАНИЯ

1. Достаточно высокая чувствительность.
2. Хорошая воспроизводимость.
3. Возможность анализа смеси веществ.
4. Возможность автоматической регистрации конца титрования.
5. Возможность получения результатов с выводом их на дисплей компьютера.

ДОСТОИНСТВА ФОТОМЕТРИЧЕСКОГО МЕТОДА

- Простота и быстрота аналитических реакций.
- Использование небольшого количества анализируемого вещества (несколько мг).
- Высокая чувствительность (предел обнаружения 10^{-7} г).
- Универсальность метода (возможность анализа лекарственных веществ разнообразной химической структуры по различным показателям согласно НД).

- Возможность сочетания его с другими методами (с хроматографией, экстракцией и т.д.)
- Невысокая погрешность аналитических измерений ($\pm 1-2\%$).

АППАРАТУРА В ФОТОМЕТРИИ

Измерение поглощения в УФ- и видимой областях производят на фотоэлектрических спектрофотометрах разного типа: СФ-46, СФ-56 (Россия), Specord UV-VIS, Specord M-40 (Германия), Perkin Elmer 402, 412 (США) и др.

При всём многообразии схем и конструктивных особенностей приборов абсорбционной спектроскопии в каждом из них имеется несколько основных узлов (рис. 9).

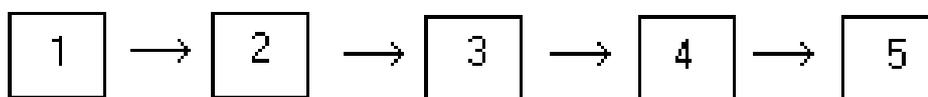


Рис. 9. Блок-схема приборов для поглощения излучения

- 1 – источник излучения;
- 2 – монохроматор;
- 3 – кюветы с исследуемым раствором и растворителем;
- 4 – приёмник излучения;
- 5 – измерительные и регистрирующие устройства.

К этим узлам следует добавить оптическую систему, состоящую из линз, призм и зеркал, для создания параллельного пучка света, также систему для уравнивания световых потоков (диафрагмы, оптические клинья и т.д.).

Источник излучения. В качестве источника УФ-излучения применяется обычно газоразрядная «водородная лампа» (электрическая дуга в атмосфере водорода при низком давлении), которая даёт практически непрерывный спектр излучения в области 190-360 нм. При работе в видимой области источником излучения служит лампа накаливания с вольфрамовой спиралью, дающая свет с длинами волн 340-1100 нм.

Монохроматор – это устройство, разлагающее излучение на составляющие его волны разной длины. Все монохроматоры состоят из диспергирующего устройства и связанной с ним системы линз, зеркал, входных и выходных щелей. Диспергирующими элементами служат призмы и дифракционные решётки.

В призмённом монохроматоре излучение проходит через входную щель, сводится линзой в параллельный пучок и затем попадает под углом на поверхность призмы. На обеих гранях призмы происходит

преломление. Разложенное излучение фокусируется на слегка изогнутой поверхности, на которой расположена выходная щель. Поворотом призмы можно направить в эту щель излучение с требуемой длиной волны.

В видимой части спектра в качестве материала для призм используют стекло, в ультрафиолетовой – кварц.

Дифракционные решётки изготавливают нанесением параллельных штрихов на стекло или другой прозрачный материал (до 6000 штрихов на 1 см). При освещении дифракционной решётки потоком излучения, прошедшим через входную щель, каждый штрих становится источником излучения. В результате интерференции многочисленных потоков излучение разлагается в спектр.

Кюветное отделение – устройство, где находятся кварцевые кюветы с раствором сравнения и исследуемого образца.

Приёмник излучения (фотоэлемент) регистрирует интенсивность световых потоков в широком диапазоне длин волн. Он чувствителен к излучению небольшой интенсивности, быстро реагирует на излучение, давая электрический сигнал, который легко можно умножить. Для приёма сигнала в УФ- и видимой областях обычно применяют фотоэлементы с внешним фотоэффектом: сурьмяно-цезиевый (190-700 нм) и кислородно-цезиевый (600-1100 нм). При измерении излучения с низкой интенсивностью используют **фотоумножители**.

Измерительное и регистрирующее устройства включают шкалу прибора, микропроцессорную систему, диаграммную ленту, экран монитора, принтер.

Для спектрофотометрических измерений в УФ- и видимой областях применяются два типа приборов – **нерегистрирующие и регистрирующие спектрофотометры**.

При работе на нерегистрирующих спектрофотометрах результаты наблюдают на шкале прибора визуально. В таком случае электронные спектры строят графически по полученным данным (λ , D). Регистрирующие спектрофотометры автоматически изображают электронный спектр на ленте-самописце, экране монитора, принтере.

Спектрофотометры бывают **одно- и двухлучевые**.

При работе на однолучевом спектрофотометре в монохроматический поток излучения, поступающий из выходной щели в кюветное отделение, поочерёдно вводится контрольный (раствор сравнения) и исследуемый образцы (например, СФ-46) (рис. 10).

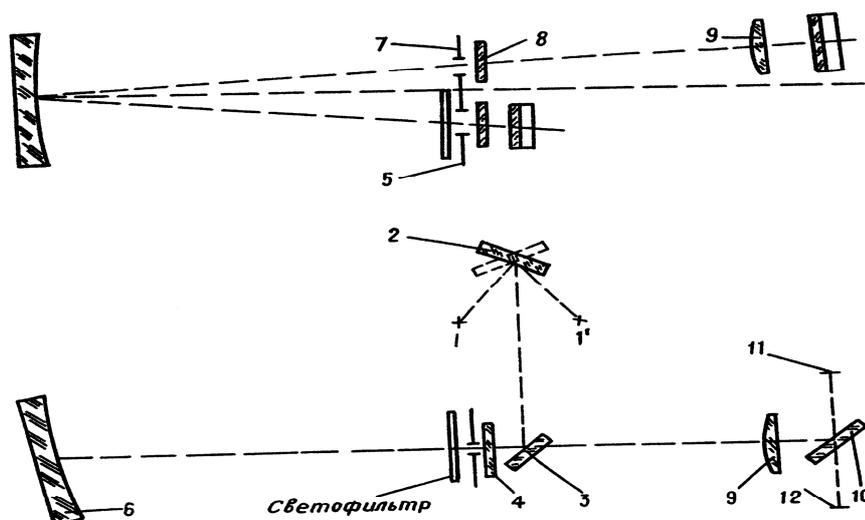


Рис. 10. Оптическая схема СФ-46

1 – источник света; 2 – конденсор; 3 – плоское поворотное зеркало; 4 – линза; 5 – входная щель монохроматора; 6 – дифракционная решетка; 7 – выходная щель; 8, 9 – линзы; 10 – поворотное зеркало; 11 или 12 – светочувствительный слой фотоэлемента.

В современных регистрирующих приборах световой поток делится на два одинаковых пучка, один из которых проходит через исследуемый раствор, а другой через раствор сравнения. При этом уравнивание интенсивности световых потоков, прошедших через кюветы, и непрерывное изменение длин волн производится автоматически. В обоих типах приборов интенсивность прошедшего через кювету света измеряется с помощью фотоэлемента. Ток усиливается и регистрируется потенциометром, сравнивается интенсивность двух световых потоков: прошедшего через исследуемый раствор и пропущенного через раствор сравнения.

Спектрофотометр СФ-56

Однолучевой автоматизированный спектрофотометр предназначен для измерения спектральных коэффициентов пропускания жидких и твердых прозрачных веществ. Управление спектрофотометром и обработка результатов измерения осуществляется при помощи микро-ЭВМ. Информация выводится на дисплей и печатающее устройство.

Основные режимы работы спектрофотометра: автоматическое однократное и многократное выполнение измерений для одного или нескольких образцов на заданных оператором длинах волн с заданным

временным интервалом между циклами измерений; обзорное сканирование и вывод заданных участков спектра на видеомонитор для проведения качественного анализа; проведение кинетических измерений; математическая обработка результатов измерений, в том числе вычисление оптической плотности и концентрации, а также расчет цветовых характеристик исследуемых объектов

ФОТОЭЛЕКТРОКОЛОРИМЕТРИЯ

Более доступным является фотоэлектроколориметрический метод количественного определения. Основные законы и методы определения являются общими как для фотоэлектроколориметрии, так и спектрофотометрии в видимой области спектра.

Существенным моментом в фотоэлектроколориметрии является подбор светофильтра. Нужный светофильтр подбирают экспериментально. Для этого готовят две пробы исследуемого раствора различной концентрации и измеряют их оптические плотности со всеми имеющимися светофильтрами. Затем для каждого светофильтра находят разность оптической плотности ΔD , соответствующую взятой разности концентрации ΔC окрашенного раствора. Тот светофильтр, при котором значение D или ΔD получается максимальное, является наиболее подходящим для фотометрирования данного окрашенного раствора.

Иногда при подборе светофильтра используют менее точный, но более быстрый приём – выбирают светофильтр по цвету исследуемого раствора (табл. 5).

Т а б л и ц а 5

ЦВЕТА РАСТВОРОВ И СООТВЕТСТВУЮЩИХ ИМ СВЕТОФИЛЬТРОВ

Цвет раствора	Область максимального поглощения лучей раствором, нм	Цвет светофильтра
Жёлто-зелёный	400-450	Фиолетовый
Жёлтый	450-480	Синий
Оранжевый	480-490	Зелёно-синий
Красный	490-500	Сине-зелёный
Пурпурный	500-560	Зелёный
Фиолетовый	560-575	Жёлто-зелёный
Синий	575-590	Жёлтый
Зелёно-синий	590-625	Оранжевый
Сине-зелёный	625-700	Красный

В фотоэлектроколориметрии применяют приборы – фотоэлектроколориметры различных марок (ФЭК-56М; КФК-2; КФК-3).

В качестве источника излучения в них используется лампа накаливания или галогенная, позволяющие вести определение в области спектра от 315 до 990 нм. Излучение от источника света попадает на светофильтры (ФЭК-56М; КФК-2) или на дифракционную решётку (КФК-3). Светофильтры пропускают световой поток определённого диапазона длин волн (немонохроматический свет). Светофильтры бывают нескольких типов: абсорбционные, интерференционные и др.

Абсорбционные светофильтры представляют собой цветные стёкла или стеклянные пластинки, между которыми помещён краситель, суспендированный в желатине. Абсорбционные светофильтры пропускают излучение ограниченного интервала длин волн и поглощают излучение всех остальных, они характеризуются довольно широкой полосой пропускания (30 нм и более). В табл. 6 дана характеристика светофильтров фотоэлектроколориметра КФК-2.

Т а б л и ц а 6

СВЕТОФИЛЬТРЫ КОЛОРИМЕТРА КФК-2 (КФК-2МП)

Маркировка на диске	Маркировка светофильтра	Длина волны, соответствующая максимуму пропускания, нм	Ширина полосы пропускания, нм
1	315	315 ± 5	35 ± 15
2	364	364 ± 5	25 ± 10
3	400	400 ± 5	45 ± 10
4	440	440 ± 10	40 ± 15
5	490	490 ± 10	35 ± 10
6	540	540 ± 10	25 ± 10
7	590	590 ± 10	25 ± 10
8	670	670 ± 5	20 ± 5
9	750	750 ± 5	20 ± 5
10	870	870 ± 5	25 ± 5
11	980	980 ± 5	25 ± 5

Характеристики **интерференционных светофильтров** значительно лучше. Светофильтр состоит из двух тончайших полупрозрачных слоёв серебра, между которыми находится слой диэлектрика.

Дифракционные решётки позволяют получать свет определённой длины волны (монохроматический свет). Световой поток определённого диапазона длин волн проходит через кювету с раствором исследуемого вещества и регистрируется фотоэлементом. Интенсивность светового

потока, прошедшего через исследуемый раствор, сравнивается с интенсивностью светового потока, прошедшего через кювету с раствором сравнения. На рис. 11, 13 представлены оптические схемы приборов КФК-2 и КФК-3.

Теплозащитный светофильтр (6) введён в световой пучок при работе видимой области спектра (400-590 нм). Для ослабления светового потока при работе в спектральном диапазоне 400-540 нм установлены нейтральные светофильтры (7). Для выделения узких участков спектра из сплошного спектра лампы в колориметре предусмотрены цветные светофильтры (8).

Фотоприёмники работают в разных областях спектра:
 фотоэлемент Ф-26 (15) в области спектра 315-540 нм;
 фотодиод ФД-24К (12) в области спектра 590-980 нм.

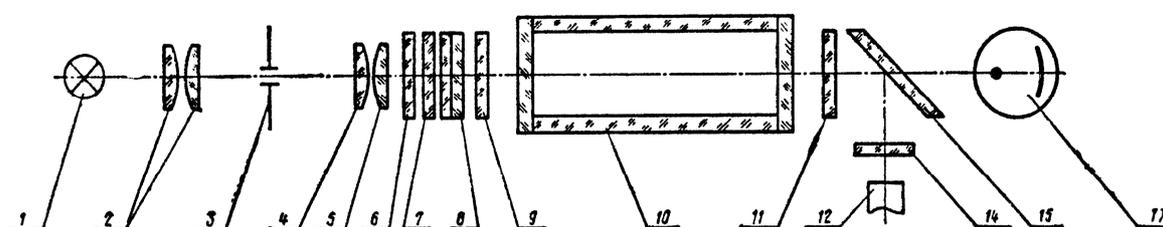


Рис. 11. Принципиальная оптическая схема колориметра фотоэлектрического концентрационного КФК-2 и КФК-2 МП.

- 1 – лампа накаливания;
- 2 – конденсор;
- 3 – диафрагма;
- 4, 5 – объектив;
- 6 – теплозащитный светофильтр;
- 7 – нейтральный светофильтр;
- 8 – цветные светофильтры;
- 9, 11 – защитные стекла;
- 10 – кювета;
- 12 – фотодиод (фотоприемник) ФД-24 К;
- 13 – светофильтр из цветного стекла;
- 14 – пластинка (делит световой поток);
- 15 – фотоэлемент Ф-26.

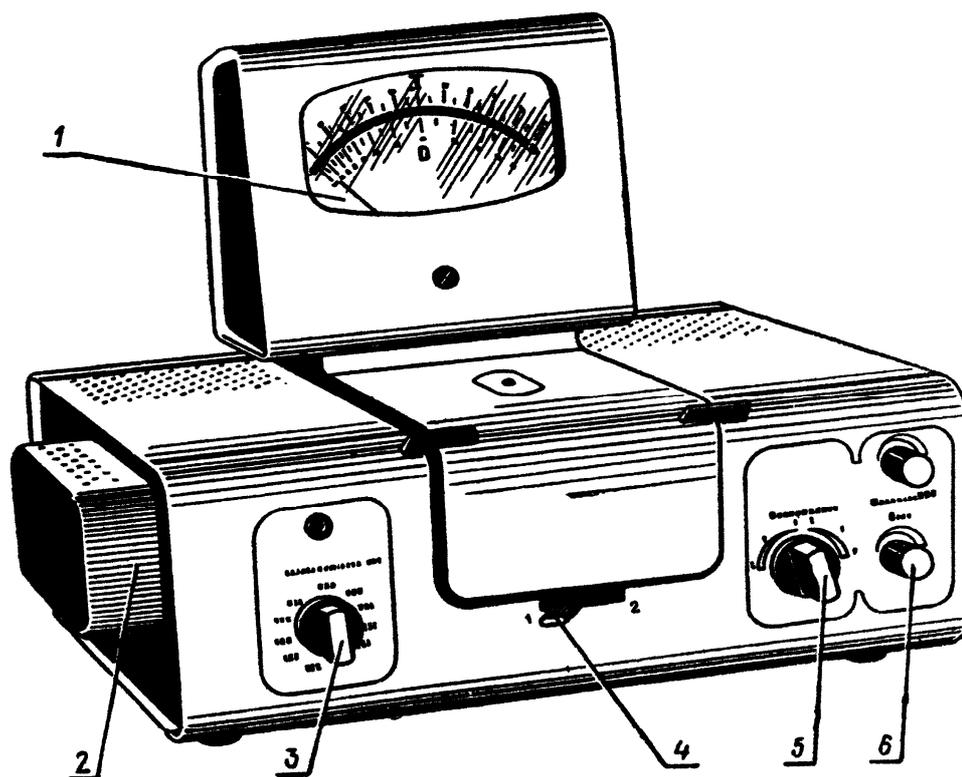


Рис. 12. Общий вид фотоколориметра КФК-2

Светофильтр (13) служит для уравнивания фототоков, снимаемых с фотоприёмника ФД-24К при работе с различными цветными светофильтрами.

