

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ УКРАИНЫ
ЗАПОРОЖСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ

КАФЕДРА ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОЙ ХИМИИ

ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

**ОСНОВНЫЕ СПОСОБЫ ПОЛУЧЕНИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ.
ФИЗИЧЕСКИЕ И ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА
ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ**

*Учебно-методическое пособие
для самостоятельной работы студентов V курса
по подготовке к лицензионному экзамену
«Крок 2. Фармация»*

Запорожье
2016

АВТОРЫ:

доц. Черковская Л.Г., доц. Моряк З.Б., доц. Шабельник К.П.,
доц. Кривошей О.В., ст. преп. Ткаченко Г.И., доц. Авраменко Н.А.,
асс. Скорина Д.Ю., преп.-стажер Борсук С.А.

РЕЦЕНЗЕНТЫ:

Заведующий кафедрой технологии лекарств, д.фарм.н., профессор
Гладышев В.В.;

Заведующий кафедрой фармакогнозии, фармакологии и ботаники,
д.б.н., доцент *Тржецинский С.Д.*

Предлагаемое учебно-методическое пособие призвано оказать помощь студентам в обобщении знаний и умений по фармацевтической химии в процессе самостоятельной работы по подготовке к лицензионному экзамену «Крок 2. Фармация». Издание содержит базовый теоретический материал по каждой рассматриваемой теме, после которого приводится блок тестовых заданий, отвечающих формату лицензионного экзамена «Крок 2. Фармация». Такая структура пособия способствует актуализации и систематизации учебного материала по фармацевтической химии, а самоконтроль за правильностью ответов на предложенные тестовые задания позволяет студентам выявить слабые места в подготовке и выделить вопросы, требующие дополнительного внимания для успешного освоения всех разделов предмета.

Пособие предназначено для самостоятельной работы студентов V курса I фармацевтического и II международного факультетов, обучающихся по специальности «Фармация».

Учебно-методическое пособие рассмотрено и утверждено:
Цикловой методической комиссией по фармацевтическим дисциплинам
(протокол № 8 от 15 апреля 2016 г.),
а также *Центральным методическим советом ЗГМУ*
(протокол № 5 от 2 июня 2016 г.).

ПРЕДИСЛОВИЕ

Учебная дисциплина «Фармацевтическая химия» занимает ведущее место в системе профессиональной подготовки студентов, обучающихся по специальности «Фармация». Связано это с тем, что изучение данной дисциплины способствует приобретению знаний, формированию умений и навыков, необходимых для осуществления деятельности провизора в сфере создания, обеспечения и контроля качества лекарственных средств.

Оценить соответствие между уровнем подготовки студентов и квалификационными требованиями, предъявляемыми к специалисту, призван лицензионный экзамен «Крок 2. Фармация», который является составной частью государственной аттестации выпускников фармацевтических вузов и факультетов. Указанный экзамен проводится в форме комплексного письменного тестирования по материалам профессионально-ориентированных дисциплин. Процедура тестирования предполагает применение единого экзаменационного теста, в структуру которого обязательно входят задания по фармацевтической химии.

Цель настоящего издания – оказать помощь студентам в обобщении знаний и умений по фармацевтической химии в процессе самостоятельной работы по подготовке к лицензионному экзамену «Крок 2. Фармация».

Предлагаемое учебно-методическое пособие содержит базовый теоретический материал по каждой рассматриваемой теме, после которого приводится блок тестовых заданий для адекватной оценки студентами уровня своих знаний. Такая структура пособия способствует актуализации и систематизации учебного материала по фармацевтической химии, а самоконтроль за правильностью ответов на предложенные тестовые задания позволяет студентам выявить слабые места в подготовке и выделить вопросы, требующие дополнительного внимания для успешного освоения всех разделов предмета.

Важно отметить, что в предлагаемом издании приведены тестовые задания по фармацевтической химии, полностью отвечающие формату лицензионного экзамена «Крок 2. Фармация». Представленные тестовые задания разработаны

авторами пособия, а также использованы вопросы из экзаменационных буклетов и открытых тестовых баз Центра тестирования при МОЗ Украины. Работа с данными тестовыми заданиями будет способствовать повышению мотивации студентов к овладению знаниями, качественной подготовке к лицензионному экзамену «Крок 2. Фармація», а также развитию и закреплению у студентов умения решать проблемные ситуационные задания по фармацевтической химии.

Пособие предназначено для самостоятельной работы студентов V курса, обучающихся по специальности «Фармація».

РЕКОМЕНДАЦИИ СТУДЕНТАМ
ПО ТАКТИКЕ ВЫБОРА ОТВЕТОВ ПРИ РАБОТЕ
С ТЕСТОВЫМИ ЗАДАНИЯМИ ЛИЦЕНЗИОННОГО ЭКЗАМЕНА
«Крок 2. Фармация»

При подборе ответов к тестовым заданиям студентам необходимо руководствоваться нижеприведенными правилами.

- Максимально сосредоточьтесь на процессе тестирования и не отвлекайтесь от работы с тестовыми заданиями.
- Внимательно и полностью читайте каждое тестовое задание. Убедитесь, что вы точно поняли, о чем вас спрашивают.
- Попробуйте самостоятельно дать ответ на вопрос, а потом найти его среди предложенных вариантов ответа.
- В противном случае, внимательно прочитайте каждый вариант ответа и отвергните те из них, которые, с вашей точки зрения, являются абсолютно неправильными. Среди оставшихся вариантов ответа выберите наиболее точный.
- Если же вы все-таки не смогли подобрать ответ, то временно пропустите данное тестовое задание и отвечайте на те вопросы, в правильности ответа на которые вы не сомневаетесь. После этого следует обязательно вернуться к отложенным заданиям и приложить все усилия для их решения.
- Не тратьте слишком много времени на отдельное тестовое задание. Вы имеете в среднем одну минуту при ответе на одно тестовое задание. Контролируйте свое время.
- Постарайтесь дать ответы на все тестовые задания, приведенные в экзаменационном буклете; не оставляйте без ответа ни одного тестового задания.

ОСНОВНЫЕ СПОСОБЫ ПОЛУЧЕНИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

Научные принципы создания лекарственных средств стали формироваться в начале XX в. До этого их обнаруживали случайно или, используя опыт народной медицины, среди растений.

Случайно было обнаружено наркотическое действие хлороформа, этанола, закиси азота, снотворное действие барбитуратов, сосудорасширяющий эффект нитратов и т.д.

Анестезирующие свойства хлороформа, например, обнаружил врач-акушер Дж. Симпсон (J.Y. Simpson). Однажды, надышавшись паров хлороформа в лаборатории, он вместе с помощником неожиданно оказался на полу. Спустя четыре дня Симпсон с большим успехом провел публичную демонстрацию наркоза новым анестетиком в одном из лазаретов Эдинбурга. Таким образом, было обнаружено наркотическое и анальгетическое действие хлороформа. На заседании Медико-хирургического общества Эдинбурга 10 ноября 1847 года Симпсон сделал публичное сообщение об открытии нового анестетика. 21 ноября он опубликовал статью «Открытие нового анестетика, более эффективного, чем серный эфир».

Результатом эмпирического поиска стало создание ряда лекарственных веществ в конце XIX в. Так, при исследовании жаропонижающей активности производных анилина был получен фенацетин, из фенола и салициловой кислоты был получен сложный эфир – фенилсалицилат, проявляющий после гидролиза в кишечнике антисептическое и противовоспалительное действие более «мягкое», чем исходные ингредиенты и т.д.

Источниками получения неорганических лекарственных веществ является минеральное сырье, при этом используются как сами минералы, так и отдельные элементы.

Для получения синтетических органических лекарственных веществ используются продукты сухой перегонки каменного угля, дерева, горючих слан-

цев, а также различные фракции нефти. Переработкой этих видов сырья занимается коксохимическая, лесохимическая и нефтеперерабатывающая промышленность. Продукты переработки широко используются в самых различных отраслях народного хозяйства, в том числе в медицинской промышленности.

В последние годы получили широкое распространение научные подходы к созданию лекарственных веществ: выделение и изучение биологически активных веществ (алкалоидов, гормонов, терпенов, гликозидов, сапонинов, кумаринов), химическая модификация уже известных синтетических и природных лекарственных веществ, воспроизведение биогенных физиологически активных веществ, введение фармакофора известного лекарственного вещества в молекулу нового органического соединения, принцип молекулярного моделирования, создание лекарственных веществ на основе естественных метаболитов, использование антиметаболитов, использование комбинаторной химии, генная фармакология.

Промышленный способ получения химических соединений и других продуктов, осуществляемый благодаря жизнедеятельности микробных клеток, известен под названием микробиологического синтеза. Такие его продукты, как пекарские дрожжи, известны давно, однако широкое использование микробиологического синтеза началось с 50-х гг. XX в. в связи с освоением производства пенициллина. С этого времени начала бурно развиваться микробиологическая промышленность.

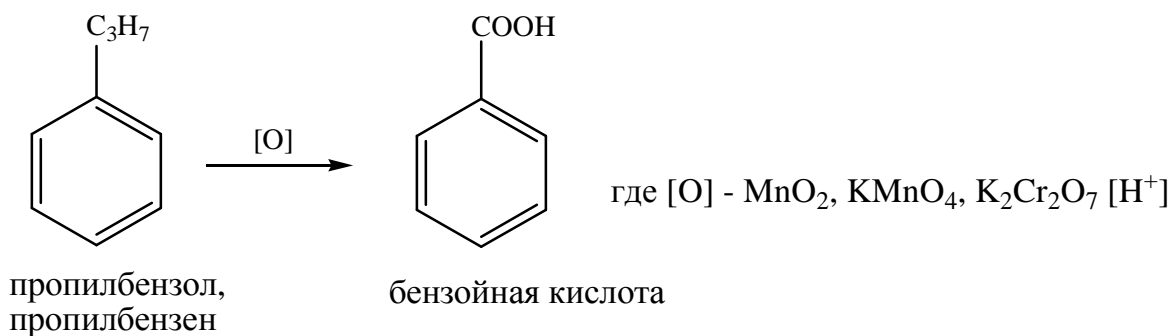
ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ

1. В синтезе лекарственных средств используют разные типы химических реакций. Какое лекарственное вещество получают путем окисления пропилбензола сильными окислителями (MnO_2 , KMnO_4 , $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ [H^+])?