Пластинка (14) делит световой поток на две части: примерно 10 % светового потока направляется на фотоприёмник ФД-24К и примерно 90 % на фотоэлемент Ф-26. Световой поток, пройдя через исследуемый раствор, воздействует одновременно на фотоприёмники ФД-24К и Ф-26.

Колориметры фотоэлектрические концентрационные КФК-2 и КФК-2МП (у которых имеется вычислительный блок с микропроцессорной системой) предназначены для измерения в отдельных участках диапазона длин волн 315-980 нм, выделяемых светофильтрами, коэффициентов пропускания и оптической плотности растворов анализируемых веществ. Весь спектральный диапазон (315-980 нм) разбит на 11 спектральных интервалов, выделяемых с помощью светофильтров.

Принцип действия колориметра основан на поочерёдном измерении светового потока F_0 , прошедшего через растворитель или контрольный раствор, по отношению к которому производится измерение и потока F , прошедшего через исследуемый раствор.

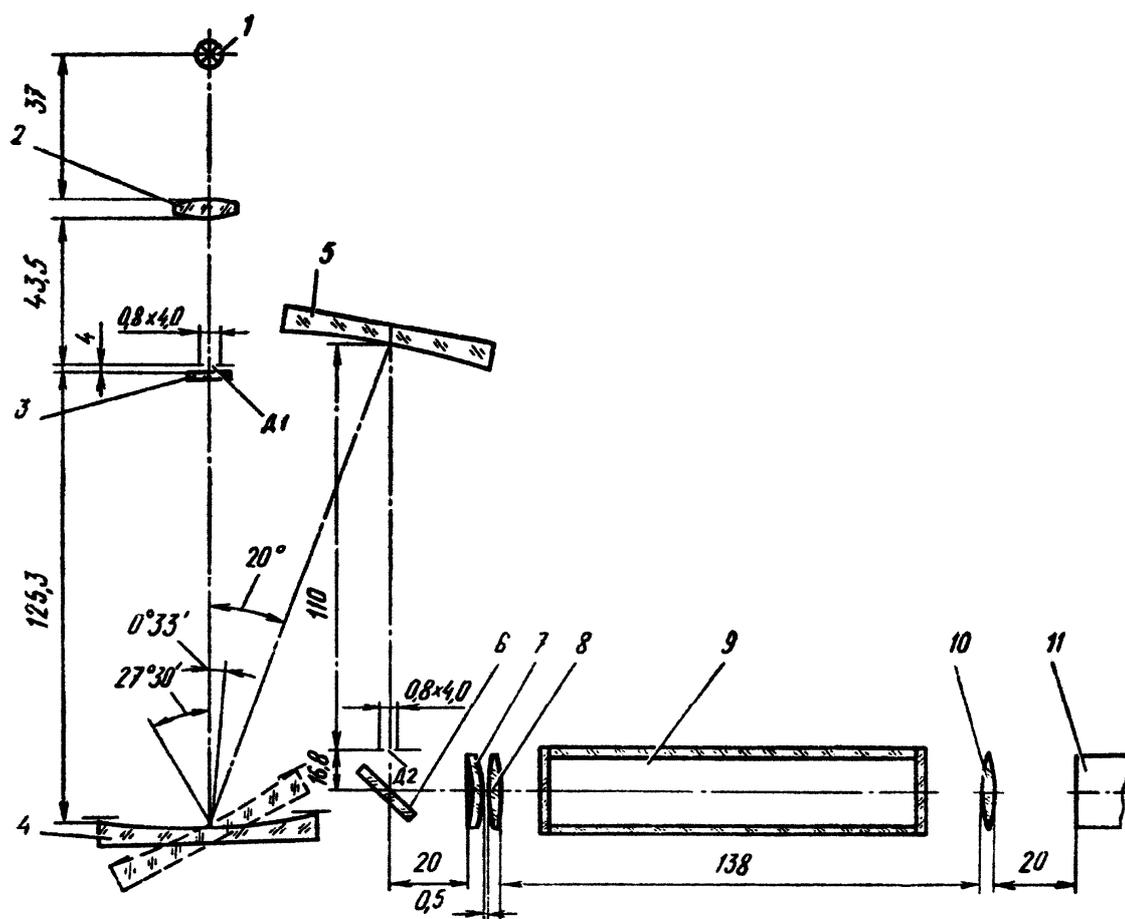


Рис. 13. Принципиальная оптическая схема фотометра фотоэлектрического КФК-3

- 1 – источник света (галогенная лампа накаливания);
- 2 – конденсор;
- 3 – светофильтр (при работе в области 315-400 нм);
- 4 – дифракционная решетка;
- 5 – зеркало;
- 6 – поворотные зеркала;
- 7, 8 – объектив;
- 9 – кювета;
- 10 – линза;
- 11 – приемник.

В качестве диспергирующего элемента используется дифракционная решетка (1200 штрихов на 1 мм). Кроме того, имеется микропроцессорная система.

Световые потоки F_0 и F преобразуются в электрические сигналы, и определяется отношение этих потоков, то есть коэффициент пропускания

исследуемого раствора T ($T = \frac{F}{F_0} \cdot 100\%$), или оптическую плотность D ($D = 2 - \lg T$) определяют по измерительной шкале прибора или цифровому табло (КФК-2МП).

МЕТРОЛОГИЧЕСКАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОГО МЕТОДА АНАЛИЗА

Требования, предъявляемые к спектрофотометрическому анализу лекарственных средств: высокая чувствительность, достаточная точность (надежность).

Чувствительность выражается нижней границей определения соединений. Это то наименьшее количество вещества (мг или мкг), содержащееся в исследуемом растворе, которое можно обнаружить при определённых условиях.

Квантово-механическими расчетами показано, что для молекул в растворах максимальная величина удельного показателя поглощения ($E_{см}^{\%}$) составляет порядка 10^3 (на практике обычно 100-1000). Минимальное значение оптической плотности, которое можно измерить с необходимой точностью ($S_r < 0,33$), составляет порядка 0,01, а величина толщины слоя, используемая в аналитической практике, равна 1 см.

Отсюда минимальные значения концентраций веществ, определяемых спектрофотометрическим методом, составляют 10^{-1} мкг/мл (в большинстве случаев измеряют концентрации 10^{-1} - 10^1 мкг/мл).

В то же время другие методы, как, например, флюориметрия, позволяют определять концентрации на несколько порядков меньше (1 нг/мл). Поэтому спектрофотометрический метод относится к среднечувствительным.

Точность. Результат анализа по тем или иным причинам имеет ошибку (погрешность) определения, которая возникает при каждом измерении объёма, оптической плотности, при взвешивании и т. д.

Вследствие этого вместо истинного получают приближённое значение определяемой величины. Необходимо уметь оценивать степень и характер этого приближения, т.е. *точность*, которая характеризует одновременно два вида ошибок: **воспроизводимость** и **правильность**.

Под погрешностью определения (A) понимают разность между истинной (D) и измеряемой (D_1) величинами.

$$A = D - D_1$$

Найденная ошибка (A) называется **абсолютной**. Отношение абсолютной ошибки к истинному значению измеряемой величины называют относительной ошибкой ($A_{отн.}$), которую обычно выражают в процентах.

$$A_{отн} = \frac{A \cdot 100}{D}$$

Возникающая при количественном анализе ошибка обуславливается не только неточностью конечного измерения. Результат анализа зависит как от точности конечного измерения, так и от результатов всех предшествующих операций (взвешивания, отмеривания объёмов и т. д.). Общая ошибка является суммой независимых малых ошибок, порождаемых различными причинами.

Ошибки по происхождению подразделяют на **систематические, случайные и промахи.**

Систематические ошибки обусловлены факторами, действующими постоянно при повторении одних и тех же измерений. Систематические ошибки могут появляться при работе на не поверенных весах, с некалиброванными колбами, пипетками, при использовании растворов определяемых веществ и реактивов, хранящихся в незакрытых сосудах, а также по неопытности и невнимательности аналитика.

К числу систематических погрешностей относятся погрешности, которые могут появляться за счет неисправных фотоэлементов, усилительной схемы спектрофотометра, присутствия рассеянного излучения, неправильной калибровки шкалы длин волн и оптической плотности (пропускания), большого значения спектральной ширины щели. Большая ширина щели может быть одной из главных причин систематических искажений спектрофотометрических измерений.

Систематические ошибки уменьшают правильность анализа. Чем меньше отклонение отдельного результата определения или его среднего значения от истинного содержания вещества в пробе, тем больше точность анализа.

Правильность анализа оценивается при помощи стандартных образцов или эталонов.

Стандартный образец (СО) – это образец с установленными в процессе метрологической аттестации значениями одной или более физических величин, характеризующих свойства или состав данного вещества или материала. СО играют роль меры свойства или состава конкретного вещества и вносятся в Государственный реестр СО.

Случайные ошибки отличаются друг от друга в отдельных измерениях, и эти различия имеют случайную, неизвестную величину. Она различна даже для измерений, выполненных одинаковым образом.

Случайные ошибки обусловлены рядом причин, которые нельзя учесть при измерениях. Они проявляются в отклонении результатов то в одну, то в другую сторону от средней величины нескольких измерений. Случайные ошибки могут появиться при взятии на анализ неоднородной средней пробы навески гигроскопических веществ, при изменении температуры во время опыта, при потере вещества в ходе анализа, при

попадании в растворы примесей из реактивов, посуды и т. д. Случайные ошибки понижают **воспроизводимость** анализа. Воспроизводимость анализа характеризуется отклонением полученного результата от среднего значения определяемых величин и определяется методами математической статистики.

Случайные погрешности, обуславливающие воспроизводимость результатов фотометрических определений, вызваны следующими причинами: погрешностями при приготовлении анализируемых растворов; полнотой переведения определяемого компонента в фотометрируемое соединение; влиянием посторонних компонентов; погрешностями контрольного опыта; кюветной погрешностью, которая связана с различиями в толщине кювет и состоянием их рабочих граней, а также воспроизводимостью их положения в кюветодержателе; погрешностями установки нужной длины волны и настройки регистрирующей системы на 0 и 100 % пропускания; нестабильностью работы источника освещения и приемно-усилительной системы.

Надёжность спектрофотометрических измерений обеспечивается периодической калибровкой прибора. Калибровке подлежат шкалы длин волн и оптической плотности (пропускания).

Учитывая, что фото- и спектрофотометрические исследования лекарственных средств проводят в основном в растворах, точность результатов анализа зависит от свойств растворителей, которые должны отвечать ряду требований:

- 1) Обладать достаточной растворяющей способностью по отношению к лекарственным средствам.
- 2) Не должны поглощать свет в той же области спектра, что и растворённое вещество.
- 3) Обладать устойчивостью к излучению используемой длины волн.
- 4) Не должны флуоресцировать.
- 5) Должны обладать оптическим постоянством.
- 6) Не должны вступать в реакции с анализируемым веществом и материалом кювет.

При характеристике **точности** метода следует учитывать **правильность** его, зависящую от систематических ошибок, и **воспроизводимость**, зависящую от случайных ошибок.

Промахи – это грубые погрешности, допущенные из-за небрежности или заведомой некомпетентности аналитика. Для обнаружения и устранения промахов рекомендуется проводить контрольные измерения. Все результаты измерений, которые являются промахами (например, отклоняются от среднего арифметического больше, чем на 3σ), не принимаются в расчет при дальнейшей статистической обработке результатов анализа, т.е. при анализах промахи должны полностью исключаться. Существуют и другие критерии промахов.

Не все значения оптической плотности (D) и пропускания (T) можно измерить с одинаковой точностью. Существует оптимальный диапазон

измерения светопоглощения. Его выбирают с таким расчетом, чтобы во всём рабочем интервале D и T относительная погрешность измерения D не превышала его удвоенной минимальной относительной погрешности:

$$S_D/D \leq 2 (S_D/D_{\min}),$$

где S_D – стандартное отклонение результатов измерений D .

$$D_{\min} = \frac{1}{\ln 10} = 0,4343$$

При работе на приборах с менее монохроматичным излучением, чем на спектрофотометрах (например на фотоэлектроколориметрах), диапазон сужается до 0,1-0,7. При измерении очень низких или очень высоких значений D (T) погрешность резко возрастает.

Этот недостаток можно устранить с помощью дифференциальных методов спектрофотометрии.

Селективность. Важнейшими факторами, ограничивающими селективность в спектрофотометрии, являются спектральная ширина полос поглощения в растворах (достигающая десятков нанометров) и связанная с этим вероятность спектральных помех – перекрывание спектров компонентов, появление аддитивных систематических погрешностей.

Спектрофотометрические методы являются в большинстве случаев спектрально неселективными, поэтому селективность обеспечивают, главным образом, на стадии пробоподготовки – выбором реагента, селективно взаимодействующего с определяемым веществом с образованием окрашенного продукта, а также условий определения (варьирования рН, маскирование), разделением компонентов.

ВОПРОСЫ ДЛЯ САМОПОДГОТОВКИ

1. Какие интервалы длин волн используются в спектрофотометрии в УФ-, видимой, ИК-областях ?
2. Энергетические характеристики электромагнитного излучения.
3. Механизм возникновения спектров поглощения в УФ-, видимой областях спектра.
4. Основные законы поглощения электромагнитного излучения. Закон Бугера-Ламберта-Бера, закон аддитивности поглощения.
5. Физический смысл понятий: оптическая плотность раствора, пропускание или прозрачность раствора, удельный коэффициент поглощения ($E_{1\text{см}}^{1\%}$), молярный коэффициент поглощения (ϵ).
6. Причины отклонения бесцветных и окрашенных растворов от закона Бугера-Ламберта-Бера.
7. Получение окрашенных соединений и использование их в количественном фотометрическом анализе.
8. Принципиальная схема спектрофотометра СФ-46.
9. Принципиальная схема фотоэлектроколориметров КФК-2, КФК-3.
10. Охарактеризуйте источники излучения, используемые в современных спектрофотометрах, фотоэлектроколориметрах. Что представляют собой монохроматоры в указанных приборах ?
11. Какие приёмники используют при регистрации УФ-, видимого излучения ?
12. Каким образом готовят образцы твердых веществ для снятия спектров в УФ-, видимой областях ?
13. Методики работы на фотоэлектроколориметрах КФК-2, КФК-3, спектрофотометре СФ-46.
14. Какую информацию получают при интерпретации спектров в УФ-, видимой областях спектра:
 - а) известного вещества;
 - б) неизвестного вещества?
15. Методы количественного спектрофотометрического и фотометрического анализов субстанций, различных лекарственных форм:
 - а) метод сравнения (использование ГСО или РСО);
 - б) метод градуировочного графика;
 - в) определение концентраций по величине $E_{1\text{см}}^{1\%}$.
16. Перечислить преимущества и недостатки спектрофотометрии в УФ- и видимой областях спектра.

ЛАБОРАТОРНЫЕ РАБОТЫ

ЗАДАНИЯ ДЛЯ СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОГО АНАЛИЗА

РАБОТА 1. СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПОДЛИННОСТИ И КОЛИЧЕСТВЕННОГО СОДЕРЖАНИЯ СУЛЬФАЦИЛ-НАТРИЯ

ЦЕЛЬ РАБОТЫ:

1. Освоить технику измерения оптической плотности (светопропускания) на спектрофотометрах различных марок (СФ-46, СФ-56 и др.).
2. Приготовить растворы анализируемого и стандартного (ГСО) образцов сульфацил-натрия.
3. Снять спектры приготовленных растворов и определить длины волн максимального и минимального поглощения.
4. Приготовить серию стандартных растворов сульфацил-натрия, определить их оптические плотности и построить градуировочный график.
5. Доказать линейность зависимости $D = f(c)$ в анализируемой области концентраций, рассчитать среднее значение удельного показателя поглощения ($E_{1\text{см}}^{1\%}$).
6. Определить количественное содержание сульфацил-натрия, используя:
 - а) градуировочный график;
 - б) величину оптической плотности стандартного раствора, близкую к величине анализируемого раствора (см. градуировочный график);
 - в) численное значение удельного показателя поглощения ($E_{1\text{см}}^{1\%}$).
7. Написать отчет.