- А. *Бензойная кислота
- В. Аскорбиновая кислота
- С. Никотиновая кислота
- Д. Салициловая кислота
- Е. Фолиевая кислота

Объяснение

При действии на алкилбенzenы сильных окислителей (MnO_2 , KMnO_4 , $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ [H^+] и т.п.) окислению подвергаются боковые карбоновые цепи. При этом каждый алкильный радикал в бензольном кольце, независимо от длины карбоновой цепи, окисляется до карбоксильной группы. В результате образуются ароматические карбоновые кислоты:

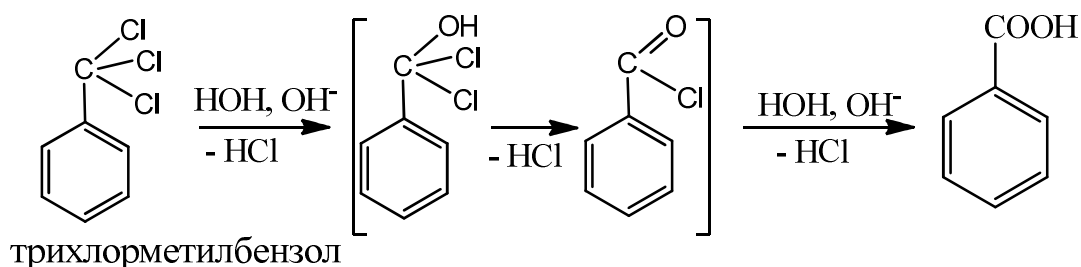
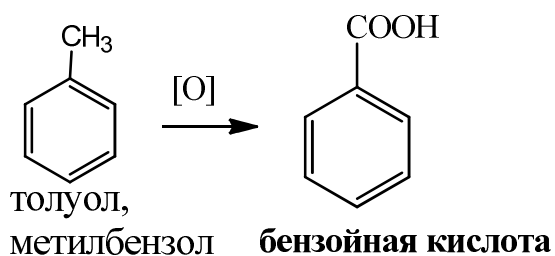


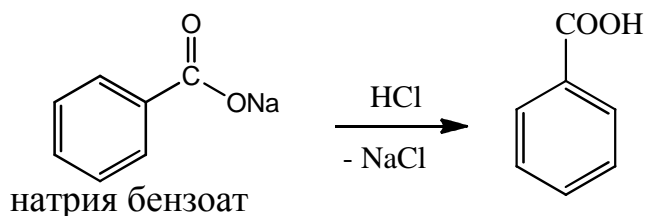
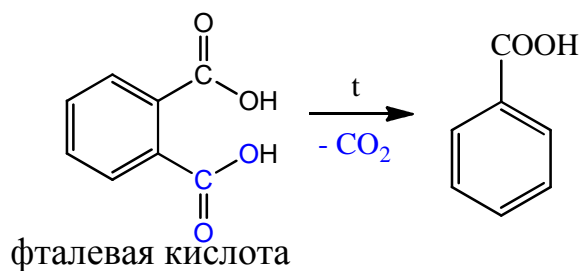
2. Среди приведенных методов укажите тот, с помощью которого невозможно получить бензойную кислоту:

- A. *Бромирование толуола
- B. Окисление толуола
- C. Гидролиз трихлорметилбензола
- D. Декарбоксилирование фталевой кислоты
- E. Действие HCl на бензоат натрия

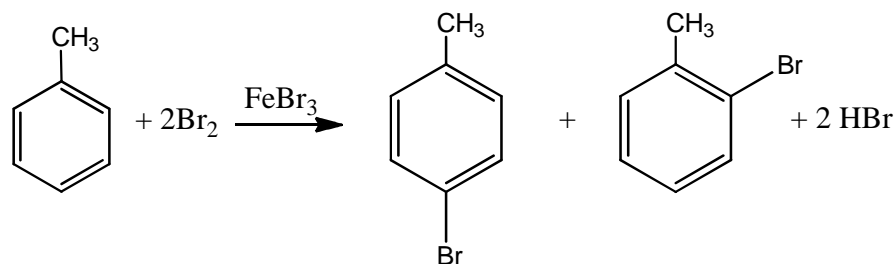
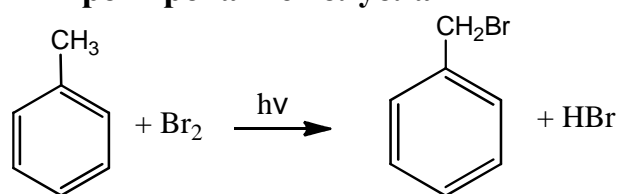
Объяснение

Получение бензойной кислоты





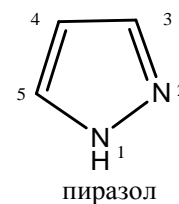
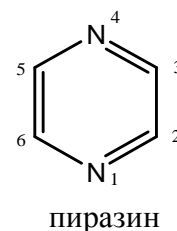
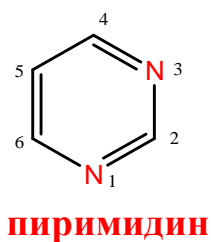
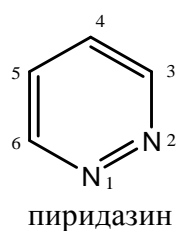
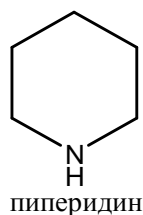
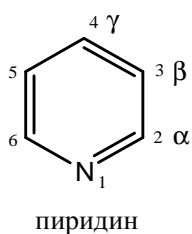
Бромирование толуола



3. При конденсации замещенных малоновых эфиров с мочевиной можно получить лекарственные средства, принадлежащие к производным:

- A. *Пиримидина
- B. Пиридина
- C. Пиразина
- D. Пиридазина
- E. Пиразола

Объяснение

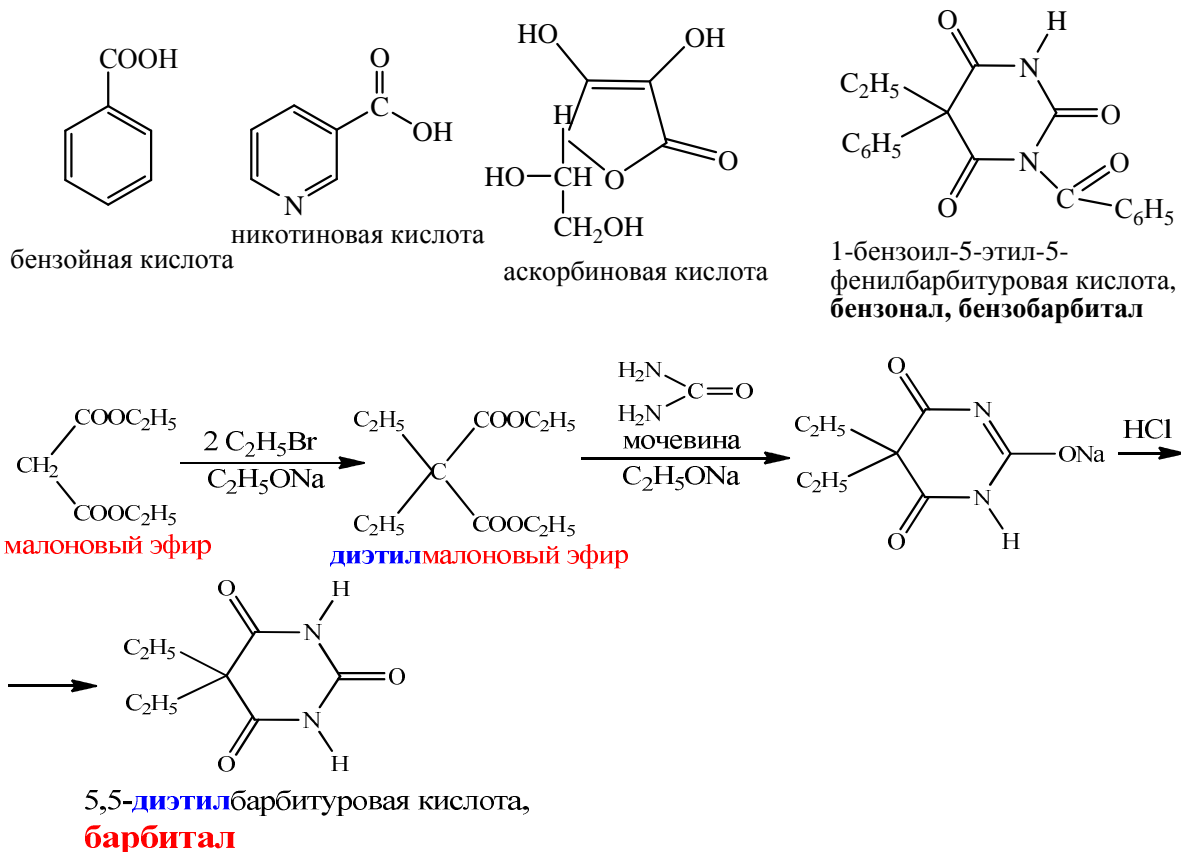




4. Какое лекарственное вещество синтезируют по реакции между диэтилмалоновым эфиром и мочевиной в присутствии натрия этилата с последующей обработкой соляной кислотой?