ВЫПОЛНЕНИЕ РАБОТЫ: Около 0,1 г (точная масса) анализируемого лекарственного вещества (сульфацил-натрия) помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в 50 мл воды и доводят объём до метки тем же растворителем, перемешивают (раствор А). 1 мл раствора А помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят раствор водой до метки и перемешивают (раствор Б). Снимают УФ-спектры полученного раствора и раствора Государственного стандартного образца сульфацил-натрия в интервале длин волн от 220 до 340 нм.

Приготовление раствора стандартного образца (ГСО) сульфацил-натрия. 0,1 г (точная навеска) сульфацил-натрия помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в 50 мл воды и доводят объём до метки тем же растворителем, перемешивают (раствор А). 1 мл раствора А стандартного образца содержит 0,0010 г сульфацил-натрия.

Построение градуировочного графика. Приготовить в мерных колбах вместимостью 100 мл серию стандартных растворов, состоящих из

0,3; 0,5; 0,7; 1; 1,3 мл 0,1 % раствора стандартного образца сульфацил-натрия и доведенных до метки водой.

Оптическую плотность полученных стандартных растворов измеряют на спектрофотометре при длине волны 261 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм.

В качестве раствора сравнения используют воду.

По результатам измерений построить градуировочный график, рассчитать среднее значение удельного показателя поглощения ($E_{1\text{см}}^{1\%}$).

Для исследуемого раствора рассчитать концентрацию сульфацил-натрия (X) в % тремя способами, используя следующие формулы:

$$1. X = \frac{D_1 \cdot C_0 \cdot 100 \cdot 100 \cdot 100\%}{D_0 \cdot a_1} ;$$

$$2. X = \frac{D_1 \cdot a_0 \cdot 100 \cdot 100 \cdot 100\%}{D_0 \cdot 100 \cdot 100 \cdot a_1} = \frac{D_1 \cdot a_0 \cdot 100\%}{D_0 \cdot a_1} ;$$

$$3. X = \frac{D_1 \cdot 100 \cdot 100 \cdot 100\%}{E_{\text{см}}^{\%} \cdot a_1 \cdot 100} = \frac{D_1 \cdot 100 \cdot 100\%}{E_{\text{см}}^{\%} \cdot a_1} ,$$

где D_1 и D_0 – оптические плотности исследуемого раствора и ГСО сульфацил-натрия;

a_1 и a_0 – точные массы исследуемого и ГСО сульфацил-натрия, г;

100 – разведение, мл;

C_0 – количество г ГСО в 1 мл раствора Б;

$E_{1\text{см}}^{1\%}$ – удельный показатель поглощения раствора сульфацил-натрия при длине волны 261 нм.

РАБОТА 2. СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПОДЛИННОСТИ, ИСТОТЫ КОЛИЧЕСТВЕННОГО СОДЕРЖАНИЯ ЦИАНОКОБАЛАМИНА В РАСТВОРЕ ВИТАМИНА В₁₂ ДЛЯ ИНЪЕКЦИЙ (см. ФС 42-3604-98, приложение 3)

ЦЕЛЬ РАБОТЫ:

1. Освоить методики спектрофотометрического определения подлинности, чистоты, количественного содержания цианокобаламина в УФ- и видимой областях спектра.
2. Приготовить растворы анализируемого и стандартного образцов (РСО) цианокобаламина, согласно ФС 42-3604-98, ФС 42-2111-96, снять их электронные спектры в области длин волн от 210 до 800 нм и определить длины волн максимального поглощения (подлинность), аналогично рис. 14.
3. Определить поглощающие примеси, используя величины оптических плотностей при длинах волн 278, 361, 548 нм.
4. Определить количественное содержание цианокобаламина.
5. Написать отчёт и оформить протокол анализа по предложенной форме (см. Приложение 3).

РАБОТА 3. СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПОДЛИННОСТИ, КОЛИЧЕСТВЕННОГО СОДЕРЖАНИЯ ЛЕВОМИЦЕТИНА В ТАБЛЕТКАХ: ЛЕВОМИЦЕТИНА (ФС 42-2786-91) 1,25 г или 0,5 г; ВСПОМОГАТЕЛЬНЫХ ВЕЩЕСТВ ДО 0,275 г или 0,550 г (ФС 42-3679-98, приложение 4)

ЦЕЛЬ РАБОТЫ:

1. Освоить методики спектрофотометрического определения подлинности, количественного содержания левомецетина, теста «Растворение».
2. Приготовить растворы анализируемого и стандартного образцов (РСО) левомецетина, согласно ФС 42-3679-98 и ФС 42-2786-91, снять их электронные спектры в области длин волн от 230 до 350 нм и определить длину волны максимального поглощения.
3. По тесту «Растворение» определить содержание левомецетина, перешедшего в раствор.
4. Определить количественное содержание левомецетина.
5. Написать отчёт и оформить протокол анализа по предложенной форме.

ЗАДАНИЯ ДЛЯ ФОТОЭЛЕКТРОКОЛОРИМЕТРИЧЕСКОГО АНАЛИЗА

РАБОТА 1. ФОТОЭЛЕКТРОКОЛОРИМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ ТИМОЛА НА ОСНОВЕ РЕАКЦИИ НИТРОЗИРОВАНИЯ

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Освоить количественное определение фенолов (на примере тимола) на основе реакции Либермана методом фотоэлектроколориметрии.

ЗАДАЧИ РАБОТЫ

1. Приготовить исследуемый раствор и серию стандартных растворов тимола, провести с ними реакцию образования 4-нитрозотимола.
2. Подобрать, используя один из стандартных растворов, подходящий светофильтр.
3. Определить величины оптических плотностей всех стандартных растворов при выбранном светофильтре.
4. Построить градуировочный график, определить область концентраций, подчиняющуюся закону Бугера-Ламберта-Бера, рассчитать $E_{1\text{см}}^{1\%}$.
5. Определить количественное содержание тимола в предложенном образце, используя:
 - а) градуировочный график;
 - б) значение $E_{1\text{см}}^{1\%}$;
 - в) величину оптической плотности раствора Государственного стандартного образца (ГСО) тимола.
В качестве раствора ГСО тимола следует взять раствор из серии стандартных растворов, ближе расположенный к исследуемому по величине оптической плотности (см. градуировочный график).
6. Написать отчет.

ВЫПОЛНЕНИЕ РАБОТЫ

Метод основан на способности тимола при взаимодействии с натрия нитритом в кислой среде образовывать 4-нитрозотимол, который в щелочной среде образует окрашенное в лимонно-желтый цвет соединение.

Около 0,0500 г (точная навеска) тимола помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, растворяют в 2 мл этанола и полученный раствор доводят водой до метки (раствор А). 0,5 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 0,5 мл 10 % раствора кислоты уксусной, 0,5 мл 1 % раствора натрия нитрита. Через 30 мин прибавляют 4 мл 10 % раствора натрия гидроксида и доводят раствор до метки очищенной водой. Измеряют оптическую плотность полученного раствора на фотоэлектроколориметре при подобранном светофильтре (410

нм) в кювете с толщиной слоя 20 мм. В качестве контрольного раствора используют очищенную воду.

Параллельно проводят измерения серии стандартных растворов.

Построение градуировочного графика. Приготовить в мерных колбах вместимостью 100 мл серию растворов, состоящих из 0,1; 0,3; 0,5; 0,8; 1,0 мл 0,5 % раствора стандартного образца тимола и таких же реактивов (в том же количестве), которые добавлены к исследуемому раствору.

Оптическую плотность полученных стандартных растворов измерить в кювете с толщиной слоя 20 мм при том же светофильтре, что и в случае исследуемого раствора. По результатам измерений построить градуировочный график, рассчитать среднее значение удельного показателя поглощения ($E_{1\text{см}}^{1\%}$).

Для исследуемого раствора рассчитать концентрацию тимола (X) в % тремя способами, используя следующие формулы:

$$1. X = \frac{D_1 \cdot a_0 \cdot 100 \cdot 100 \cdot 0,5 \cdot 100\%}{D_0 \cdot a_1 \cdot 0,5 \cdot 100 \cdot 100} = \frac{D_1 \cdot a_0 \cdot 100\%}{D_0 \cdot a_1} ;$$

$$2. X = \frac{D_1 \cdot C_0 \cdot 100 \cdot 100 \cdot 100\%}{D_0 \cdot a_1 \cdot 0,5} ;$$

$$3. X = \frac{D_1 \cdot 100 \cdot 100 \cdot 100\%}{E_{\text{см}}^{\%} \cdot a_1 \cdot 0,5 \cdot l \cdot 100} = \frac{D_1 \cdot 100 \cdot 100\%}{E_{\text{см}}^{\%} \cdot a_1 \cdot 0,5 \cdot l} ,$$

где D_1 и D_0 – оптические плотности исследуемого раствора и ГСО тимола;

a_1 и a_2 – точные массы исследуемого и ГСО тимола, г;

0,5, 100, 100 – разведение, мл;

C_0 – количество г ГСО в 1 мл раствора;

$E_{1\text{см}}^{1\%}$ – удельный показатель поглощения тимола;

l – толщина поглощающего слоя, см.

РАБОТА 2. ФОТОЭЛЕКТРОКОЛОРИМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ НОВОКАИНА НА ОСНОВЕ ГИДРОКСАМОВОЙ РЕАКЦИИ (с гидроксиламина гидрохлоридом и железа (III) хлоридом)

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Освоить количественное определение сложных эфиров на примере новокаина на основе гидроксамовой реакции фотоэлектроколориметрическим методом.

ЗАДАЧИ РАБОТЫ

1. Приготовить исследуемый раствор и серию стандартных растворов новокаина, провести с ними реакцию образования гидроксаматов железа.
2. Подобрать, используя подходящий светофильтр, один из стандартных растворов.
3. Определить величины оптических плотностей всех стандартных растворов при выбранном светофильтре.
4. Построить градуировочный график, определить область концентраций, подчиняющуюся закону Бугера-Ламберта-Бера, рассчитать среднее значение удельного показателя поглощения ($E_{1\text{см}}^{1\%}$).
5. Определить количественное содержание новокаина в предложенном образце, используя:
 - а) градуировочный график;
 - б) значение $E_{1\text{см}}^{1\%}$;
 - в) величину оптической плотности раствора Государственного стандартного образца (ГСО) новокаина (см. градуировочный график).
6. Написать отчет.

ВЫПОЛНЕНИЕ РАБОТЫ

Метод основан на способности новокаина давать гидроксаматы железа (реакция на сложноэфирную группу).

Около 0,0500-0,0900 г (точная навеска) новокаина помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, добавляют 50 мл воды, перемешивают до растворения, полученный раствор доводят водой до метки и снова перемешивают (раствор А).

1 мл полученного раствора помещают в пробирку, прибавляют 0,4 мл щелочного раствора гидроксиламина. Жидкость взбалтывают и оставляют на 10-15 мин. Затем прибавляют 0,3 мл раствора хлористо-водородной кислоты, 0,5 мл раствора железа (III) хлорида и 13,8 мл воды. Измеряют оптическую плотность полученного раствора красного цвета на

фотоэлектроколориметре с зелёным светофильтром (λ_{\max} 530 нм) в кювете с толщиной слоя 20 мм.

Раствор сравнения: 0,4 мл щелочного раствора гидроксиламина гидрохлорида, 0,3 мл раствора хлористо-водородной кислоты, 0,5 мл раствора железа (III) хлорида и 14,8 мл воды.

РЕАКТИВЫ:

1. Свежеприготовленный щелочной раствор гидроксиламина. Смешивают 1 объём 13,9 % раствора гидроксиламина гидрохлорида и 2 объёма 12 % раствора натрия гидроксида.
2. 14 % раствор кислоты хлористо-водородной.
3. 10 % раствор железа (III) хлорида в 0,1 моль/л кислоты хлористо-водородной.

Стандартный раствор (ГСО). 1 мл стандартного раствора содержит 0,0010 г новокаина (0,1% раствор).

Построение градуировочного графика. В пробирки вносят по 0,5; 0,6; 0,7; 0,8; 0,9 мл стандартного раствора новокаина. Во все пробирки прибавляют по 1 мл воды, а затем по 0,4 мл щелочного раствора гидроксиламина и поступают, как указано выше.

РАБОТА 3. ФОТОЭЛЕКТРОКОЛОРИМЕТРИЧЕСКОЕ ОПРЕДЕЛЕНИЕ СУЛЬФАЦИЛ-НАТРИЯ ПО РЕАКЦИИ ОБРАЗОВАНИЯ СОЛЕЙ ОСНОВАНИЙ ШИФФА

ЦЕЛЬ РАБОТЫ

Освоить количественное определение препаратов группы первичных ароматических аминов (на примере сульфацил-натрия) по реакции образования солей основания Шиффа.

ЗАДАЧИ РАБОТЫ:

1. Приготовить исследуемый раствор и серию стандартных растворов (ГСО) сульфацил-натрия, провести с ними реакцию образования соли основания Шиффа.
2. Подобрать, используя один из стандартных растворов, подходящий светофильтр.
3. Определить величины оптических плотностей всех стандартных растворов при выбранном светофильтре.
4. Построить градуировочный график, определить область концентраций, подчиняющуюся закону Бугера-Ламберта-Бера, рассчитать $E_{1\text{см}}^{1\%}$.
5. Определить количественное содержание сульфацил-натрия в предложенном образце, используя:
 - а) градуировочный график;
 - б) значение $E_{1\text{см}}^{1\%}$;
 - в) величину оптической плотности раствора Государственного стандартного образца (ГСО) сульфацил-натрия.
6. Написать отчёт.

ВЫПОЛНЕНИЕ РАБОТЫ

Метод основан на способности сульфацил-натрия при взаимодействии с ванилином в присутствии кислоты хлористоводородной давать соль основания Шиффа, которая вызывает окраску раствора.

Около 0,1500-0,7500 г (точная навеска) исследуемого образца сульфацил-натрия помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, добавляют 50 мл воды, перемешивают до растворения, полученный раствор доводят водой до метки и снова перемешивают (раствор А).

В колбу вносят 3,5 мл раствора А, прибавляют 1 мл спиртового раствора ванилина и воду до 10 мл. Через 5 мин определяют оптическую плотность окрашенного раствора на фотоэлектрocolориметре при подобранном (синий) светофильтре, в кювете с толщиной слоя 20 мм.

Раствором сравнения служит смесь, состоящая из 1 мл раствора ванилина, 3,5 мл раствора кислоты хлористоводородной и 5,5 мл воды.

РЕАКТИВЫ:

1. 2,5 % раствор ванилина в спирте;
2. 10 % раствор кислоты хлористоводородной.

Стандартный раствор (ГСО). 1 мл стандартного раствора содержит 0,0100 г сульфацил-натрия (1% раствор), растворённого в 10% растворе кислоты хлористоводородной.

Построение градуировочного графика. В колбы вносят по 0,5; 1,0; 2,0; 3,0; 3,5 мл стандартного раствора сульфацил-натрия. В первые 4 колбы прибавляют раствор кислоты хлористоводородной до 3,5 мл, затем в каждую колбу вносят по 1 мл раствора ванилина и поступают, как указано выше.