- A. *Барбитал
- B. Бензойную кислоту
- C. Бензонал
- D. Никотиновую кислоту
- E. Аскорбиновую кислоту

Объяснение

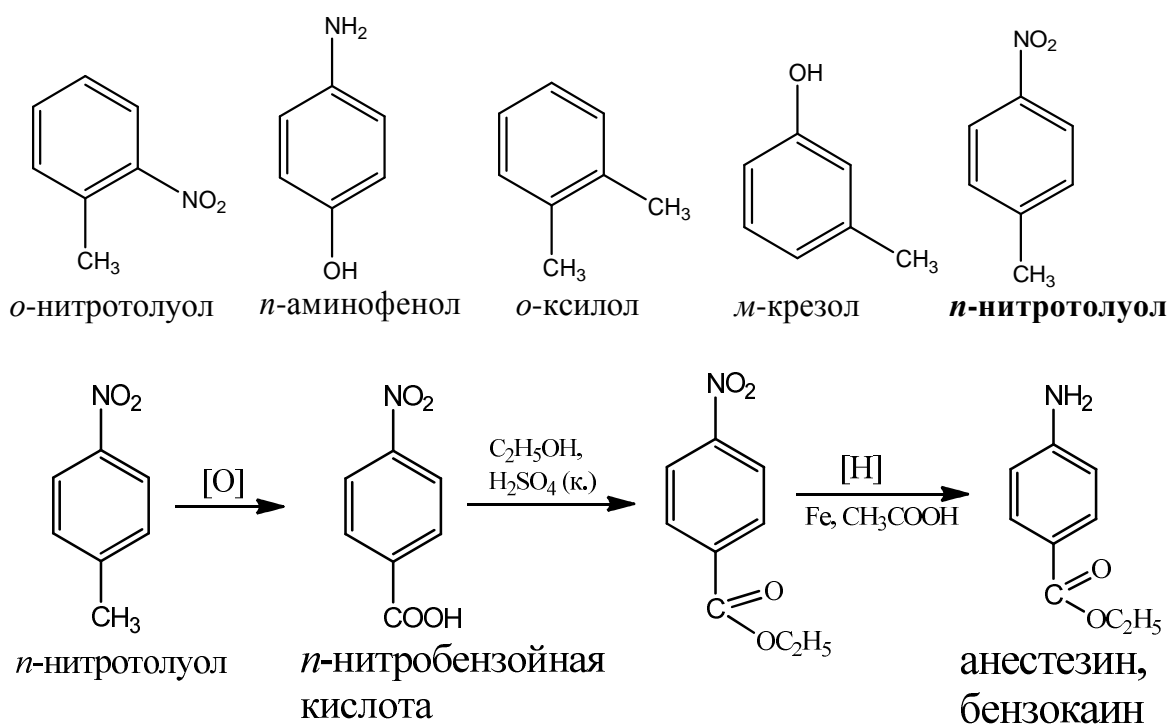


5. Какое из нижеприведенных соединений является исходным веществом для синтеза анестезина?

- A. **n*-Нитротолуол
- B. *o*-Нитротолуол
- C. *n*-Аминофенол
- D. *o*-Ксилол
- E. *m*-Крезол

Объяснение

Анестезин – производное *n*-аминобензойной кислоты.

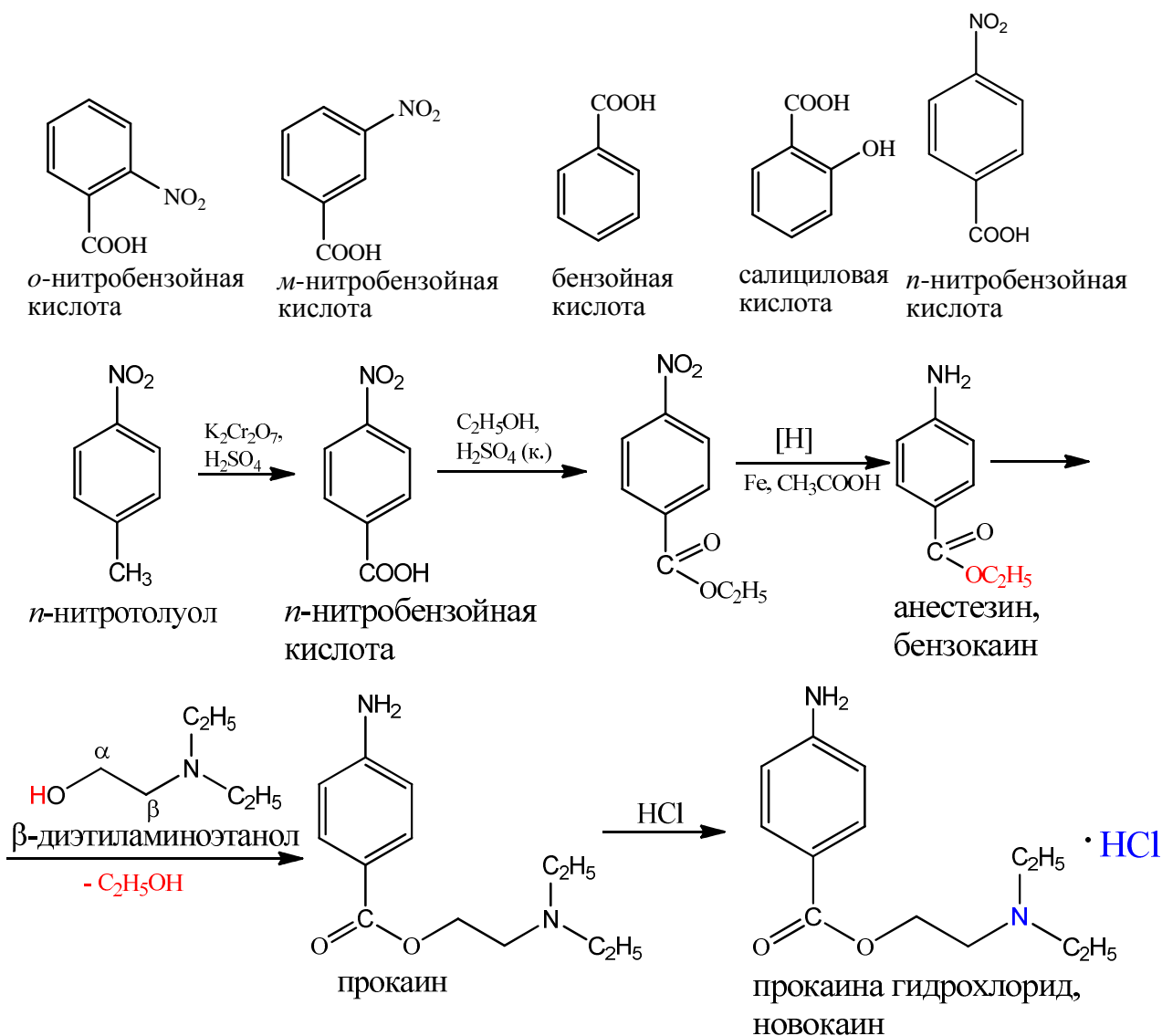


6. Лекарственное средство «Новокаин» [Novocainum, Procaine hydrochloride] можно синтезировать из:

- A. **para*-Нитробензойной кислоты
- B. *орто*-Нитробензойной кислоты
- C. *мета*-Нитробензойной кислоты
- D. Бензойной кислоты
- E. Салициловой кислоты

Объяснение

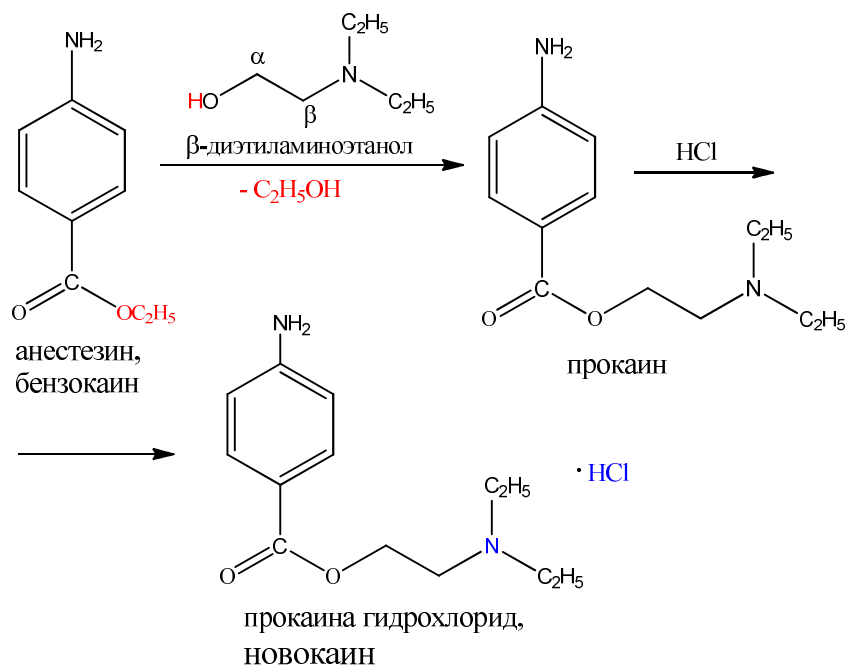
Новокаин – производное *p*-аминобензойной кислоты.