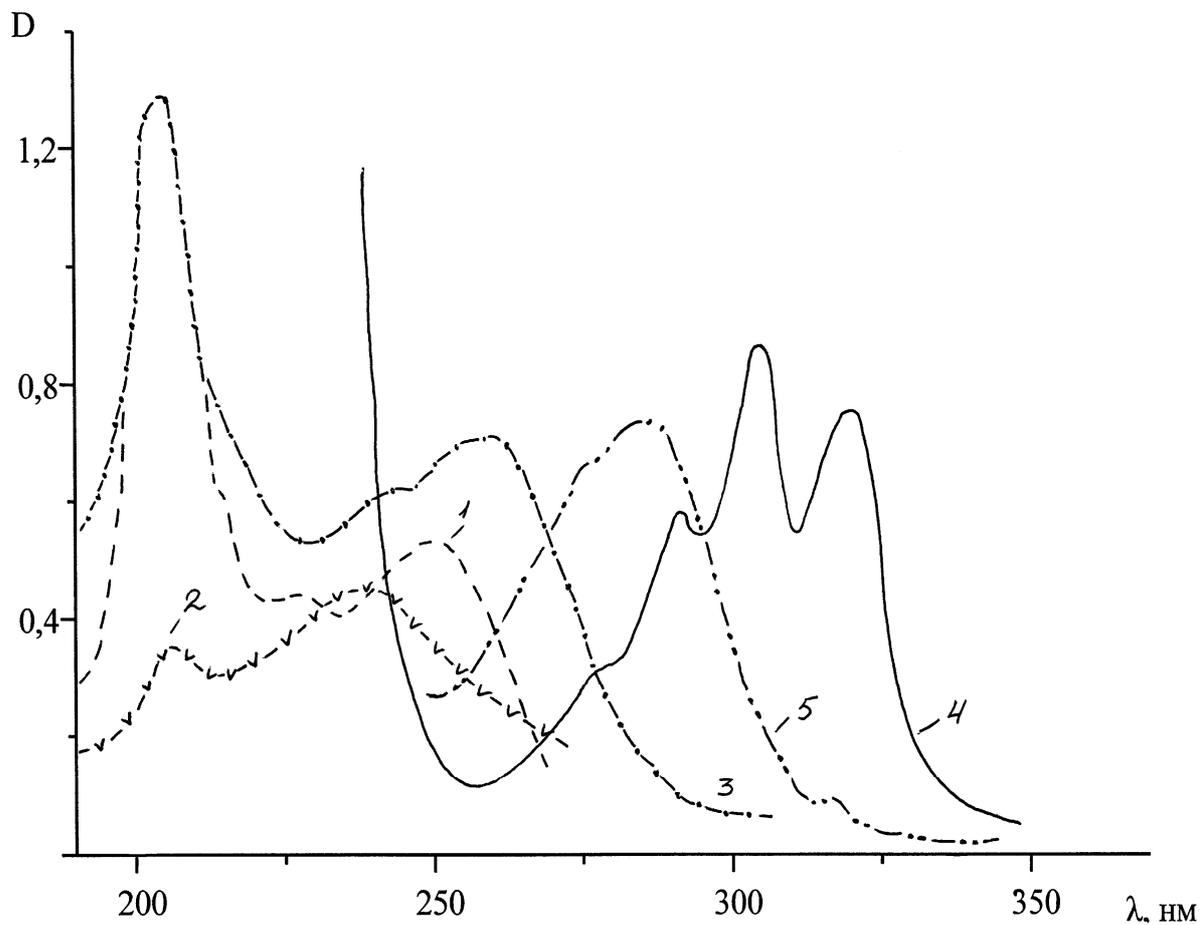


Рис. 14. **УФ-спектры:**

- 1 – циннаризин 0,025 г, таблетки, с $1 \cdot 10^{-3} \%$, этанол;
- 2 – дексаметазон 0,0005 г, таблетки, с $1 \cdot 10^{-3} \%$, метанол;
- 3 – баралгин, раствор для инъекций, с $1 \cdot 10^{-3} \%$, вода;
- 4 – нистатин 500 000 ЕД, таблетки, с $1 \cdot 10^{-3} \%$, этанол;
- 5 – диазолин 0,1 г, драже, таблетки, с $1 \cdot 10^{-3} \%$, вода.

**ТЕСТ «РАСТВОРЕНИЕ» И ИСПЫТАНИЕ НА ОДНОРОДНОСТЬ
ДОЗИРОВАНИЯ ТАБЛЕТОК АНАПРИЛИНА
0,01 г и 0,04 г (ФС 42-1549-98)**

Растворение. Проводят в соответствии с ГФ XI изд. (вып.2, с.154) на приборе «Вращающаяся корзинка».

Среда растворения – 0,1 М раствор кислоты хлористоводородной, объем среды – 900 мл, скорость вращения «корзинки» – 100 об/мин, время проведения испытания – 30 мин.

В «корзинку» помещают 4 таблетки по 0,01 г или 1 таблетку по 0,04 г. Через 30 мин полученный раствор охлаждают и фильтруют через фильтр «Миллипор», отбрасывая первые 10 мл фильтрата. Измеряют оптическую плотность раствора на спектрофотометре при длине волны 290 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм.

Параллельно определяют оптическую плотность раствора стандартного образца анаприлина при той же длине волны.

В качестве раствора сравнения используют 0,1 М раствор кислоты хлористоводородной.

Количество анаприлина, перешедшее в раствор в процентах (X), рассчитывают по формуле:

$$X = \frac{D_1 \cdot 900 \cdot a_0 \cdot 1}{D_0 \cdot v \cdot 50 \cdot 100 \cdot c} \cdot 100 = \frac{D_1 \cdot a_0 \cdot 4,5}{D_0} \cdot 100 ,$$

где D_1 – оптическая плотность раствора исследуемого образца;

D_0 – оптическая плотность раствора стандартного образца;

a_0 – навеска стандартного образца анаприлина, г;

v – содержание анаприлина в таблетке, г;

c – количество таблеток анаприлина, взятых на анализ.

Количество анаприлина, перешедшее в раствор через 30 мин, должно быть не менее 75%.

Примечание. Приготовление раствора стандартного образца анаприлина. 0,200 г (точная навеска) анаприлина (ФС 42-2021-83 или рег. номер П-8-242 № 00157) помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в 30 мл 0,1 М раствора кислоты хлористоводородной, доводят объем раствора до метки 0,1 М раствором кислоты хлористоводородной (Раствор А).

Срок годности раствора – 14 суток.

1 мл раствора А переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем до метки 0,1 М раствором кислоты хлористоводородной, перемешивают.

Раствор используют свежеприготовленным.

Однородность дозирования. Выдерживают требования ГФ XI изд. (вып.2, с.154). От подлежащей испытанию партии отбирают пробу в количестве 30 таблеток. В каждой из 10 таблеток определяют содержание лекарственного вещества.

Одну таблетку помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, добавляют 5 мл 0,1 М раствора кислоты хлористоводородной и изредка встряхивают до полной распадаемости таблетки. Прибавляют 70 мл спирта метилового, встряхивают 10 мин, доводят объем до метки спиртом метиловым, перемешивают, фильтруют. 20 или 5 мл фильтрата, соответственно дозировкам 0,01 и 0,04 г анаприлина, помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводят объем до метки спиртом метиловым. Измеряют оптическую плотность исследуемого раствора на спектрофотометре при длине волны 290 нм, в кювете с толщиной слоя 10 мм.

Параллельно определяют оптическую плотность раствора стандартного образца анаприлина при той же длине волны. Приготовление раствора стандартного образца анаприлина описано в разделе «Количественное определение».

В качестве раствора сравнения используют спирт метиловый.

Содержание анаприлина в одной таблетке в граммах определяют по формуле:

$$X = \frac{D_1 \cdot a_0 \cdot 10 \cdot 100 \cdot 100}{D_0 \cdot 250 \cdot 100 \cdot v} ,$$

где D_1 – оптическая плотность раствора исследуемого образца анаприлина;

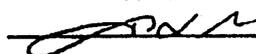
D_0 – оптическая плотность раствора стандартного образца анаприлина;

a_0 – навеска анаприлина, взятая для приготовления стандартного образца анаприлина, г;

v – количество фильтрата, взятое на анализ, мл.

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
ФАРМАКОПЕЙНЫЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ КОМИТЕТ

УТВЕРЖДАЮ
 Начальник Управления Государственного
 контроля лекарственных средств
 и медицинской техники

 Р.У. Хабриев

ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ

Solutio Cyanocobalaminī pro injectionibus	ФС 42- -3 6 0 4 - 9 8
Раствор цианокобаламина для инъекций	Взамен ГФ X, ст.193
Solutio Vitamini B ₁₂ pro injectionibus	
Раствор витамина B ₁₂ для инъекций	

Срок введения установлен
 с " 05" 11 199 8 г.
 Срок действия
 до " 05" 11 200 3 г.

Настоящая фармакопейная статья распространяется на раствор цианокобаламина (витамина B₁₂)- {Со α-[α- (5,6- диметилбензимидазолил)]-Со β-цианокобамид} для инъекций, применяемый в качестве лекарственного средства.

ИЗДАНИЕ ОФИЦИАЛЬНОЕ

ПЕРЕПЕЧАТКА ВОСПРЕЩЕНА

Состав.

Цианокобаламина - 30 мг, 100 мг, 200 мг и 500 мг
(ФС 42-2518-94)

Раствора натрия хлорида - до 1 л
изотонического 0,9 %

Состав раствора натрия хлорида изотонического 0,9 %.

Натрия хлорида - 9,0 г
(ФС 42-2572-95)

Воды для инъекций - до 1 л
(ФС 42-2620-97)

Описание. Прозрачная жидкость от слабо-розового до ярко-красного цвета.

Подлинность. Ультрафиолетовый и видимый спектры 0,002% раствора препарата, приготовленного для количественного определения, в области от 250 до 600 нм должен быть идентичен спектру РСО цианокобаламина. Максимумы поглощения при (278 ± 2) нм, (361 ± 2) нм и (550 ± 2) нм.

5 мл препарата, упаренные до 1 мл, дают характерную реакцию на натрий (ГФ XI, вып. 1, с. 159).

2 мл препарата дают характерную реакцию на хлориды (ГФ XI, вып. 1, с. 159).

Прозрачность. Препарат должен быть прозрачным (ГФ XI, вып. 1, с. 198).

pH. От 6,0 до 9,0 (потенциометрически; (ГФ XI, вып. 1, с. 113).

Посторонние примеси. Измеряют оптическую плотность (D) раствора препарата, приготовленного для количественного определения, в кювете с толщиной слоя 10 мм в максимумах поглощения при длинах волн (278 ± 2) нм, (361 ± 2) нм и (550 ± 2) нм.

Отношение $\frac{D_{361}}{D_{550}}$ должно быть от 3,15 до 3,40;

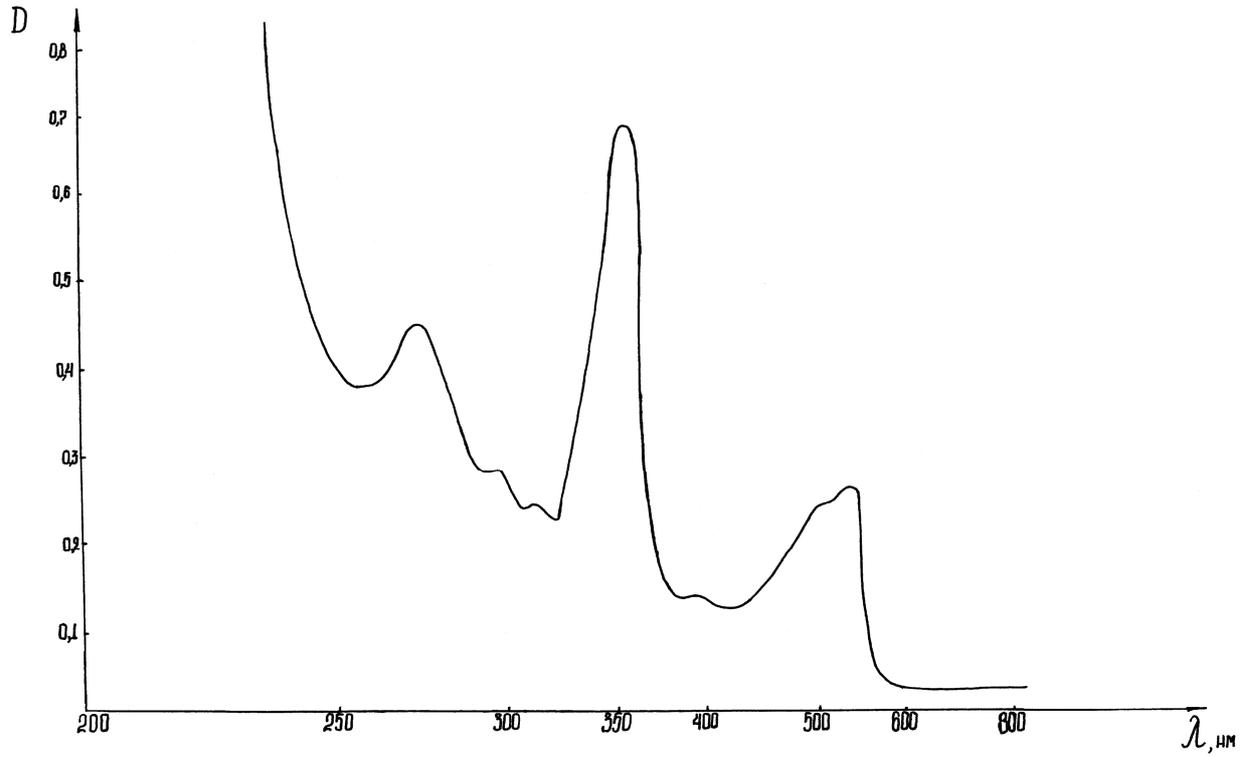


Рис. 15. Электронный спектр 0,002 % водного раствора цианокобаламина

- 3 6 0 4 - 9 8
ФС 42- _____ с. 3

Отношение $\frac{D_{361}}{D_{278}}$ должно быть от 1,70 до 1,88;

Определение номинального объема. Препарат должен выдерживать требования, указанные в ГФ XI, вып. 2, с. 140.

Механические включения. Препарат должен выдерживать требования, указанные во «Временной инструкции по контролю инъекционных растворов на механические включения» И 42-3-85.

Пирогенность. Препарат должен быть апирогенен. Тест-доза - 1,0 мл /кг массы животного (ГФ XI, вып.2, с.183).

Стерильность. Препарат должен быть стерильным. Определение проводят в соответствии с требованиями ГФ XI, вып. 2, с. 187, как для препаратов, не обладающих антимикробным действием.

Количественное определение. 10 мл, 5 мл и 2 мл препарата, соответственно дозировкам ^{30 мл} 100 мкг, 200 мкг и 500 мкг, помещают в мерные колбы вместимостью 50 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

Измеряют оптическую плотность полученного раствора на спектрофотометре в максимуме поглощения при длине волны 361 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм.

Параллельно измеряют оптическую плотность раствора Государственного стандартного образца (ГСО) цианокобаламина.

В качестве раствора сравнения используют воду.

Содержание цианокобаламина в 1 мл препарата в микрограммах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{D_1 \cdot a_0 \cdot 2 \cdot 50}{D_0 \cdot 100 \cdot 50 \cdot V} = \frac{D_1 \cdot a_0}{D_0 \cdot 50 \cdot V},$$

где D_1 - оптическая плотность испытуемого раствора;

D_0 - оптическая плотность раствора ГСО цианокобаламина;

a_0 - навеска ГСО цианокобаламина (в пересчете на 100 % вещество) в граммах;

V - объем препарата, взятый на анализ, в миллилитрах.

Содержание $C_{63}H_{88}CoN_{14}O_{14}P$ (цианокобаламина) в 1 мл препарата соответственно должно быть от 0,027 до 0,033 мкг, от 90 до 110 мкг, от 180 до 220 мкг и от 450 до 550 мкг.

Примечание. Приготовление раствора ГСО цианокобаламина. Около 0,05 г (точная навеска) ГСО цианокобаламина (ФС 42-2III-96) помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 80 мл воды, взбалтывают 10 мин, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают (раствор А).

2 мл полученного раствора переносят в мерную колбу вместимостью 50 мл, доводят объем раствора водой до метки и перемешивают.

Раствор А годен в течение месяца при хранении в защищенном от света месте.

Упаковка. По 1 мл в ампулы по ОСТ 64-2-485-85 из нейтрального стекла марки НС-3 или НС-1 по ГОСТ 19808-86.

На каждую ампулу наклеивают этикетку из бумаги писчей по ГОСТ 18510-87 или бумаги этикеточной по ГОСТ 7625-86, или самоклеющиеся этикетки или текст этикетки наносят непосредственно на ампулу быстрозакрепляющейся краской для глубокой печати по ТУ 67-7-88-86.

По 10 ампул в коробки картонные по ОСТ 64-071-89 из картона для потребительской тары по ГОСТ 7933-89 или по 5 или 10 ампул в контурную ячейковую упаковку по ОСТ 64-074-91 из пленки поливинилхлоридной по ГОСТ 25250-88 и фольги алюминиевой печатной лакированной по ТУ 48-21-270-94 или бумаги упаковочной с полимерным покрытием по ТУ 5434-003-003340-95 или ТУ 13-0248643-833-91.

В каждую коробку, пачку или контурную упаковку вкладывают нож ампульный по ТУ 400-6-169-85 или скарификатор ампульный по ТУ 64-1-994-79. По 1, 2 контурные упаковки вместе с инструкцией по применению помещают в пачку из картона для потребительской тары по ГОСТ 7933-89.

Коробки оклеивают этикеткой-бандеролью из бумаги этикеточной по ГОСТ 7625-86 или писчей по ГОСТ 18510-87 или офсетной по ГОСТ 9094-89.

Допускается укладывать пачки в блок с последующим упаковыванием в термоусадочную пленку по ГОСТ 25951-83.

Допускается на пачку наклеивать самоклеющуюся этикетку.

Групповая упаковка и транспортная тара в соответствии с ГОСТ 17768-90.

Маркировка. На каждой ампуле или этикетке ампулы указывают название препарата на русском языке, концентрацию, объем препарата в миллилитрах и номер серии.

На этикетке, этикетке -бандероли, пачке и на фольге контурной упаковки указывают предприятие-изготовитель и его товарный знак, название препарата на латинском и русском языках, концентрацию, объем препарата в миллилитрах, количество ампул в коробке, «Стерильно», «Для инъекций», условия хранения, регистрационный номер, номер серии, срок годности, штрих-код.

- 3 6 0 4 - 9 8
ФС 42- _____ с. 6

Допускается отсутствие маркировки на фольге контурной упаковки.

Допускается наносить номер серии, срок годности на боковой стороне коробки.

Групповая упаковка и транспортная тара в соответствии с ГОСТ 17768-90.

Маркировка транспортной тары в соответствии с ГОСТ 14192-77.

Транспортирование. В соответствии с ГОСТ 17768-90.

Хранение. В защищенном от света месте.

Срок годности. 2 года.

Антианемическое средство.

Примечание. Реактивы и титрованные растворы, приведенные в настоящей фармакопейной статье, описаны в соответствующих разделах Государственной фармакопеи СССР XI издания, вып. 2.

Генеральный директор
АО "АЙ СИ ЭН Октябрь"



О. М. Кайшев
"24" 06 1998 г.

Председатель Фармакопейного
Государственного комитета



Академик МАИ
Ю. Ф. Крылов
"25" 08 1998 г.

Главный Ученый секретарь

докт. фарм. наук
В. Л. Багирова
"25" 08 1998 г.

**Контрольно-аналитическая лаборатория
Фармацевтического центра при СГМУ**

ПРОТОКОЛ АНАЛИЗА №3302 от 14.12.1907

Лекарственное средство Цианокобаламин 500 мкг/мл, 1 мл № 10

Серия 110907 Кол-во пробы 1 уп. Кол-во продукции 500 уп.

Изготовитель, страна «ICN Октябрь», Россия

Поставщик ЗАО «Вектор»

ГОДЕН до 10.2009 г.

Результаты анализа:

Наименование показателей качества по нормативному документу	Требование к качеству по нормативному документу	Результаты анализа
Описание	Прозрачная жидкость от слабо – розового до ярко – красного цвета	Прозрачная жидкость ярко – красного цвета
Подлинность	Согласно НТД	Соответствует
Прозрачность	Должен быть прозрачным	Прозрачный
Номинальный объём, мл	Не менее 1,0	1,1
РН	6,0-9,0	6,1
Посторонние примеси	D361/D550 должно быть от 3,15 до 3,40 D361/D278 должно быть от 1,70 до 1,88	3,26 1,72
Механические включения	Согласно РД 42-501-98	Соответствует
Пирогенность	Должен быть апирогенен	Апирогенен
Стерильность	Должен быть стерилен	Стерилен
Количественное содержание цианокобаламина, мкг/мл	450,0-550,0	496,3
Маркировка	Согласно НД	Соответствует
Упаковка	Согласно НД	Соответствует

Примечание: лаборатория несет ответственность за качество только представленного образца препарата

ЗАКЛЮЧЕНИЕ: исследуемый образец соответствует требованиям нормативного документа ФС 42-3604-98, по проверенным показателям качества

М.П.

Провизор-аналитик _____
Заведующий лабораторией _____

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ФАРМАКОПЕЙНЫЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ КОМИТЕТ

Утверждаю:

Руководитель Департамента Государственного
контроля качества, эффективности,
безопасности лекарственных средств и
медицинской техники

 Р. У. Хабриев

ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ

Tabulettae Levomycetini
0,25 aut 0,5

ФС 42-3679-93

Таблетки левомецетина
0,25 г и 0,5 г

Взамен ВФС 42-2482-95

Срок введения установлен
с « 09 » 03 199 9 г.

Срок действия
до « 09 » 03 200 4 г.

Настоящая фармакопейная статья распространяется на таблетки левомецетина (D - (-) - трео - 1 - п-Нитрофенил - 2 - дихлорацетиламинопропандиол - 1,3) 0,25 г и 0,5 г, применяемые в качестве лекарственного средства.

Состав.

Состав на одну таблетку.

Левомецетина
(ФС 42-2786-91) - 0,25 г или - 0,5 г

Вспомогательных веществ
(крахмала картофельного,
поливинилпирролидона
низкомолекулярного
медицинского,
кальция стеариновокислого) - до 0,275 г или - 0,550 г

ИЗДАНИЕ ОФИЦИАЛЬНОЕ

ПЕРЕПЕЧАТКА ВОСПРЕЩЕНА

Описание. Таблетки белого или белого со слабым желтоватым оттенком цвета. По внешнему виду должны соответствовать требованиям ГФ XI, вып. 2, с. 154.

Таблетки левомецетина 0,25 г и 0,5 г плоскоцилиндрической формы с фаской и риской. Геометрические размеры таблеток, согласно требованиям ОСТ 64-072-89, составляют:

$9,0 \pm 0,3$ мм и $12,0 \pm 0,3$ мм - диаметр

$3,0 \pm 0,4$ мм и $3,8 \pm 0,5$ мм - высота, для дозировок 0,25 г и 0,5 г, соответственно.

Подлинность. Ультрафиолетовый спектр раствора, приготовленного для количественного определения, в области от 230 до 350 нм имеет максимум поглощения при $278 \text{ нм} \pm 2 \text{ нм}$.

К 0,1 г порошка растертых таблеток прибавляют 5 мл натра едкого и нагревают; появляется желтое окрашивание, переходящее при дальнейшем нагревании в оранжевое. При кипячении этого раствора окраска усиливается, выделяется кирпично - красный осадок (левомецетин).

Полученный раствор с осадком охлаждают и фильтруют. Фильтрат после подкисления кислотой азотной дает характерную реакцию на хлориды (ГФ XI, вып. 1, с. 159).

Определение средней массы проводят по методике ГФ XI, вып. 2, с. 154. Средняя масса таблеток для дозировок 0,25 г и 0,5 г составляет 0,275 г и 0,550 г, соответственно. Отклонение средней массы для дозировки 0,25 г - от 0,271 до 0,279 г, для дозировки 0,5 г - от 0,542 до 0,558 г.

Прочность таблеток на истирание. Препарат выдерживает требования ГФ XI, вып. 2, с. 154.

Распадаемость. Определение проводят в соответствии с требованиями ГФ XI, вып. 2, с. 154, с использованием дисков.

Растворение. Испытания проводят в соответствии с требованиями ГФ XI, вып. 2, с. 154.

Среда - 0,1 М раствор кислоты хлористоводородной, объем - 900 мл, скорость вращения корзинки - 100 об/мин, время проведения испытания - 30 мин.

В корзинку помещают 1 таблетку. Через 30 мин раствор фильтруют, отбрасывая первые порции фильтрата, 6 мл фильтрата для таблеток с дозировкой 0,25 г или 3 мл фильтрата для таблеток с дозировкой 0,5 г переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводят объем раствора 0,1 М раствором кислоты хлористоводородной до метки. Измеряют оптическую плотность полученного раствора на спектрофотометре в максимуме поглощения при длине волны 278 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм.

Параллельно измеряют оптическую плотность раствора рабочего стандартного образца (РСО) левомецетина.

В качестве раствора сравнения используют 0,1 М раствор кислоты хлористоводородной.

Содержание левомецетина, перешедшее в раствор, в процентах (X) вычисляют по формулам:

для таблеток левомецетина 0,25 г:

$$X = \frac{D_1 \cdot a_0 \cdot 300 \cdot A}{D_0 \cdot a_1 \cdot 100}$$

для таблеток левомецетина 0,5 г:

$$X = \frac{D_1 \cdot a_0 \cdot 600 \cdot A}{D_0 \cdot a_1 \cdot 100}$$

где D_1 - оптическая плотность испытуемого раствора;

D_0 - оптическая плотность раствора РСО;

a_1 - содержание левомецетина, указанное на этикетке, г;

a_0 - навеска РСО левомецетина, г;

A - содержание левомецетина в РСО, %;

100 - коэффициент, учитывающий перевод % в г.

Через 30 мин в раствор должно перейти не менее 85,0 % левомицетина от количества, указанного на этикетке.

Примечание. Приготовление раствора РСО левомицетина. 2 мл раствора «А», приготовленного, как указано в разделе «Количественное определение», помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводят объем 0,1 М раствором кислоты хлористоводородной до метки (раствор Б).

Раствор Б должен быть свежеприготовленным.

Посторонние примеси. 0,22 г порошка растертых таблеток встряхивают с 10 мл спирта 95 % в течение 10 мин и фильтруют.

0,01 мл (200 мкг) полученного раствора наносят на линию старта пластинки «Силуфол» УФ₂₅₄ размером 7,5 x 15 см. Рядом в качестве свидетеля наносят 0,005 мл (1 мкг) 0,02 % раствора левомицетина в спирте 95 % (раствор А) и 0,01 мл (0,2 мкг) 0,002 % раствора левомицетина в спирте 95 % (раствор Б). Пластинку с нанесенными пробами сушат на воздухе в течение 5 мин. затем помещают в камеру со смесью растворителей хлороформ - спирт метиловый - вода (90 : 10 : 1) и хроматографируют восходящим методом. Когда фронт растворителей дойдет до конца пластинки, ее вынимают из камеры. сушат на воздухе в течение 5 мин и просматривают в УФ свете при длине волны 254 нм. На хроматограмме испытуемого препарата может наблюдаться не более трех посторонних пятен. Любое пятно посторонней примеси не должно превышать по совокупности величины и интенсивности окраски пятна от нанесения раствора А (не более 0,5 % каждой примеси в препарате).

Испытание считается действительным, если на хроматограмме раствора Б наблюдается светло - розовое пятно на уровне пятна от нанесения раствора А.

Примечание. Приготовление растворов левомицетина - свидетеля. 0,02 г левомицетина (ФС 42-2786-91) помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 50 мл спирта 95 % и перемешивают.

вают, затем доводят объем раствора спиртом 95 % до метки и перемешивают (раствор А).

2,5 мл раствора А помещают в мерную колбу вместимостью 25 мл, доводят спиртом 95 % до метки (раствор Б).

Растворы применяют свежеприготовленными.

Микробиологическая чистота. Испытания проводят согласно требованиям ГФ XI, вып. 2, с. 193 и изменения № 1, категории 3г. Для испытания таблеток левомицетина 0,5 г (0,25 г.) используется метод мембранной фильтрации через префильтр с последующим отмыванием мембран пятью порциями по 100 мл 5 % пептонной воды.

Количественное определение. Около 0,09 г (точная навеска) порошка растертых таблеток помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 5 мл спирта 95 %. встряхивают в течение 5 мин. доводят объем раствора водой до метки, перемешивают и фильтруют, отбрасывая первые 15 мл фильтрата. 2 мл фильтрата переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора водой до метки, перемешивают и измеряют оптическую плотность полученного раствора на спектрофотометре в максимуме поглощения при длине волны 278 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм.

Параллельно измеряют оптическую плотность раствора рабочего стандартного образца (РСО) левомицетина.

В качестве раствора сравнения используют воду.

Содержание левомицетина в одной таблетке в граммах (X) вычисляют по формуле:

$$X = \frac{D_1 \cdot a_0 \cdot A \cdot b}{D_0 \cdot a_1 \cdot 100} .$$

где D_1 - оптическая плотность испытуемого раствора;

D_0 - оптическая плотность раствора РСО;

a_1 - навеска препарата в г.

a_0 - навеска РСО левомицетина в г;

b - средняя масса таблетки в г;

A - содержание левомицетина в РСО в %;

100 - коэффициент, учитывающий перевод % в г.

Содержание $C_{11}H_{12}Cl_2N_2O_5$ (левомицетина) соответственно должно быть от 0,238 до 0,262 г или от 0,475 до 0,525 г для дозировок 0,25 г и 0,5 г соответственно

Примечание. Приготовление раствора РСО левомицетина.

Около 0,075 г (точная навеска) левомицетина (ФС 42-2786-91) помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, прибавляют 5 мл спирта 95%, встряхивают в течение 5 мин, доводят объем раствора водой до метки (раствор А).

Срок годности раствора А 14 сут.

2 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводят объем раствор водой до метки (раствор Б).

Раствор Б должен быть свежеприготовленным.

Упаковка. По 10 таблеток в контурную безъячейковую упаковку по ОСТ 64-074-91 из бумаги с полимерным покрытием по ТУ 13-0248643-833-91, или ТУ 9453-037-21032843-96, или импортной.

По 10 или 20 таблеток в контурную ячейковую упаковку по ОСТ 64-074-91 из пленки поливинилхлоридной марки ЭП-73 по ГОСТ 25250-88 или импортной и фольги алюминиевой по ГОСТ 745-79 или по ТУ 48-21-270-94 или импортной.

1 – 5 контурных ячейковых упаковок вместе с листком – вкладышем или инструкцией по применению помещают в пачку из картона для потребительской тары марки хром – эрзац или хромовый по ГОСТ 7933-89 или импортного.

Пачки или контурные упаковки вместе с инструкциями по применению укладывают в групповую упаковку.

Групповая упаковка и транспортная тара в соответствии с ГОСТ 17768-90.

Маркировка. На контурных ячейковых упаковках указывают название препарата на русском языке, дозировку и номер серии.

На контурных упаковках без вложения в пачку, пачках и этикетках для групповой упаковки указывают предприятие - изготовитель и его товарный знак, название препарата на латинском и русском языках, дозировку, количество таблеток в одной упаковке, "Применять по назначению врача", условия хранения, регистрационный номер, номер серии, срок годности и штрих - код.

На этикетке для групповой упаковки дополнительно указывают количество упаковок.

Маркировка транспортной тары в соответствии с ГОСТ 14192-96.

Транспортирование. В соответствии с ГОСТ 17768-90.

Хранение. Список Б. В защищенном от света месте.

Срок годности 5 лет.

Антибиотик.

Примечание. Реактивы, приведенные в настоящей фармакопейной статье, описаны в соответствующем разделе Государственной фармакопей XI издания, вып. 2.

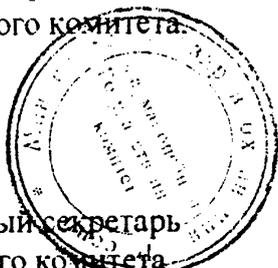
Главный инженер
ФГП "Мосхимфармпрепараты
имени Н. А. Семашко"



А. А. Григорьев

« 02 » 12 1998 г.