7. На химико-фармацевтическом предприятии осуществляется синтез лекарственного вещества путем взаимодействия анестезина с β -диэтиламиноэтанолом (в присутствии натрия этилата) с последующим подкислением кислотой хлористоводородной. Укажите, какое лекарственное средство получают по такой схеме:

- А. *Прокаина гидрохлорид
- В. Дикаин
- С. Ксикаин
- Д. Тримекаин
- Е. Прокаинамида гидрохлорид

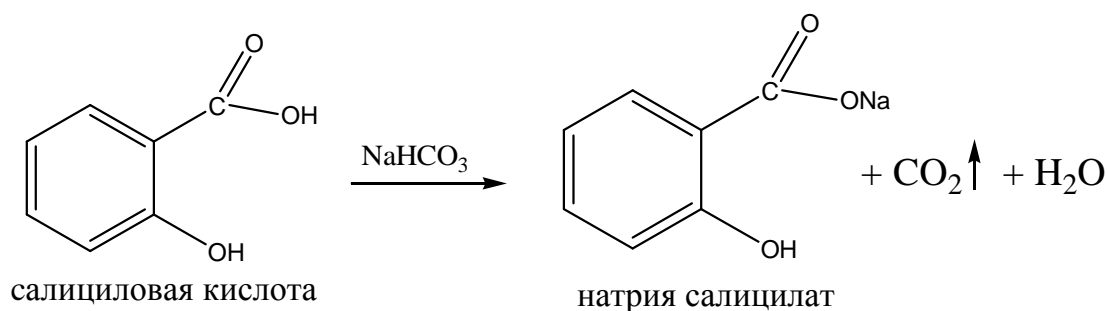
Объяснение



8. Натрия салицилат [Natrii salicylas] получают взаимодействием салициловой кислоты с:

- A. * $NaHCO_3$
- B. $NaNO_3$
- C. NaH
- D. $NaOH$
- E. Na [мет.]

Объяснение

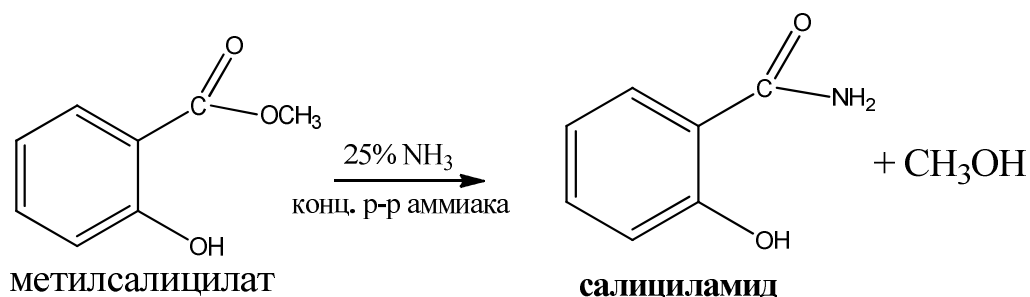


9. Промышленным способом получения лекарственного средства салициламида [Salicylamidum] является взаимодействие:

- A. *Метилсалицилата с концентрированным раствором NH_3
- B. Фенилсалицилата с концентрированным раствором NH_3
- C. Салициловой кислоты с NH_3

- D. Ангидрида салициловой кислоты с NH_3
 E. Хлорангидрида салициловой кислоты с NH_3

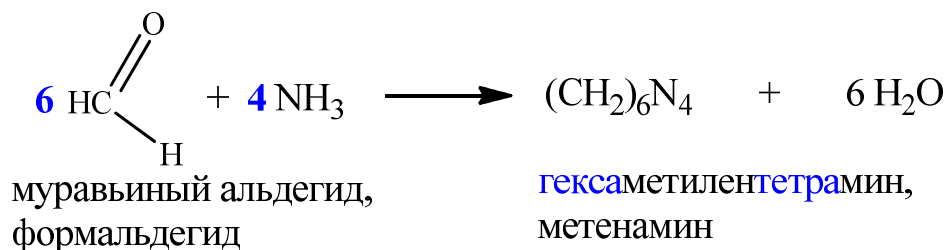
Объяснение



10. Какое лекарственное средство синтезируют путем конденсации муравьиного альдегида с аммиаком в соотношении 6:4?

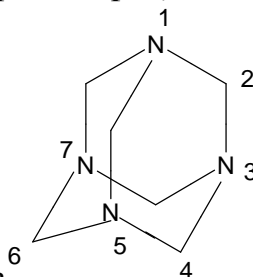
- A. *Метенамин
 B. Формалин
 C. Формамид
 D. Мепротан
 E. Фторотан

Объяснение



Синонимы метенамина: гексаметилентетрамин, уротропин.

Химическое название *тетраазаадамантан* или *1,3,5,7-тетраазатрициклодекан*

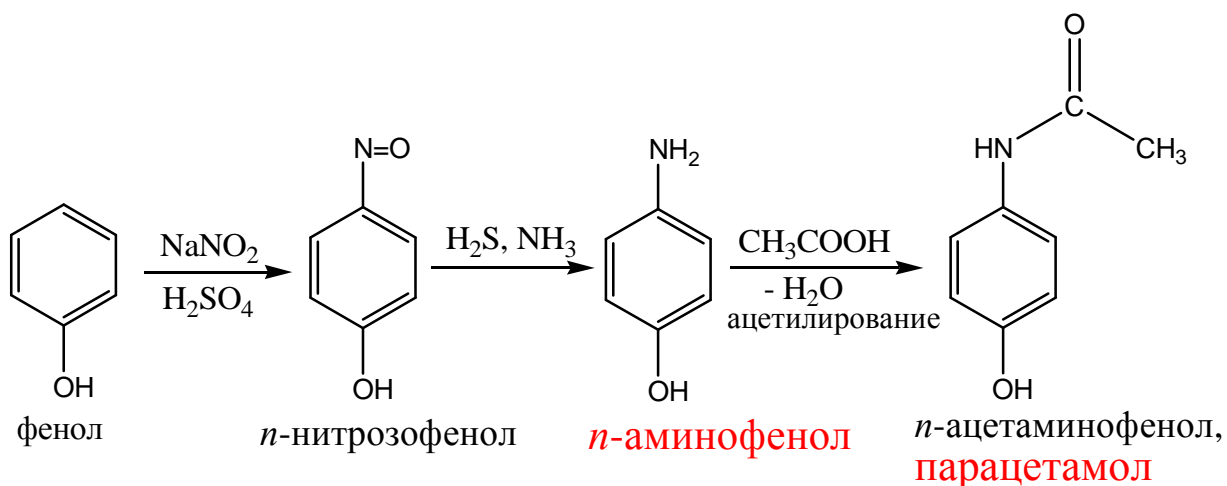
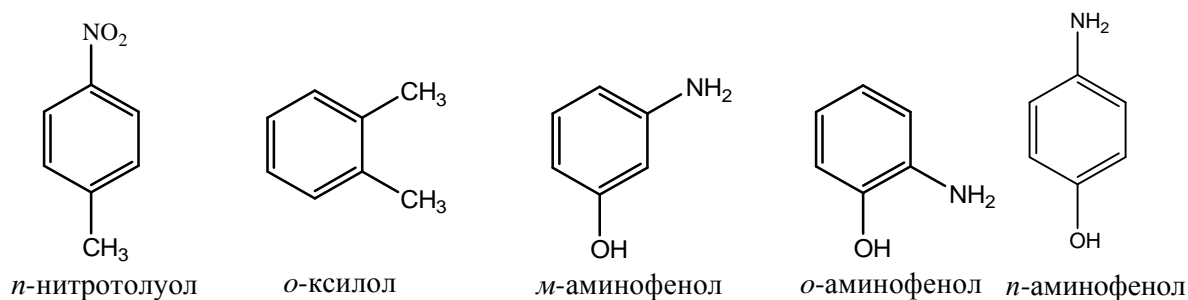


Структурная формула метенамина

11. Какое из нижеприведенных соединений является исходным для синтеза лекарственного средства парацетамол?

- A. **n*-Аминофенол
- B. *n*-Нитротолуол
- C. *m*-Аминофенол
- D. *o*-Аминофенол
- E. *o*-Ксилол

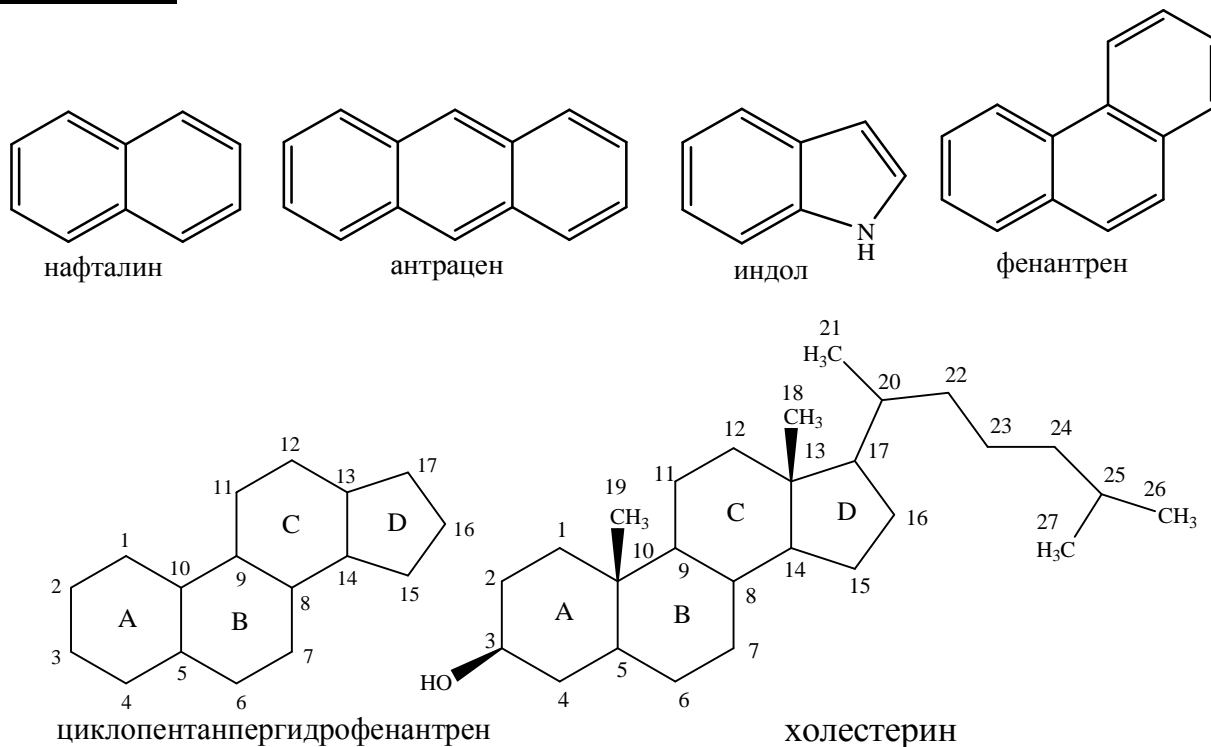
Объяснение



12. Структурной основой стероидных гормонов является скелет углеводорода циклопентанпергидрофенантрена. Какое природное соединение используют для получения тестостерона пропионата?