Председатель Фармакопейного
Государственного комитета,
профессор



Ю. Ф. Крылов

« 09 » 12 1998 г.

Главный ученый секретарь
Фармакопейного комитета,
доктор фарм. наук

В. Л. Багирова

« 09 » 12 1998 г.

Контрольно-аналитическая лаборатория
 Фармацевтического центра при СГМУ
 ПРОТОКОЛ АНАЛИЗА № 3447 от 21.12.1999

Лекарственное средство Левомецетин 0,25 г № 10

Серия 310899 Кол-во пробы 3 уп. Кол-во продукции 18000 уп.

Изготовитель, страна ОАО «Органика», Россия

Поставщик ООО «Томь-Лимитед»

ГОДЕН ДО 09.2004 г.

Результаты анализа:

Наименование показателей качества по нормативному документу	Требование к качеству по нормативному документу	Результаты анализа
Описание	Таблетки белого или белого со слабым желтоватым оттенком цвета	Таблетки белого со слабым желтоватым оттенком цвета
Подлинность	По НД	Соответствует
Средняя масса таблетки, г.	0,254-0,296	0,270
Прочность таблеток на истирание, %	Согласно ГФ XI, Вып.2. С.154	99,5
Посторонние примеси, %	Не более 0,5	Менее 0,5
Растворение, %	Не менее 75,0	96,1
Количественное содержание левомицетина, г/таб	0,238-0,262	0,243
Распадаемость, мин	Не более 15	4
Микробиологическая чистота	Согласно НД	Выдерживает анализ № 763
Маркировка	Согласно НД	Соответствует
Упаковка	Согласно НД	Соответствует

Примечание: лаборатория несет ответственность за качество только представленного образца препарата

ЗАКЛЮЧЕНИЕ: исследуемый образец соответствует требованиям нормативного документа ВФС 42-2482-95, разреш. МЗ РФ от 21.07.1999 № 293-16/1353 по проверенным показателям качества

М.П. *Провизор-аналитик* _____

Заведующий лабораторией _____

Заведующий лабораторией _____

СИТУАЦИОННЫЕ ЗАДАЧИ

1. ОПРЕДЕЛЕНИЕ ПОДЛИННОСТИ И ЧИСТОТЫ ПРЕПАРАТОВ

1.1. В препарате «Фосфаден» (ФС 42-1960-99) определяют поглощающие примеси. Измеряют оптическую плотность 0,001 % раствора препарата в 0,01 моль/л раствора хлористоводородной кислоты в кювете с толщиной слоя 10 мм при длинах волн 250, 260 и 280 нм. В качестве раствора сравнения используют 0,01 моль/л раствора хлористоводородной кислоты. Отношение D^{250}/D^{260} должно быть от 0,80 до 0,87. Оптические плотности при длинах волн 250 и 260 нм равны 0,430 и 0,506 соответственно.

Отношение D^{280}/D^{260} равно 0,231.

Рассчитайте их соотношение и выявите, укладывается ли оно в допустимое количество.

Рассчитайте, какая должна быть оптическая плотность при длине волны 280 нм.

1.2. В препарате «Кислота фолиевая» (ВФС 42-2479-95) определяют поглощающие примеси: 0,001 % раствора кислоты фолиевой в 0,1 моль/л раствора натрия гидроксида имеет максимумы поглощения при длинах волн 256, 283 и 365 нм.

$$\text{Отношение } \frac{D^{256}}{D^{365}} = 2,8 .$$

Рассчитайте, какая должна быть оптическая плотность при длине волны 256 нм, если при $\lambda = 365$ нм она равна 0,260.

1.3. В препарате «Феноксиметилпенициллин» (ФС 42-2579-97) определяют поглощающие примеси следующим образом: около 0,1 г препарата (точная масса) растворяют в 4 мл 5 % раствора натрия гидрокарбоната, разводят водой в мерной колбе вместимостью 500 мл до метки и определяют оптическую плотность (D) при длинах волн 268 и 274 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. Раствором сравнения служат 4 мл 5 % раствора натрия гидрокарбоната, разведенные водой до 500 мл.

$$\text{Отношение } \frac{D^{268}}{D^{274}} = 1,22$$

Оптическая плотность раствора при длине волны 268 нм равна 0,645. Рассчитайте, какая будет оптическая плотность при длине волны 274 нм.

- 1.4. В препарате «Ретинола ацетат» (ФС 42-3029-94) при оценке чистоты определяют поглощающие примеси. Измеряют оптическую плотность 0,0003 % раствора препарата в абсолютном этаноле или хлороформе при длинах волн 300; 311,5; 326; 337 и 360 нм. Отношения значения оптической плотности при 300; 311,5; 337 и 360 нм к оптической плотности при 326 нм не должны отличаться более чем на $\pm 0,03$.

Длина волны, нм	D	D/D ³²⁶
	Результаты опыта	Требования ФС
300	0,368	0,573
311,5	0,560	0,875
326	0,640	1,000
337	0,548	0,857
360	0,187	0,292

Рассчитайте отношения оптических плотностей ретинола ацетата, сравните их с указанными выше, соответствуют ли они указаниям НД и сделайте заключение, – удовлетворяет ли препарат требованиям ФС 42-3029-94 на поглощающие примеси.

- 1.5. Определение подлинности препарата «Наркотин» (ФС 42–1304–87) осуществляют следующим образом. УФ-спектр 0,005 % раствора препарата в метаноле в области от 230 до 350 нм имеет максимумы поглощения при 292 ± 2 и 310 ± 2 нм и минимум поглощения при 263 ± 2 нм.

Отношение оптической плотности при 310 нм к оптической плотности при 292 нм должно быть не менее 1,2 и не более 1,25.

Задание.

1. Постройте примерный график зависимости оптической плотности от длины волны.
2. Рассчитайте отношение оптических плотностей, если $D^{310}=0,60$, $D^{292}=0,48$, и сделайте заключение, удовлетворяет ли препарат требованиям ФС.

2. РАСЧЕТ УДЕЛЬНОГО ПОКАЗАТЕЛЯ ПОГЛОЩЕНИЯ И ОПТИЧЕСКОЙ ПЛОТНОСТИ

2.1. Рассчитайте $E_{1\text{см}}^{1\%}$ метандростенолона, если оптическая плотность равна 0,520 при длине волны 245 нм, концентрация раствора 0,001 % в 95 % этаноле, толщина слоя 10 мм.

2.2. Рассчитайте оптическую плотность раствора метилтестостерона при длине волны 240 нм, если $E_{1\text{см}}^{1\%}$ равен 540, концентрация исследуемого раствора 0,001 % в 95 % этаноле, толщина слоя 10 мм.

2.3. В препарате «Дигитоксин» (ФС 42-2415-85) рассчитать $E_{1\text{см}}^{1\%}$.

Методика определения. Около 0,02 г препарата (точная масса), высушенного при температуре 100 – 105°C, растворяют в 95 % этаноле в мерной колбе вместимостью 50 мл, 5 мл этого раствора помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводят объем 95 % этанолом до метки. К 5 мл полученного раствора прибавляют 5 мл раствора натрия пикрата, выдерживают 20 мин при комнатной температуре. Оптическая плотность полученного раствора при длине волны 495 нм и толщине слоя 10 мм равна 0,880. Точная масса препарата, взятая для анализа, равна 0,0200.

2.4. Рассчитайте оптическую плотность раствора препарата «Феноксиметилпенициллин» (ФС 42–2579–97) при длинах волн 268 и 274 нм.

Методика определения. 0,1000 г (точная масса) препарата помещают в мерную колбу вместимостью 500 мл, растворяют в 4 мл 5 % раствора натрия гидрокарбоната и доводят водой до метки, перемешивают. Измеряют оптическую плотность полученного раствора на спектрофотометре при длинах волн 268 и 274 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. Раствором сравнения служат 4 мл 5 % раствора натрия гидрокарбоната, разведенные водой до 500 мл.

$$\text{Отношение } \frac{D^{268}}{D^{274}} = 1,23.$$

$E_{1\text{см}}^{1\%}$ при длине волны 268 нм равен 34,8.

2.5. Для препарата «Фурацилин» (ФС 42-2522-88) постройте график зависимости оптической плотности от концентрации при длине волны 375 нм и рассчитайте $E_{1\text{см}}^{1\%}$, используя данные таблицы.

$C \cdot 10^4$ % фурацилина	5	6	7	8	9	10
Оптическая плотность	0,326	0,392	0,458	0,522	0,589	0,655

Рассчитайте концентрацию фурацилина, используя градуировочный график и найденное значение $E_{1cm}^{1\%}$

Методика определения. Около 0,02 г (точная масса) фурацилина растворяют в воде в мерной колбе вместимостью 100 мл и доводят водой до метки. К 0,5 мл полученного раствора прибавляют 9,5 мл воды, перемешивают и измеряют оптическую плотность на спектрофотометре в кювете с толщиной поглощающего слоя 10 мм относительно воды. Оптическая плотность полученного раствора 0,650. Точная масса препарата 0,0200 г.

2.6. Рассчитайте $E_{1cm}^{1\%}$ доксициклина гидрохлорида (ФС 42-2545-88) при длине волны 349 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм, если оптическая плотность равна 0,650, точная масса равна 0,0736 г.

Методика определения. Около 0,07 г (точная масса) Государственного стандартного образца доксициклина гидрохлорида растворяют в мерной колбе вместимостью 200 мл в смеси 1 моль/л раствора хлористо-водородной кислоты и метанола (1 : 99), доводят объем раствора указанной смесью до метки и перемешивают. 5 мл полученного раствора помещают в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора той же смесью растворителей до метки и перемешивают. Измеряют оптическую плотность полученного раствора на спектрофотометре. В качестве раствора сравнения используют смесь раствора хлористо-водородной кислоты и метанола (1 : 99). $E_{1cm}^{1\%}$ ГСО доксициклина гидрохлорида должен быть не менее 280 и не более 310.

2.7. Рассчитайте оптическую плотность ретинола ацетата (ФС 42-3029-94) при длинах волн, указанных в таблице. Измеряют оптическую плотность 0,0003 % раствора препарата в абсолютном этаноле при длинах волн 300; 311,5; 326; 337 и 360 нм.

Длина волны, нм	D	D/D ³²⁶
300		0,573
311,5		0,875
326	0,515	1,000
337		0,857
360		0,292

3. РАСЧЕТ КОНЦЕНТРАЦИИ ОПРЕДЕЛЯЕМОГО ВЕЩЕСТВА В ЛЕКАРСТВЕННОМ СРЕДСТВЕ

- 3.1. Рассчитайте количественное содержание левомицетина стеарата в субстанции (ГФ Х, с.389-390).

Методика определения. Около 0,04 г (точная масса) левомицетина стеарата растворяют в 95 % этаноле в мерной колбе вместимостью 100 мл и доводят объем раствора этанолом до метки (раствор А). 10 мл раствора А переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводят объем раствора этанолом до метки (раствор Б).

Определяют оптическую плотность полученного раствора Б на спектрофотометре при длине волны 272 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм.

Параллельно измеряют оптическую плотность 0,002 % раствора стандартного образца левомицетина стеарата при длине волны 275 нм.

Оптические плотности испытуемого и стандартного растворов равны соответственно 0,360 и 0,400. Точная масса препарата – 0,0369 г.

- 3.2. Рассчитать количественное содержание гризеофульвина (ФС 42-1878-97) в пересчете на сухое вещество, в процентах.

Методика определения. Около 0,1 г (точная масса) гризеофульвина растворяют в абсолютном этаноле в мерной колбе вместимостью 200 мл, доводят объем раствора абсолютным этанолом до метки и перемешивают.

2 мл полученного раствора переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора до метки абсолютным этанолом, перемешивают и определяют оптическую плотность на спектрофотометре при длине волны 291 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. Раствор сравнения – абсолютный этанол.

Оптическая плотность испытуемого раствора – 0,657, $E_{1cm}^{1\%}$ – 686, потеря в массе при высушивании – 10%, масса препарата – 0,1000 г.

- 3.3. Рассчитайте концентрацию цианокобаламина в процентах.

Методика определения. Около 0,1 г (точная масса) препарата растворяют в воде в мерной колбе вместимостью 500 мл и доводят водой до метки. 25 мл этого раствора переносят в мерную колбу вместимостью 250 мл и доводят объем раствора водой до метки. Определяют оптическую плотность полученного раствора на спектрофотометре при длине волны 361 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. Раствор сравнения – вода. $E_{1cm}^{1\%}$ – 207.

Содержание цианокобаламина пересчитывают на сухое вещество. Содержание влаги в нем 12,0 %, оптическая плотность – 0,341, точная масса препарата – 0,1000 г.

- 3.4. Рассчитайте концентрацию фуразолидона (ФС 42-3109-94) в процентах.

Методика определения. Около 0,1 г (точная масса) фуразолидона помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, прибавляют 30 мл свежеперегнанного (четырежды) диметилформамида (плотность не должна быть более 0,945), закрывают пробкой. После растворения препарата прибавляют 2 мл 0,05 моль/л этанольного раствора калия гидроксида, перемешивают, охлаждают до 20 °С, доводят объем раствора до метки диметилформамидом и хорошо перемешивают.

0,6 мл раствора переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл, доводят объем раствора водой до метки, измеряют оптическую плотность полученного раствора через 20 мин на фотоэлектроколориметре в кювете с толщиной слоя 5 мм с фиолетовым светофильтром при длине волны 360 нм. Раствор сравнения – вода.

Оптическая плотность анализируемого раствора – 0,450, $E_{1cm}^{1\%}$ – 750, содержание воды в фуразолидоне – 0,5 %, точная масса препарата – 0,1000 г.

Содержание фуразолидона пересчитывают на абсолютно сухое вещество.

- 3.5. Рассчитать количественное содержание фосфотиамин (в процентах) в пересчете на сухое вещество.

Методика определения. Около 0,05 г (точная масса) препарата растворяют в фосфатном буферном растворе (рН 6,95-7,05) в мерной колбе вместимостью 100 мл и доводят объем раствора тем же фосфатным буферным раствором до метки. 2 мл этого раствора переносят в мерную колбу вместимостью 50 мл и доводят объем раствора до метки тем же буферным раствором. Измеряют оптическую плотность полученного раствора на спектрофотометре при длине волны 268 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм.

В качестве контрольного раствора используют фосфатный буферный раствор. Параллельно проводят измерение оптической плотности раствора стандартного образца тиамин хлорида.

Оптические плотности исследуемого и стандартного растворов соответственно равны 0,360 и 0,490; содержание тиамин хлорида в 1 мл раствора стандартного образца 0,00002 г; 1,31 – коэффициент пересчета тиамин хлорида на фосфотиамин; точная масса препарата – 0,0512 г; потеря в массе при высушивании – 5,0 %.

3.6. Рассчитать количественное содержание фосфадена (в процентах).

Методика определения. Около 0,05 г (точная масса) препарата растворяют в 0,01 моль/л растворе кислоты хлористоводородной в мерной колбе вместимостью 100 мл и доводят объем тем же раствором кислоты хлористоводородной до метки. 2 мл полученного раствора переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводят объем тем же раствором кислоты хлористоводородной до метки. Измеряют оптическую плотность полученного раствора на спектрофотометре в кювете с толщиной слоя 10 мм при длине волны 257 нм. В качестве контрольного раствора используют 0,01 моль/л раствор кислоты хлористоводородной.

Оптическая плотность испытуемого раствора равна 0,427; $E_{1\text{см}}^{1\%}$ 100 % фосфадена в 0,01 моль/л растворе кислоты хлористоводородной при длине волны 257-434,8 нм; точная масса препарата – 0,0492 г.

4. АНАЛИЗ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМ

4.1. Дайте заключение о качестве раствора рибофлавина 0,02 % 200 мл по количественному содержанию согласно приказу № 305, если оптическая плотность анализируемого раствора 0,230, оптическая плотность стандартного раствора 0,265, концентрация стандартного раствора 0,0002 г/мл.