- A. *Холестерин
- B. Индол
- C. Нафталин
- D. Фенантрен
- E. Антрацен

Объяснение

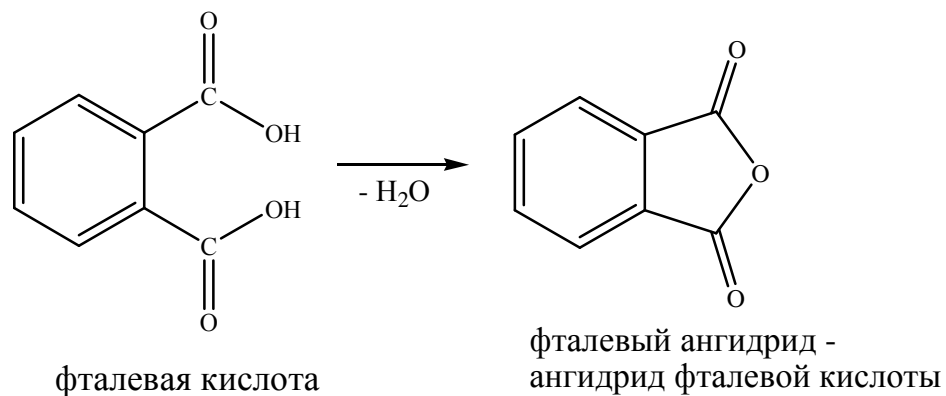


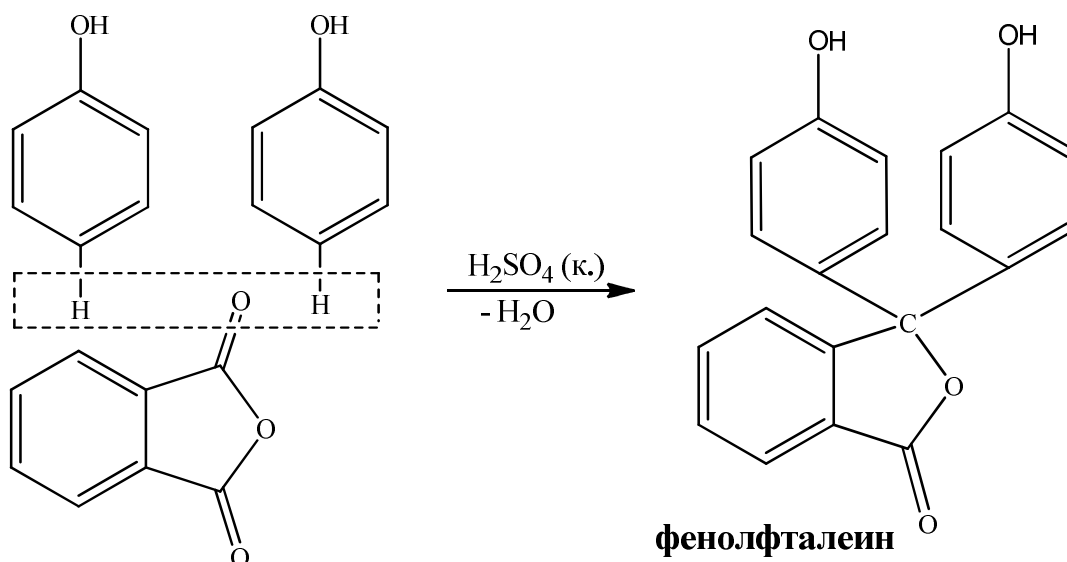
13. Фенолфталеин входит в состав лекарственного средства «Пурген».

Синтез фенолфталеина осуществляется путем конденсации фенола с:

- A. *Фталевым ангидридом
- B. Фталевым альдегидом
- C. *o*-Фталевой кислотой
- D. Формальдегидом
- E. Фтивазидом

Объяснение

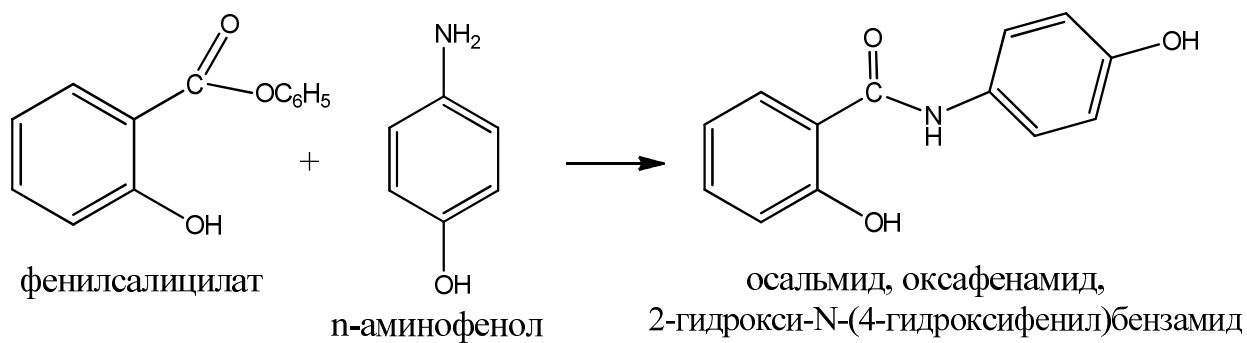




14. Оксафенамид [Oxaphenamidum, Osalmid] получают из фенолсалицилата:

- А. *Конденсацией фенолсалицилата с *n*-аминофенолом
- В. Окислением фенолсалицилата
- С. Конденсацией фенолсалицилата с толуолом
- Д. Гидролизом фенолсалицилата
- Е. Конденсацией фенолсалицилата с бензолом

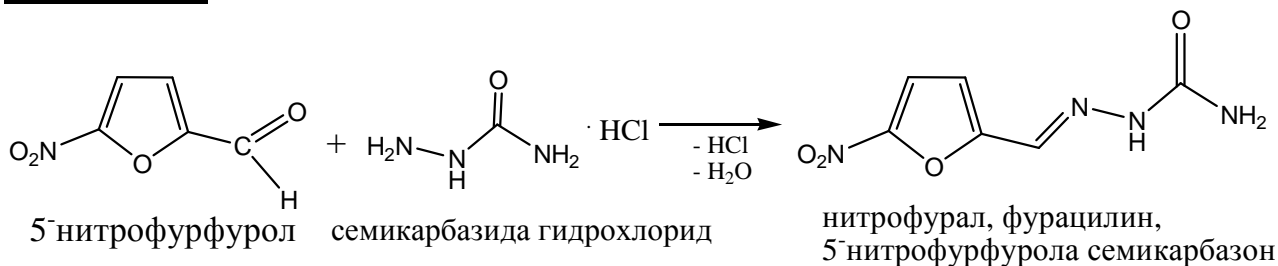
Объяснение



15. Какие соединения являются исходными в синтезе фурацилина?

- А. *5-Нитрофурфурол, семикарбазид
- В. Формальдегид, мочевина
- С. 2-Меркаптопурин, тиосемикарбазид
- Д. 1-Аминогидантион, мочевина
- Е. Тиосемикарбазид, тиомочевина

Объяснение

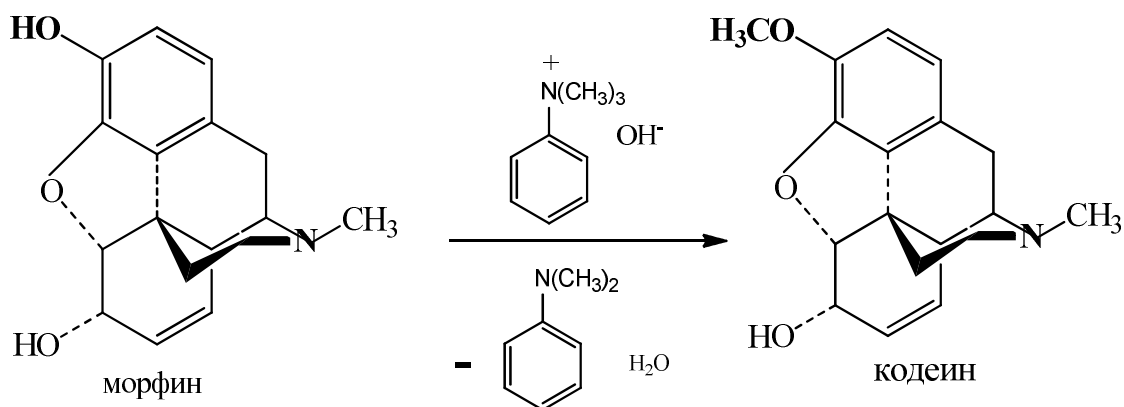


16. Лекарственное средство кодеин получают полусинтетически – путем метилирования природного алкалоида:

- А. *Морфина
- В. Папаверина
- С. Кофеина
- Д. Атропина
- Е. Кониина

Объяснение

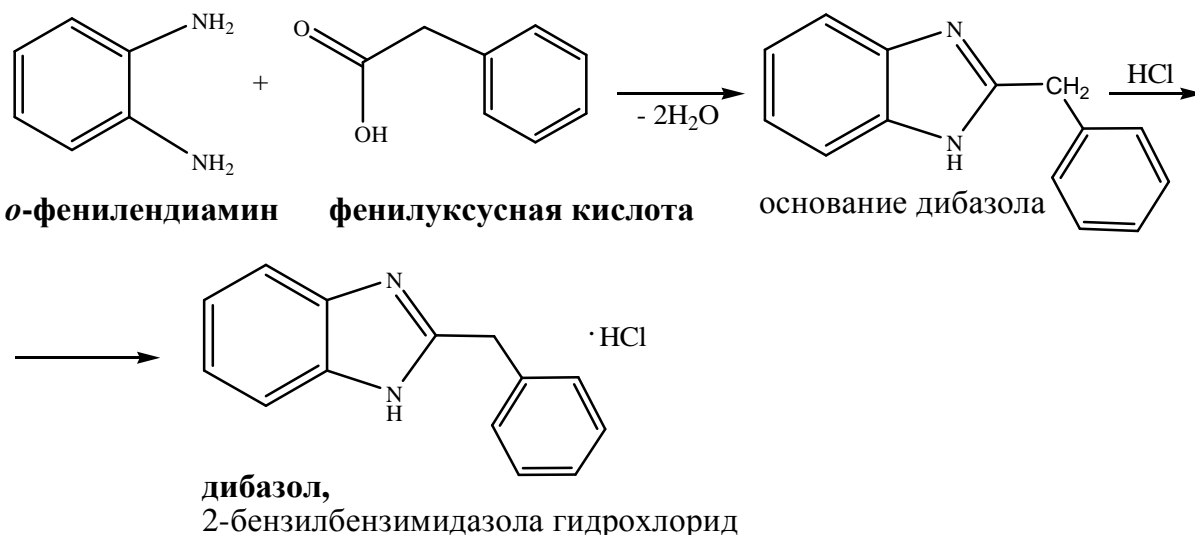
Кодеин (асимметричный простой эфир) получают метилированием морфина по фенольному гидроксилу триметилфенилammоний гидроксидом. Использование в качестве метилирующих агентов метилгалогенидов нежелательно, так как при этом метилируется также и третичный атом азота, что снижает выход основного продукта.



17. Конденсацией *o*-фенилендиамина с фенилуксусной кислотой получают:

- А. *Дибазол
- В. Неодикумарин
- С. Нитрофурал
- Д. Натрия диклофенак
- Е. Фенилбутазон

Объяснение



ФИЗИЧЕСКИЕ И ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ

ОПРЕДЕЛЕНИЕ РАСТВОРИМОСТИ

Для указания растворимости ГФУ использует описательные термины, которые в температурном интервале от 15 °С до 25 °С, имеют следующий смысл, изложенный в табл. 1:

Таблица 1

Классификация растворимости веществ по ГФУ

Термин	Примерное количество растворителя (мл), необходимое для растворения 1 г вещества	
Очень легко растворимый	до 1	
Легко растворимый	больше 1	до 10
Растворимый	больше 10	до 30
Умеренно растворимый	больше 30	до 100
Мало растворимый	больше 100	до 1000
Очень мало растворимый	больше 1000	до 10000
Практически не растворимый	больше 10000	
Частично растворимый	Термин используется для характеристики смесей, содержащих как растворимые, так и нерастворимые компоненты	
Смешивается с ...	Термин используется для характеристики жидкостей, смешивающихся с указанным растворителем во всех соотношениях	

1. Как известно, одним из основных факторов, влияющих на растворимость вещества, является температура. Согласно ГФУ, определение растворимости исследуемого вещества необходимо проводить при температуре:

- А. *От 15 °С до 25 °С
- В. Не выше 20 °С
- С. При 100 °С
- Д. От 4 °С до 10 °С
- Е. От 0 °С до 10 °С

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ ПЛАВЛЕНИЯ

Температура плавления – это температура, при которой вещество переходит из твердого состояния в жидкое. Согласно ГФУ, под *температурой плавления* понимают интервал температур между началом плавления (появление первой капли жидкости) и концом плавления (полным переходом вещества в жидкое состояние). Интервал между началом и концом плавления называют диапазоном плавления, он не должен превышать 2 °С, если нет других указаний в отдельной статье.

Температура плавления – важная физическая константа лекарственного вещества. Наличие примесей в лекарственном веществе, как правило, снижает его температуру плавления (явление депрессии температуры плавления).

Поэтому в фармацевтическом анализе эту физическую величину используют для определения, как идентичности, так и степени чистоты лекарственных веществ.

В зависимости от физических свойств лекарственных веществ определение температуры плавления проводят различными методами.

Температуру плавления твердых веществ, которые легко превращаются в порошок, определяют капиллярным методом, методом мгновенного плавления и инструментальным. Открытый капиллярный метод и метод каплепадения применяют для веществ, которые имеют аморфную структуру, не растираются

в порошок и плавятся ниже температуры кипения воды, таких как жиры, воск, парафин, вазелин, смолы.

Капиллярный метод

Температура плавления, определенная капиллярным методом, - это температура, при которой последняя твердая часть уплотненного столбика вещества в капиллярной трубке переходит в жидкую фазу. Целый ряд органических соединений при плавлении разлагается (наблюдается резкое изменение внешнего вида вещества, например потемнение, вспенивание). Такую температуру называют *температурой разложения*.

Для измерения температуры плавления капиллярным и открытым капиллярным методами используют прибор (рис. 1), состоящий из подходящего стеклянного сосуда, содержащего жидкость (например, воду, вазелиновое или силиконовое масло), и который используется в качестве бани и оснащен подходящим устройством для нагрева и термометром с ценой деления не более $0,5^{\circ}\text{C}$. Исследуемое вещество помещают в запаянные с одного конца капиллярные трубки из бесщелочного прочного стекла, диаметром от 0,9 до 1,1 мм.

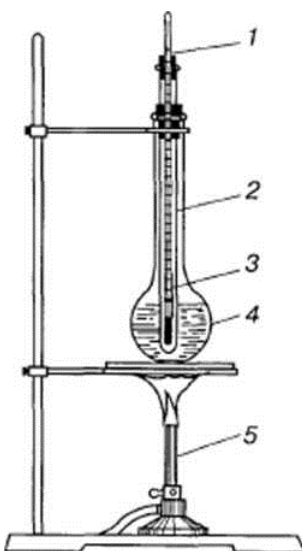


Рис. 1. Прибор для определения температуры плавления

Если нет других указаний в монографии, тонко измельченное в порошок вещество высушивают в вакууме над силикагелем безводным в течение 24 часов. Достаточное количество вещества помещают в запаянную с одного конца капиллярную трубку (далее - капилляр) до получения уплотненного столбика

вещества высотой от 4 до 6 мм. Необходимое уплотнение вещества при заполнении капилляра можно получить, если его несколько раз бросить запаянным концом вниз в стеклянную трубку длиной не менее 1.0 м, поставленную вертикально на твердую поверхность.

Повышают температуру бани до температуры, приблизительно на 10 °С ниже предполагаемой температуры плавления, и затем продолжают нагревание со скоростью около 1 °С в мин. Когда температура достигнет значения на 5 °С ниже предполагаемой температуры плавления, капилляр помещают в прибор так, чтобы его запаянный конец был на уровне центра шарика термометра. Отмечают температуру, при которой последняя твердая частичка перейдет в жидкую фазу.

Проводят не менее двух определений. За температуру плавления принимают среднее значение. Расхождение между определениями не должно превышать 1 °С.

Открытый капиллярный метод

Используют стеклянную капиллярную трубку, открытую с обоих концов, длиной около 80 мм, с наружным диаметром от 1,4 до 1,5 мм и внутренним диаметром от 1,0 до 1,2 мм.

Вещество, предварительно обработанное, как указано в соответствующей монографии, помещают в пять капилляров в количестве, достаточном для формирования в каждом столбика высотой около 10 мм.

Для проведения испытания используют прибор такой же, как и для капиллярного метода, но термометр с ценой деления 0,2 °С.

За температуру плавления принимают температуру, при которой вещество начинает подниматься по капиллярной трубке. В тех случаях, когда столбик вещества не поднимается в капилляре, за температуру плавления принимают температуру, при которой столбик вещества в капилляре становится прозрачным.

Повторяют эту операцию с четырьмя другими капиллярами и рассчитывают результат как среднее из пяти значений.

Метод мгновенного плавления

Температуру плавления по этому методу рассчитывают по формуле:

$$\frac{t_1 + t_2}{2}$$

где

t_1 - первая температура, при которой вещество мгновенно плавится при соприкосновении с металлическим блоком прибора;

t_2 - вторая температура, при которой вещество мгновенно прекращает плавиться.

Прибор состоит из металлического блока, изготовленного из материала, который обладает высокой теплопроводностью и не реагирует с испытуемым веществом, например из латуни. Верхняя поверхность блока должна быть плоской и тщательно отполированной. Блок равномерно нагревают по всей массе. Он также имеет достаточно широкую цилиндрическую полость для размещения термометра.

Блок быстро нагревают до температуры на 10 °С ниже от предполагаемой температуры плавления, и затем устанавливают скорость нагрева около 1°С в мин. Несколько частичек тонкоизмельченного в порошок вещества, высушенного в вакууме над силикагелем безводным в течение 24 ч, бросают через равные промежутки времени на поверхность блока в непосредственной близости от шарика термометра, очищая поверхность после каждого испытания. Записывают температуру t_1 , при которой вещество плавится мгновенно при соприкосновении с металлом. Прекращают нагрев. Во время охлаждения через равные промежутки времени бросают несколько частиц вещества на поверхность блока, очищая ее после каждого испытания. Записывают температуру t_2 , при которой вещество прекращает мгновенно плавиться при соприкосновении с металлом.

Температура каплепадения

Температура каплепадения представляет собой температуру, при которой в условиях, приведенных ниже, первая капля расплавленного испытуемого вещества падает из чашечки прибора.

Прибор (рис. 2) состоит из двух металлических гильз (А) и (В), соединенных друг с другом с помощью нарезки. Гильза (А) прикреплена к ртутному термометру.