4.2. Дайте заключение о качестве лекарственной формы состава:

Раствора рибофлавина 0,02 % – 10 мл;
 Кислоты аскорбиновой 0,02
 Тиамин бромид 0,02
 Калия йодида 0,3

по количественному содержанию рибофлавина, если оптическая плотность раствора, полученного разведением 0,5 мл лекарственной формы до 10 мл водой, измеренная при длине волны 445 нм в кювете с толщиной поглощающего слоя 10 мм, равна 0,340. Удельный показатель поглощения раствора рибофлавина в максимуме при 445 нм равен 328.

4.3. Дайте заключение о качестве лекарственной формы состава:

Фурацилина 0,2
 Натрия хлорида 9,0
 Воды для инъекций до 1 л

по количественному содержанию фурацилина, если оптическая плотность раствора, полученного смешиванием 1 мл лекарственной

формы, 15 мл воды и 4 мл 0,1 М раствора натрия гидроксида, измеренная при длине волны 450 нм в кювете с толщиной слоя 3 мм, равна 0,295. Оптическая плотность стандартного раствора, полученного из 1 мл 0,02 % раствора РСО фурацилина по той же методике, равна 0,290. Содержание фурацилина в 1 мл препарата должно быть 0,000194-0,000206 г.

4.4. Рассчитайте содержание левомицетина в лекарственной форме состава:

Раствора левомицетина 0,015% 10 мл
Натрия хлорида 0,09

если оптическая плотность 10 мл раствора, полученного из 1,5 мл разведения лекарственной формы 1 : 5, измеренная на фотоэлектроколориметре при длине волны 364 нм в кювете с толщиной слоя 5 мм, равна 0,430. Оптическая плотность 10 мл стандартного раствора левомицетина, полученного из 1,5 мл 0,002 % раствора левомицетина, измеренного в тех же условиях, равна 0,285.

4.5. При определении примеси свободной салициловой кислоты в таблетках кислоты ацетилсалициловой по 0,5 г точную навеску порошка растертых таблеток (0,5015 г) поместили в мерную колбу вместимостью 50 мл, прибавили 2 мл 0,2 % раствора железоммониевых квасцов, довели спиртом до метки, профильтровали. Оптическая плотность раствора стандартного образца кислоты салициловой, полученного из 2 мл 0,01 % раствора в тех же условиях, равна 0,262.

Средняя масса таблетки 0,605 г.

Сделайте заключение о качестве препарата по содержанию свободной салициловой кислоты, которой должно быть не более 0,000125 г, считая на среднюю массу одной таблетки.

4.6. Сделайте заключение о качестве таблеток нитроксолина 0,05 г, покрытых оболочкой, если при спектрофотометрическом определении точную массу порошка растертых таблеток (0,3975 г) поместили в мерную колбу вместимостью 250 мл, прибавили 20 мл воды и довели 0,2 М раствором натрия гидроксида до метки. После фильтрования 2 мл раствора разбавили 0,2 М раствором натрия гидроксида до 250 мл.

Оптическая плотность полученного раствора, измеренная при длине волны 450 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм, составила 0,405.

Оптическая плотность раствора стандартного образца, содержащего 0,000003 г РСО нитроксолина в 1 мл, составила 0,395. Средняя масса одной таблетки 0,195 г. Содержание нитроксолина в одной таблетке должно быть 0,04625-0,05375 г.

Примеры расчетов (см. ситуационные задачи)**Задание 1.1.**

Из отношения $D^{280}/D^{260} = 0,231$ определяют D^{280} :

$$D^{280} = D^{260} \cdot 0,231 = 0,506 \cdot 0,231 = 0,117$$

Отношение $D^{250}/D^{260} = 0,430/0,506 = 0,85$, что соответствует требованиям ФС 42-1960-99.

Задание 1.4.

Для расчета указанных в ФС 42-3029-94 отношений оптических плотностей следует провести следующие вычисления:

$$D^{300}/D^{326} = 0,368/0,640 = 0,575$$

$$D^{311,5}/D^{326} = 0,560/0,640 = 0,875$$

$$D^{326}/D^{326} = 0,640/0,640 = 1,000$$

$$D^{337}/D^{326} = 0,548/0,640 = 0,856$$

$$D^{360}/D^{326} = 0,187/0,640 = 0,292$$

Согласно полученным данным препарат удовлетворяет требованиям ФС 42-3029-94 на поглощающие примеси (т.к. отношения оптических плотностей при указанных длинах волн не отличаются более, чем на $\pm 0,03$).

Задание 2.1.

$$E_{1\text{CM}}^{1\%} = \frac{D^{245}}{C \cdot \ell} = \frac{0,520}{0,001 \cdot 1} = 520$$

При этом концентрация (С) выражена в %, толщина поглощающего слоя – в см..

Задание 3.1.

$$\begin{aligned} X_{\text{лев.}} (\%) &= \frac{D_{\text{исп.}} \cdot C_{\text{ГСО}} \cdot 100 \cdot 100}{D_{\text{ГСО}} \cdot a \cdot 10} \cdot 100\% = \frac{0,360 \cdot 0,00002 \cdot 100 \cdot 100}{0,400 \cdot 0,0369 \cdot 10} \cdot 100\% = \\ &= 48,78\% \end{aligned}$$

(см с.22)

ОТВЕТЫ

1.1. $\frac{D_{250}}{D_{260}} = 0,85$; $D_{280} = 0,117$

1.2. $D_{256} = 0,728$

1.3. $D_{274} = 0,528$

1.4. 0,575 (300 нм); 0,859 (311,5 нм); 0,856 (337 нм); 0,292 (360 нм), препарат удовлетворяет требованиям ГФ Х, ст. 578.

1.5. $\frac{D_{310}}{D_{292}} = 1,25$. Удовлетворяет требованиям ФС

2.1 $E_{1см}^{1\%} = 520$

2.2. $D = 0,540$

2.3. $E_{1см}^{1\%} = 220$

2.4. $D_{268} = 0,696$; $D_{274} = 0,566$

2.5. $E_{1см}^{1\%} = 653,2$; $X = 99,5 \%$, $99,0 \%$

2.6. $E_{1см}^{1\%} = 353,3$

2.7. $D_{300} = 0,295$; $D_{311,5} = 0,295$; $D_{337} = 0,441$; $D_{360} = 0,150$

3.1. 48,8 %

3.2. 96,7 %

3.3. 93,6 %

3.4. 100,5 %

3.5. 98,9 %

3.6. 99,8 %

4.1. 0,0175 %

4.2. Удовлетворяет

4.3. Удовлетворяет

4.4. 0,015 %

4.5. 0,000115 г.

4.6. 0,047 г.

СООТНОШЕНИЕ МЕЖДУ ВЕЛИЧИНАМИ СВЕТОПРОПУСКАНИЯ И ОПТИЧЕСКОЙ ПЛОТНОСТЬЮ

Пропускание, %,	Пропускание, %									
	0,0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9
Оптическая плотность										
0		3,000	2,699	2,523	2,398	2,301	2,222	2,155	2,097	2,046
1	2,000	1,959	1,921	1,886	1,854	1,824	1,796	1,770	1,745	1,721
2	1,699	1,678	1,658	1,638	1,620	1,602	1,585	1,569	1,553	1,538
3	1,523	1,509	1,495	1,481	1,469	1,456	1,444	1,432	1,420	1,409
4	1,398	1,387	1,377	1,367	1,357	1,347	1,337	1,328	1,319	1,310
5	1,301	1,292	1,284	1,276	1,268	1,260	1,252	1,244	1,237	1,229
6	1,222	1,215	1,208	1,201	1,194	1,187	1,180	1,174	1,167	1,161
7	1,155	1,149	1,143	1,137	1,131	1,125	1,119	1,114	1,108	1,102
8	1,097	1,092	1,086	1,081	1,076	1,071	1,066	1,060	1,056	1,051
9	1,046	1,041	1,036	1,032	1,027	1,022	1,018	1,013	1,009	1,004
10	1,000	0,9957	0,9914	0,9872	0,9830	0,9788	0,9747	0,9706	0,9666	0,9626
11	0,9586	0,9547	0,9508	0,9469	0,9431	0,9393	0,9355	0,9318	0,9281	0,9245
12	0,9208	0,9172	0,9136	0,9101	0,9066	0,9031	0,8996	0,8962	0,8928	0,8894
13	0,8861	0,8827	0,8794	0,8761	0,8729	0,8697	0,8665	0,8633	0,8601	0,8570
14	0,8539	0,8508	0,8477	0,8447	0,8416	0,8386	0,8356	0,8327	0,8297	0,8268
15	0,8239	0,8210	0,8182	0,8153	0,8125	0,8097	0,8069	0,8041	0,8013	0,7986
16	0,7959	0,7932	0,7905	0,7878	0,7852	0,7825	0,7790	0,7773	0,7747	0,7721
17	0,7696	0,7670	0,7645	0,7620	0,7595	0,7570	0,7545	0,7520	0,7496	0,7471
18	0,7447	0,7423	0,7399	0,7375	0,7352	0,7328	0,7305	0,7282	0,7258	0,7235
19	0,7212	0,7190	0,7167	0,7144	0,7122	0,7100	0,7077	0,7055	0,7033	0,7011
20	0,6990	0,6968	0,6946	0,6925	0,6904	0,6882	0,6861	0,6840	0,6819	0,6799
21	0,6778	0,6757	0,6737	0,6716	0,6696	0,6676	0,6655	0,6635	0,6615	0,6596
22	0,6576	0,6556	0,6536	0,6517	0,6498	0,6478	0,6459	0,6440	0,6421	0,6402
23	0,6383	0,6364	0,6345	0,6326	0,6308	0,6289	0,6271	0,6253	0,6234	0,6216
24	0,6198	0,6180	0,6162	0,6144	0,6126	0,6108	0,6091	0,6073	0,6055	0,6038
25	0,6021	0,6003	0,5986	0,5969	0,5952	0,5935	0,5918	0,5901	0,5884	0,5867
26	0,5850	0,5834	0,5817	0,5800	0,5784	0,5766	0,5751	0,5735	0,5719	0,5702
27	0,5686	0,5670	0,5654	0,5638	0,5622	0,5607	0,5591	0,5575	0,5560	0,5544
28	0,5528	0,5513	0,5498	0,5482	0,5467	0,5452	0,5436	0,5421	0,5406	0,5391
29	0,5376	0,5361	0,5346	0,5331	0,5317	0,5302	0,5287	0,5272	0,5258	0,5243
30	0,5229	0,5214	0,5200	0,5186	0,5171	0,5157	0,5143	0,5129	0,5114	0,5100
31	0,5086	0,5072	0,5058	0,5045	0,5031	0,5017	0,5003	0,4989	0,4976	0,4962
32	0,4949	0,4935	0,4921	0,4908	0,4895	0,4881	0,4868	0,4855	0,4841	0,4828
33	0,4815	0,4802	0,4789	0,4776	0,4763	0,4750	0,4737	0,4724	0,4711	0,4698
34	0,4685	0,4672	0,4660	0,4647	0,4634	0,4622	0,4609	0,4597	0,4584	0,4572
35	0,4559	0,4547	0,4535	0,4522	0,4510	0,4498	0,4486	0,4473	0,4461	0,4449
36	0,4437	0,4425	0,4413	0,4401	0,4389	0,4377	0,4365	0,4353	0,4342	0,4330
37	0,4318	0,4306	0,4295	0,4283	0,4271	0,4260	0,4248	0,4237	0,4225	0,4214
38	0,4202	0,4191	0,4179	0,4168	0,4157	0,4145	0,4134	0,4123	0,4112	0,4101
39	0,4889	0,4078	0,4067	0,4056	0,4045	0,4034	0,4023	0,4012	0,4001	0,3989
40	0,3979	0,3969	0,3958	0,3947	0,3936	0,3925	0,3915	0,3904	0,3893	0,3883

Продолжение

Пропускание, %,	Пропускание, %									
	0,0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9
Оптическая плотность										
41	0,3872	0,3862	0,3851	0,3840	0,3830	0,3820	0,3809	0,3799	0,3788	0,3778
42	0,3768	0,3757	0,3747	0,3737	0,3726	0,3716	0,3706	0,3696	0,3686	0,3675
43	0,3665	0,3655	0,3645	0,3635	0,3625	0,3615	0,3605	0,3595	0,3585	0,3575
44	0,3565	0,3556	0,3546	0,3536	0,3526	0,3516	0,3507	0,3497	0,3487	0,3478
45	0,3468	0,3458	0,3449	0,3439	0,3429	0,3420	0,3410	0,3401	0,3391	0,3382
46	0,3372	0,3363	0,3354	0,3344	0,3335	0,3325	0,3316	0,3307	0,3292	0,3288
47	0,3279	0,3270	0,3261	0,3251	0,3242	0,3233	0,3224	0,3215	0,3206	0,3197
48	0,3188	0,3179	0,3170	0,3161	0,3152	0,3143	0,3134	0,3125	0,3116	0,3107
49	0,3098	0,3089	0,3080	0,3072	0,3063	0,3054	0,3045	0,3036	0,3028	0,3019
50	0,3010	0,3002	0,2993	0,2984	0,2976	0,2967	0,2958	0,2950	0,2941	0,2933
51	0,2924	0,2916	0,2907	0,2899	0,2890	0,2882	0,2874	0,2865	0,2857	0,2848
52	0,2840	0,2832	0,2823	0,2815	0,2807	0,2798	0,2790	0,2782	0,2774	0,2765
53	0,2757	0,2749	0,2741	0,2733	0,2725	0,2716	0,2708	0,2700	0,2692	0,2681
54	0,2627	0,2668	0,2660	0,2652	0,2644	0,2636	0,2628	0,2620	0,2612	0,2604
55	0,2596	0,2588	0,2581	0,2573	0,2565	0,2557	0,2549	0,2541	0,2534	0,2526
56	0,2518	0,2510	0,2503	0,2495	0,2487	0,2480	0,2472	0,2464	0,2457	0,2449
57	0,2441	0,2434	0,2426	0,2418	0,2411	0,2403	0,2396	0,2388	0,2381	0,2373
58	0,2366	0,2358	0,2351	0,2343	0,2336	0,2328	0,2321	0,2314	0,2306	0,2299
59	0,2291	0,2284	0,2277	0,2269	0,2262	0,2255	0,2248	0,2240	0,2233	0,2226
60	0,2218	0,2211	0,2204	0,2197	0,2190	0,2182	0,2175	0,2168	0,2161	0,2154
61	0,2147	0,2140	0,2132	0,2125	0,2118	0,2111	0,2104	0,2097	0,2090	0,2083
62	0,2076	0,2069	0,2062	0,2055	0,2048	0,2041	0,2034	0,2027	0,2020	0,2013
63	0,2007	0,2000	0,1993	0,1986	0,1979	0,1972	0,1965	0,1959	0,1952	0,1945
64	0,1938	0,1931	0,1925	0,1918	0,1911	0,1904	0,1898	0,1891	0,1884	0,1878
65	0,1871	0,1864	0,1858	0,1851	0,1844	0,1838	0,1831	0,1824	0,1818	0,1811
66	0,1805	0,1798	0,1791	0,1785	0,1778	0,1772	0,1765	0,1759	0,1752	0,1746
67	0,1739	0,1733	0,1726	0,1720	0,1713	0,1707	0,1701	0,1694	0,1688	0,1681
68	0,1675	0,1669	0,1662	0,1656	0,1649	0,1643	0,1637	0,1630	0,1624	0,1618
69	0,1612	0,1605	0,1599	0,1593	0,1586	0,1580	0,1574	0,1568	0,1561	0,1555
70	0,1549	0,1543	0,1537	0,1530	0,1524	0,1518	0,1512	0,1506	0,1500	0,1494
71	0,1487	0,1481	0,1475	0,1469	0,1463	0,1457	0,1451	0,1445	0,1439	0,1433
72	0,1427	0,1421	0,1415	0,1409	0,1403	0,1397	0,1391	0,1385	0,1379	0,1373
73	0,1367	0,1361	0,1355	0,1349	0,1343	0,1337	0,1331	0,1325	0,1319	0,1314
74	0,1308	0,1302	0,1296	0,1290	0,1284	0,1278	0,1273	0,1267	0,1261	0,1255
75	0,1249	0,1244	0,1238	0,1232	0,1226	0,1221	0,1215	0,1209	0,1203	0,1198
76	0,1192	0,1186	0,1180	0,1175	0,1169	0,1163	0,1158	0,1152	0,1146	0,1141
77	0,1135	0,1129	0,1124	0,1118	0,1113	0,1107	0,1101	0,1095	0,1090	0,1085
78	0,1079	0,1073	0,1068	0,1062	0,1057	0,1051	0,1046	0,1040	0,1035	0,1029
79	0,1024	0,1018	0,1013	0,1007	0,1002	0,0996	0,0991	0,0985	0,0980	0,0975
80	0,0969	0,0964	0,0958	0,0953	0,0947	0,0942	0,0937	0,0931	0,0926	0,0921
81	0,0915	0,0910	0,0904	0,0899	0,0894	0,0888	0,0883	0,0878	0,0872	0,0867
82	0,0862	0,0857	0,0851	0,0846	0,0841	0,0835	0,0830	0,0825	0,0820	0,0814
83	0,0809	0,0804	0,0799	0,0794	0,0788	0,0783	0,0778	0,0773	0,0768	0,0762
84	0,0757	0,0752	0,0747	0,0742	0,0737	0,0731	0,0726	0,0721	0,0716	0,0711
85	0,0706	0,0701	0,0696	0,0691	0,0685	0,0680	0,0675	0,0670	0,0665	0,0660