В нижней части гильзы (В) с помощью двух уплотнителей (Е) свободно закреплена металлическая чашечка (F). Точное положение чашечки определяется фиксаторами (D) длиной 2 мм, которые используются также для центрирования термометра. Отверстие (С) в стенке гильзы (В) предназначено для выравнивания давления. Отводящая поверхность чашечки должна быть плоской, а края выходного отверстия - под прямым углом к поверхности. Термометр градуирован от 0 °С до 110 °С и расстояние на шкале в 1 мм соответствует разности температур в 1 °С.

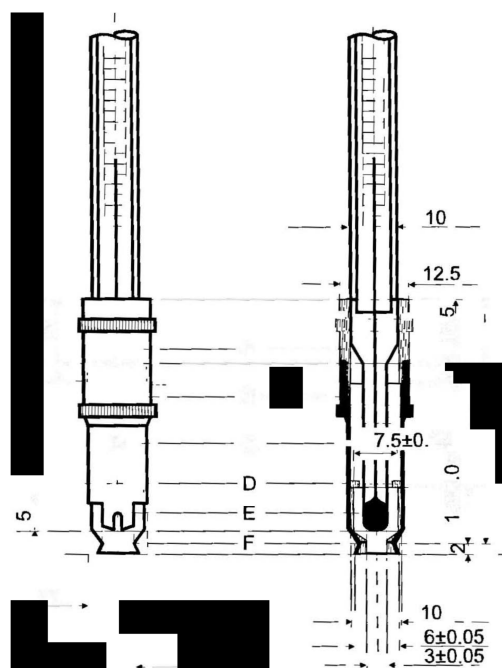


Рис. 2. Прибор для определения температуры каплепадения
(размеры приведены в миллиметрах)

Прибор устанавливают по оси пробирки длиной около 200 мм и наружным диаметром около 40 мм.

Прибор прикрепляют к пробирке с помощью пробки, в которую вставлен термометр и которая имеет боковой проем. Отверстие чашечки должно находиться на расстоянии около 15 мм от дна пробирки. Все устройство погружают в стакан вместимостью около 1 л, заполненный водой. Дно пробирки должно находиться на расстоянии около 25 мм от дна стакана. Уровень воды должен достигать верхней части гильзы (А). Для равномерного распределения температуры в стакане используют мешалку.

Методика. Заполняют чашечку до краев нерасплавленным испытуемым веществом, если нет других указаний в отдельной статье. Избыток вещества удаляют с обеих сторон шпателем. После того, как гильзы (А) и (В) соединены, проталкивают чашечку внутрь на ее место в гильзе (В) до упора. Удаляют шпателем вещество, выдавленное термометром. Прибор помещают в водяную баню, как описано выше. Водяную баню нагревают до температуры примерно на 10 °С ниже предполагаемой температуры каплепадения и устанавливают скорость нагрева около 1 °С в мин. Отмечают температуру падения первой капли. Проводят не менее трех определений, каждый раз с новым образцом вещества. Разница между показаниями не должна превышать 3 °С. За температуру каплепадения принимают среднее значение.

Инструментальный метод

Метод заключается в измерении температуры плавления капиллярным методом с использованием инструментальной методики определения.

По принципу работы есть 2 конструкции прибора:

Способ А: определение по свету, который прошел через капиллярную трубку, заполненную образцом;

Способ В: определение по свету, отраженному от образца в капиллярной трубке.

В обоих способах капиллярная трубка расположена в корпусе полого металлического блока с электроподогревом и контролем температуры с помощью температурного датчика, расположенного в другом металлическом блоке. Нагревательный элемент способен поддерживать предварительно заданную

температуру в блоке нагрева с точностью (± 0.1) °C и проводить постепенное нагревание с постоянной скоростью 1 °C в мин. после начального изотермического периода.

В способе А луч света светит через горизонтальную щель и проходит через капиллярную трубку. В конце цилиндрической щели излучение детектируется сенсором.

В способе В луч света освещает капиллярную трубку спереди и сенсором регистрируется его отражение.

Некоторые приборы позволяют определять температуру плавления визуально.

Начальное значение температуры, при которой будет получен первый сигнал сенсора, определяют как начало плавления; и температуру, при которой сигнал сенсора прерывается, определяют как конец плавления или *температуру плавления*.

Используют стеклянные капиллярные трубки, открытые с одного конца, около 100 мм длиной, с внешним диаметром от 1.3 мм до 1.5 мм и внутренним диаметром от 0.8 мм до 1.3 мм. Толщина стенок трубок должно быть от 0.1 мм до 0.3 мм.

Некоторые приборы позволяют определять температуру плавления в более чем в 1 капиллярной трубке.

Методика. Испытуемую субстанцию, заранее подготовленную, как указано в отдельной статье, помещают в капиллярную трубку в количестве, достаточном для формирования плотного столбика высотой около 4 мм.

Повышают температуру блока нагрева до тех пор, пока температура не станет на 5 °C ниже предполагаемой температуры плавления.

Капиллярную трубку помещают в блок нагрева запаянным концом вниз. Включают нагрев с программируемым повышением температуры. Когда субстанция начнет плавиться, меняется ее внешний вид в капиллярной трубке. В результате, значения температур блока нагрева автоматически регистрируются

в соответствии с изменениями сигнала фотосенсора, который зависит от пропускания света (способ А, рис. 3) или обработки данных (способ В, рис. 4).

Проводят испытания на двух образцах и рассчитывают среднее значение результатов 3 определений для каждого образца.

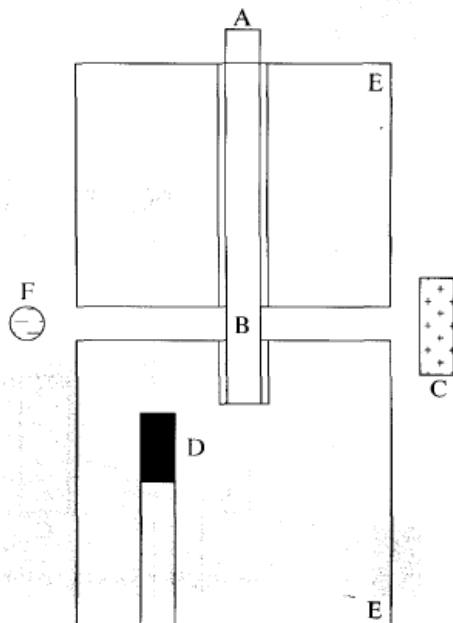


Рис. 3. Способ А. Пропускание: А) стеклянная капиллярная трубка; В) образец; С) фотосенсор; D) температурный датчик; Е) блок нагрева; F) источник света

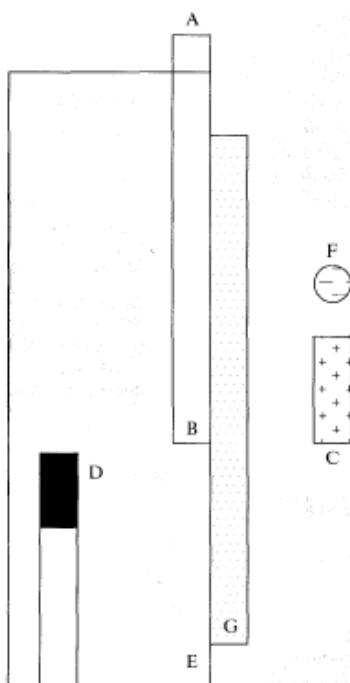


Рис. 4. Способ В. Отражение: А) стеклянная капиллярная трубка; В) образец; С) датчик изображения D) температурный датчик; Е) блок нагрева; F) источник света; G) прозрачная пластина

ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ

1. Температура плавления является важной физической константой лекарственных средств. В фармакопейном анализе определение температуры плавления позволяет провизору-аналитику определить:

- A. *Идентичность и степень чистоты лекарственного вещества
- B. Количество летучих веществ и воды в препарате
- C. Потерю в весе при высушивании субстанции лекарственного вещества
- D. Количественное содержание лекарственного вещества
- E. Устойчивость лекарственного вещества к воздействию внешних факторов

2. Определение температуры плавления в фармакопейном анализе проводят разными методами в зависимости от физических свойств лекарственных веществ. Укажите метод, который используют для определения температуры плавления твердых веществ, которые легко превращаются в порошок:

- A. *Капиллярный
- B. Открытый капиллярный
- C. Метод затвердевания
- D. Гравиметрический
- E. Метод каплепадения

3. Каким методом, согласно ГФУ, специалист контрольно-аналитической лаборатории определяет температуру плавления кислоты ацетилсалициловой?