Продолжение

Пропускание, %	Пропускание, %									
	0,0	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9
Оптическая плотность										
86	0,0655	0,0650	0,0645	0,0640	0,0635	0,0630	0,0625	0,0620	0,0615	0,0610
87	0,0605	0,0600	0,0595	0,0590	0,0585	0,0580	0,0575	0,0570	0,0565	0,0560
88	0,0555	0,0550	0,0545	0,0540	0,0535	0,0531	0,0526	0,0521	0,0516	0,0511
89	0,0506	0,0501	0,0496	0,0491	0,0487	0,0482	0,0477	0,0472	0,0467	0,0462
90	0,0458	0,0453	0,0448	0,0443	0,0438	0,0434	0,0429	0,0424	0,0419	0,0414
91	0,0410	0,0405	0,0400	0,0395	0,0391	0,0386	0,0381	0,0376	0,0372	0,0367
92	0,0362	0,0357	0,0353	0,0348	0,0343	0,0339	0,0334	0,0329	0,0325	0,0320
93	0,0315	0,0311	0,0306	0,0301	0,0297	0,0292	0,0287	0,0283	0,0278	0,0273
94	0,0269	0,0264	0,0259	0,0255	0,0250	0,0246	0,0241	0,0237	0,0232	0,0227
95	0,0223	0,0218	0,0214	0,0209	0,0205	0,0200	0,0195	0,0191	0,0186	0,0182
96	0,0177	0,0173	0,0168	0,0164	0,0159	0,0155	0,0150	0,0146	0,0141	0,0137
97	0,0132	0,0128	0,0123	0,0119	0,0114	0,0110	0,0106	0,0101	0,0097	0,0092
98	0,0088	0,0083	0,0079	0,0074	0,0070	0,0066	0,0061	0,0057	0,0052	0,0048
99	0,0044	0,0039	0,0035	0,0031	0,0026	0,0022	0,0017	0,0013	0,0009	0,0004

ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ

Выберите правильный ответ (один или несколько).

1. К фотометрическим методам относятся

- А – спектрофотометрия;
- Б – экстракционная фотоэлектроколориметрия;
- В – поляриметрия;
- Г – полярография;
- Д – колориметрия.

2. Какое излучение понимают под термином «ультрафиолетовые лучи»?

- А – излучение с длиной волны от 200 до 400 нм;
- Б – излучение с длиной волны от 1 до 200 нм;
- В – излучение с длиной волны от 400 до 800 нм.

3. Укажите интервал длин волн, используемый в видимой области.

- А – 400-800 нм;
- Б – свыше 800 нм;
- В – 200-400 нм.

4. Спектрофотометрический метод анализа основан

- А – на свойстве окрашенных растворов поглощать полихроматический свет;
- Б – на свойстве вещества вращать плоскость поляризованного луча света;
- В – на поглощении монохроматического излучения анализируемым веществом;
- Г – на преломлении света анализируемым веществом.

5. В основе фотоколориметрического метода лежит:

- А – поглощение монохроматического света окрашенными растворами;
- Б – поглощение световой энергии взвешенными частицами;
- В – поглощение полихроматического света окрашенными растворами;
- Г – поглощение инфракрасного излучения определенной частоты.

6. Каково назначение УФ-спектрофотометрии в анализе лекарственных средств ?

- А – испытание на подлинность, чистоту;
- Б – испытание на чистоту и количественное содержание;

В – испытание на подлинность, чистоту и количественное содержание;

Г – испытание на чистоту и количественное содержание.

7. Сформулируйте основной закон светопоглощения:

А – интенсивность потока света прошедшего через раствор пропорциональна интенсивности падающего свет, толщине поглощающего слоя, концентрации поглощающего вещества;

Б – оптическая плотность раствора пропорциональна концентрации поглощающего вещества, толщине поглощающего слоя;

В – интенсивность потока света, прошедшего через раствор, пропорциональна интенсивности падающего света, концентрации поглощающего вещества.

8. Какие факторы влияют на величину оптической плотности объединенного закона светопоглощения Бугера-Ламберта-Бера ?

А – концентрация вещества в растворе;

Б – толщина поглощающего слоя;

В – модификация прибора;

Г – длина волны электромагнитного излучения;

Д – толщина стенок кювет

9. Что такое электронный спектр поглощающего света данным веществом?

А – графическая зависимость оптической плотности раствора от длины волны измерения;

Б – индивидуальные характеристики данного вещества;

В – кривая, характеризующаяся наличием определенных полос поглощения;

Г – графическая зависимость оптической плотности от концентрации растворенного вещества.

10. От чего зависит вид спектральной кривой ?

А – от растворителя;

Б – от наличия в молекуле исследуемого вещества тех или иных заместителей;

В – от концентрации растворенного вещества.

11. Как выражается величина поглощения света в спектроскопии ?

$$\text{А} - D = \lg \frac{I_0}{I} ;$$

$$\text{Б} - D = \varepsilon \cdot \ell \cdot C ;$$

$$\text{В} - D = E_{1\text{см}}^{1\%} \cdot C \cdot \ell ;$$

$$Г - I = I_0 \cdot 10^{-\varepsilon C l} ;$$

$$Д - I = k \cdot C.$$

12. В каких единицах измеряется оптическая плотность раствора ?

А – в процентах;

Б – безразмерная величина;

В – в граммах.

13. Закон Бугера-Ламберта-Бера строго справедлив в следующих случаях:

А – для разбавленных растворов (10^{-2} ; 10^{-3} %);

Б – постоянство состава и неизменность поглощающих частиц в растворе;

В – монохроматичность проходящего через пробу потока света;

Г – при малых (менее 0,1) и очень больших (более 1,5) значениях оптической плотности;

Д – при работе на одной и той же марке прибора.

14. Какие характеристики УФ-спектрофотометрии используют для идентификации веществ ?

А – определение максимумов, минимумов поглощения при указанных в НД длинах волн;

Б – построение (снятие) электронного спектра и сравнение его со спектром РСО или ГСО;

В – значение удельного показателя поглощения при определенной длине волны и концентрации.

15. Может ли вещество одновременно обладать поглощением в УФ- и видимой областях спектра ?

А – да;

Б – нет.

16. Какие характеристики электронного спектра могут изменяться при наличии примесей в лекарственном средстве ?

А – длина волны максимального поглощения;

Б – появление дополнительных максимумов поглощения;

В – интенсивность поглощения;

Г – величины отношений поглощения при различных максимумах.

17. Растворы какой концентрации определяемых веществ анализируют спектрофотометрическим методом ?

А – около $10^{-3} \div 10^{-2}$ %;

Б – 1,0-10,0 %.

18. Какие свойства веществ используют при определении примесей в лекарственных средствах ?
- А – примеси имеют отличные от исследуемого вещества λ_{\max} , λ_{\min} ;
 - Б – отношения величин оптических плотностей при определенных длинах волн не соответствуют указанным в НД;
 - В – примеси сдвигают λ_{\max} (батохромное или гипсохромное смещение).
19. Неизвестную концентрацию можно установить
- А – используя калибровочный график;
 - Б – путем сравнения со стандартным раствором (РСО или ГСО);
 - В – используя значение коэффициента экстинкции;
 - Г – методом добавок;
 - Д – по ширине полос поглощения.
20. С какой целью используют калибровочный график ?
- А – определение количественного содержания вещества;
 - Б – определение области концентраций, где соблюдается подчинение закону Бугера-Ламберта-Бера, имеет место линейная зависимость $D = f(C)$;
 - В – проверка правильности работы прибора.
21. Государственные стандартные образцы – это
- А – дополнительно очищенные вещества;
 - Б – эталонные вещества;
 - В – образцы серийных лекарственных веществ;
 - Г – химически чистые вещества.
22. От каких факторов зависят удельный и молярный коэффициенты поглощения ?
- А – от природы определяемого вещества;
 - Б – от концентрации определяемого вещества;
 - В – от длины волны;
 - Г – от природы растворителя.
23. Оптическим интервалом значений оптической плотности при фотоколориметрических определениях является
- А – 0-0,2;
 - Б – 0,2-0,7;
 - В – 1,0-2,0;
 - Г – 0,2-2,0;
 - Д – 0,5-1,0.

24. Укажите, для каких целей используют УФ-спектроскопию?

- А – испытание на подлинность;
- Б – испытание на чистоту и допустимые пределы примесей;
- В – определение количественного содержания лекарственного средства;
- Г – испытание на однородность дозирования, растворение;
- Д – изучение фармакокинетики, биодоступности, стабильности.

25. Назовите основные узлы спектрофотометра.

- А – источник света;
- Б – монохроматор;
- В – кювета;
- Г – фотоэлемент.

26. Укажите основные узлы фотоэлектроколориметра.

- А – источник излучения;
- Б – светофильтр (дифракционная решетка);
- В – фотоэлемент;
- Г – регистрирующее устройство;
- Д – измерительная призма.

27. Укажите материал, из которого должны быть изготовлены кюветы, используемые при спектрофотометрии в УФ-области ?

- А – обычное стекло;
- Б – плавленый кварц;
- В – оргстекло;
- Г – фарфор.

28. Основной функцией светофильтров в фотоэлектроколориметрах является

- А – вращение плоскости поляризации;
- Б – выделение определенного участка спектра;
- В – разделение смеси поглощающих свет веществ на отдельные компоненты;
- Г – ослабление светового потока.

29. Как подобрать светофильтр при работе на фотоколориметре ?

- А – выбрать из нескольких светофильтров тот, при котором измерена максимальная величина оптической плотности;
- Б – выбрать из нескольких светофильтров тот, при котором измерена минимальная величина оптической плотности;
- В – выбрать светофильтр одного цвета с окраской исследуемого раствора;

Г – определить длину волны максимального поглощения света на спектрофотометре и по таблице подобрать подходящий светофильтр.

30. Укажите требования к реакциям, применяемым в фотометрии.

А – реакция должна быть стехиометрической;

Б – реакция должна протекать быстро;

В – реакция должна быть избирательной и чувствительной;

Г – при реакции должно получиться устойчивое окрашенное соединение, имеющее постоянный состав;

Д – используемые реагенты должны быть доступны, безвредны и экономически рентабельными.

31. Укажите возможные химические реакции, которые могут быть использованы в фотоэлектроколориметрическом определении новокаина.

А – образование азокрасителя;

Б – гидроксамовая проба;

В – нейтрализация;

Г – образование оснований Шиффа;

Д – окисление калия перманганатом

32. Укажите формулу расчета массовой доли лекарственного вещества в % в субстанциях

$$A - X = \frac{D_x \cdot C_{ГСО} \cdot 100 \cdot 100}{D_{ГСО} \cdot a \cdot 5} \cdot 100\%$$

где 5, 100, 100 – разведение.

$$B - X = \frac{D_x \cdot b \cdot 100 \cdot 100 \cdot 10}{D_{ГСО} \cdot a \cdot 5 \cdot 100 \cdot 100} \cdot 100\%$$

где 5, 10, 100, 100, 100, 100 – разведение.

$$B - X = \frac{D \cdot 100 \cdot 100}{E_{1\%}^{1\text{см}} \cdot a \cdot 5 \cdot 100} \cdot 100\%$$

где 100 (в знаменателе) – пересчет процентной концентрации в г/мл.

$$Г - X = \frac{a \cdot 100}{C \cdot \ell}$$

33. Укажите формулу расчета количественного содержания индивидуального вещества в 1 таблетке:

$$\text{А} - X_{(\%) } = \frac{D_X \cdot T.M._{Cm} \cdot N_X \cdot P}{D_{Cm} \cdot T.M._{X} \cdot N_{Cm}}$$

$$\text{Б} - X_{(\%) } = \frac{D_X \cdot N_X \cdot P}{E_{1\%}^{1cm} \cdot T.M._{X} \cdot \ell \cdot 100}$$

$$\text{В} - X_{(\%) } = \frac{D_X \cdot C_{Cm} \cdot N \cdot P}{D_{Cm} \cdot a \cdot T.M.}$$

где N – разведение; P – средняя масса таблетки, г.

34. Укажите причины появления ошибок в спектрофотометрическом и фотоэлектроколориметрическом анализах.

А – неправильная пробоподготовка;

Б – использование кювет с различной толщиной стенок кювет;

В – величина оптической плотности соответствует интервалу значений $0,2 > D > 0,8$;

Г – использование кювет с различной толщиной поглощающего слоя при работе с одним веществом.

35. Перечислите преимущества спектрофотометрического метода по сравнению с титриметрическим.

А – высокая чувствительность;

Б – избирательность;

В – универсальность;

Г – точность;

Д – дешевизна.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Аксенова Э.К., Андрианова О.П., Арзамасцев А.П. Руководство к лабораторным занятиям по фармацевтической химии / Под. ред. А.П. Арзамасцева. – М., 1995. – 318 с.
2. Булатов М.И., Калинин И.П. Практическое руководство по фотометрическим и спектрофотометрическим методам анализа. –Л.: Химия, 1976.–375 с.
3. Георгиевский В.П., Казаринов Н.А., Каррыев М.О. Физико-химические методы анализа биологически активных веществ растительного происхождения. – Ашхабад: Ылым, 1976. – 240 с.
4. Государственная фармакопея СССР. – 10-е изд.– М.: Медицина, 1968. – 1079 с.
5. Государственная фармакопея СССР. Вып. 1. Общие методы анализа. - 11-е изд. – М.: Медицина, 1987.– 336 с.
6. Дайер Д.Р. Приложения абсорбционной спектроскопии органических соединений. – М.: Химия, 1970. – 164 с.
7. Коренман И.М. Фотометрический анализ. Методы определения органических соединений. Изд. 2-е, пер. и доп. – М.: Химия, 1975. – 360 с.
8. Крамаренко В.Ф., Попова В.И. Фотометрия в фармацевтическом анализе. – Киев: Здоров'я, 1972. – 191 с.
9. Краснов Е.А., Дудко В.В., Андреева Т.И. и др. Физико-химические методы исследования. – Томск, 1989. – 111 с.
10. Основы аналитической химии. В 2-х книгах /Под ред. акад. Ю.А. Золотова. Изд. 2-е. – М.: Высшая школа, 1999. – Кн. 1. Общие вопросы. Методы разделения. – 352 с.; Кн. 2. Методы химического анализа. – 496 с.
11. Сливкин А.И., Селеменов В.Ф., Суховерхова Е.А. Физико-химические и биологические методы оценки качества лекарственных средств. – Воронеж: Изд-во Воронеж. ун-та, 1999. – 368 с.
12. Чекрышкина Л.А., Гейн В.Л. Методы УФ- и ИК-спектроскопии в фармацевтическом анализе. – Пермь, 1995. – 41 с.
13. Штерн Э., Тиммонс К. Электронная абсорбционная спектроскопия в органической химии. – М.: Мир, 1974. – 296 с.