- A. *Метод мгновенного плавления
- B. Капиллярный метод
- C. Открытый капиллярный метод
- D. Метод каплепадения
- E. Метод затвердевания

4. Согласно ГФУ, одним из методов идентификации пентоксифиллина является определение его температуры плавления, которое проводят: *Капиллярным методом

- В. Открытым капиллярным методом
- С. Определением температуры каплепадения
- Д. Методом капиллярной вискозиметрии
- Е. Методом ротационной вискозиметрии

5. Согласно ГФУ, одним из методов идентификации прокаинамида гидрохлорида является определение его температуры плавления, которое проводят:

- А. *Капиллярным методом
- В. Открытым капиллярным методом
- С. Определением температуры каплепадения
- Д. Методом капиллярной вискозиметрии
- Е. Методом ротационной вискозиметрии

6. Согласно ГФУ, при определении температуры плавления методом мгновенного плавления расчет проводят по формуле:

А. $*\frac{t_1+t_2}{2}$

В. $\frac{n-n_0}{F}$

С. $\frac{a}{b}$

Д. $\frac{100 \cdot (n_2 - n_1)}{m}$

Е. $t_1 = t_2 + k \cdot (101,3 - b)$

7. Согласно ГФУ, при определении температуры плавления открытым капиллярным методом необходимо проводить операцию с капиллярными трубками в количестве:

- А. *Пяти
- В. Трех
- С. Двух
- Д. Десяти
- Е. Четырех

8. Согласно ГФУ, для подготовки определения температуры плавления капиллярным методом, если нет других требований в отдельной статье, тонко измельченный порошок необходимо:

- А. *Сушить в вакууме над силикагелем безводным - 24 часа
- В. Сушить в вакууме надфосфора (V) оксидом - 12 часов
- С. Сушить в сушильном шкафу при температуре 100-105 °С - 1 час
- Д. Сушить в сушильном шкафу при температуре 50 °С - 2 часа
- Е. Выдерживать в сухом воздухе - 30 минут

РЕФРАКТОМЕТРИЯ

Рефрактометрия основана на наблюдении предельных границ преломления или полного внутреннего отражения луча света при переходе из одной среды в другую. Это явление обусловлено разной скоростью распространения света в различных средах (V_1 и V_2 соответственно). Для данных двух сред постоянной величиной является *показатель преломления (индекс рефракции)*. Показатель преломления (n) является отношением скорости распространения света в вакууме к скорости распространения света в растворе, который определяется, – это абсолютный показатель преломления. На практике определяют относительный показатель преломления – отношение скорости распространения света в воздухе к скорости распространения света в растворе, который определяется.

Показатель преломления среды также равняется отношению синуса угла падения α луча света к синусу угла его преломления β в данной среде (рис. 5).

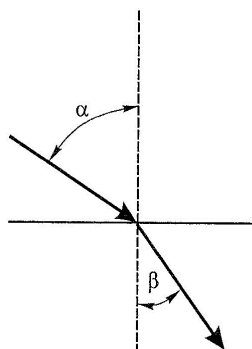


Рис. 5. Ход светового луча через границу раздела двух фаз:
 α – угол падения; β – угол преломления

Таким образом, физический смысл показателя преломления отражает равенство:

$$n = \frac{V_1}{V_2} = \frac{\sin a}{\sin b} .$$

Для определения показателя преломления используют приборы *рефрактометры*. В таких приборах основной частью является призма с известным показателем преломления, которая находится в контакте с испытуемым веществом. Для калибровки рефрактометра используют эталонные жидкости или воду очищенную.

Величина показателя преломления зависит от: а) природы вещества; б) температуры; в) концентрации раствора; г) длины волны света. Если нет других указаний в монографии, определение показателя преломления проводят при температуре $(20 \pm 0,5)$ °С при длине волны линии D спектра натрия ($\lambda = 589,3$ нм). Показатель преломления, определенный при таких условиях, обозначают n_D^{20} . Например, для воды очищенной он равен 1,3330.

Влияние температуры в рефрактометрии сводят к минимуму путем выдерживания в одинаковых условиях исследуемого раствора и чистого растворителя рядом с рефрактометром (в течение 30 – 40 мин) либо термостатированием призмных блоков рефрактометра. Также поправку на температуру можно рассчитать исходя из следующей формулы: $n_D^t = n_D^{20} + (20 - t) \cdot 0,0002$.

Существуют некоторые особенности технике выполнения рефрактометрических измерений.

Определение твёрдых тел. На полированную поверхность образца наносят небольшую каплю иммерсионной жидкости¹ и кладут его на измерительную призму рефрактометра. Установка образца является идеальной при одноцветной окраске плоскости соприкосновения образца и призмы.

Определение жидких тел (растворов). На чистую полированную поверхность измерительной призмы стеклянной палочкой или пипеткой осторожно наносят 2-3 капли жидкости. Опускают осветительную призму. Измерение бесцветных прозрачных жидкостей проводят в проходящем свете, когда он проходит через открытое окно осветительной призмы, при этом окно измерительной призмы должно быть закрыто зеркалом.

Определение окрашенных и мутных проб. Измерение проводят в отраженном свете. Для этого закрывают заслонку на осветительной призме и открывают зеркало, с помощью которого направляют свет в измерительную призму, при этом тёмное и светлое поля меняются местами.

В аптечной практике рефрактометрия наиболее часто используется для *количественного определения жидких лекарственных форм*, концентратов и заготовок. По найденной величине показателя преломления вычисляют концентрацию раствора следующими способами.

1. Расчет концентрации для однокомпонентных растворов.

а) на основе зависимости показателя преломления раствора от концентрации. При этом пользуются формулой:

$$C = \frac{n - n_0}{F},$$

где

C – концентрация, %;

n – показатель преломления испытуемого раствора;

¹ Иммерсия (лат. *immersio* – погружение).

Иммерсионный анализ – для выполнения анализа сравнивают под микроскопом показатели преломления жидкости и погруженного в нее вещества. Для анализа используют иммерсионные жидкости (йодистый метилен, α -бромнафталин, ртутно-йодистокалиевые соли).

n_0 – показатель преломления растворителя при той же температуре;

F – рефрактометрический фактор пересчета (фактор показателя преломления), равный величине прироста показателя преломления при увеличении концентрации на 1 %.

Следует отметить, что рефрактометрический фактор F находят экспериментально. Для этого измеряют значения показателей преломления n_1 и n_2 двух растворов с содержанием определяемого вещества соответственно C_1 и C_2 , выраженного в процентах. Значения n_1 и n_2 выбирают так, чтобы величина n испытуемого раствора лежала как можно ближе к n_1 и n_2 , а сам интервал $n_2 - n_1$ был по возможности минимальным. При выполнении всех указанных условий значение F можно рассчитать по формуле:

$$F = \frac{n_2 - n_1}{C_2 - C_1} = \frac{\Delta n}{\Delta C}.$$

В практике фармацевтического анализа широко применяются специальные таблицы, в которых приведены значения рефрактометрических факторов (факторов показателя преломления) для растворов многих лекарственных веществ.

б) определение концентрации по таблицам. В соответствующей АНД приведены рефрактометрические таблицы для определения концентрации лекарственных средств, изготовленных массовым или массо-объемным способом. В таблицах даны показатели преломления и соответствующие им концентрации веществ. В некоторых таблицах приведены показатели преломления с точностью только до третьего знака. В этом случае концентрация, соответствующая значению показателя преломления, взятому с четвертым знаком, определяется интерполированием.

Пример 1.1. Показатель преломления раствора кальция хлорида 1,3453. Ближайшие показатели в таблице 1,3450 и 1,3460. Соответствующие концентрации 10 % и 10,9 %; разность между ними 0,9 % соответствует единице третьего знака. Отсюда концентрация испытуемого раствора составит:

$$10 + \frac{0,9 \cdot 3}{10} = 10,27\%.$$

2. Расчет концентрации одного из ингредиентов в жидких многокомпонентных лекарственных формах.

При этом следует установить содержание других ингредиентов подходящими методами (чаще всего устанавливаются титриметрически). Далее определяют показатель преломления данной жидкой лекарственной формы и чистого растворителя, использованного для ее приготовления. После чего концентрацию одного из ингредиентов (C_1 , %) можно рассчитать по формуле:

$$C_1 = \frac{(n - n_0) - C_2 F_2 - \dots - C_x F_x}{F_1},$$

где

n – показатель преломления жидкой лекарственной формы;

n_0 – показатель преломления растворителя при тех же условиях;

C_2 и C_x – известные концентрации веществ, %;

F_1, F_2, F_x – соответствующие рефрактометрические факторы.

При **количественном определении порошковых лекарственных форм** также можно применить рефрактометрический метод для установления содержания одного из компонентов, наиболее трудно поддающегося химическому анализу. При этом содержание других ингредиентов устанавливают подходящими методами (например, объемно-аналитическими). Далее из порошковой лекарственной формы соответствующим образом готовят раствор, для которого определяют показатель преломления (n). Также определяют показатель преломления чистого растворителя (n_0), используемого для приготовления анализируемого раствора. После чего содержание одного из ингредиентов (C_1 , г) можно рассчитать по формуле:

$$C_1 = \frac{[(n - n_0) - C_2 F_2 - \dots - C_x F_x] \cdot V \cdot B}{F_1 \cdot a \cdot 100},$$

где

C_2 и C_x – концентрации веществ в приготовленном растворе, %;

F_1, F_2, F_x – соответствующие рефрактометрические факторы;

V – объем приготовленного раствора, мл;

B – общая масса порошка по прописи, г;

a – навеска порошка, взятая для приготовления раствора.

Рассмотрим другие варианты применения рефрактометрии в анализе качества лекарственных средств.

ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ

1. Рефрактометрический метод фармацевтического анализа используется в аптеках для:

- А. *Количественного определения лекарственных веществ
- В. Качественного определения катионов
- С. Качественного определения анионов
- Д. Определения примесей в веществах
- Е. Определение концентрации ионов водорода

2. Провизору-аналитику необходимо определить показатель преломления метилсалицилата. Какой прибор он должен для этого использовать?

- А. *Рефрактометр
- В. Потенциометр
- С. Поляррограф
- Д. Поляриметр
- Е. Спектрофотометр

3. Провизор-аналитик осуществляет анализ 10% раствора кальция хлорида. Для количественного определения он использует один из физико-химических методов, измеряя показатель преломления с помощью:

- А. *Рефрактометра
- В. УФ-спектрофотометра
- С. Газового хроматографа
- Д. Потенциометра
- Е. Поляриметра

4. Провизор-аналитик аптеки контролирует состояние рефрактометра. Для его калибровки [юстировки] он использовал воду очищенную. Какое значение показателя преломления должно быть у воды очищенной?

- A. *1,3330
- B. 1,0000
- C. 1,3220
- D. 1,5555
- E. 1,3550

5. Фармацевтическое предприятие выпускает раствор кордиамина. При проведении контроля качества данного препарата химик-аналитик ЦЗЛ установил его количественное содержание методом рефрактометрии. Для этого аналитик измерил:

- A. *Показатель преломления
- B. Вязкость
- C. Плотность
- D. Интенсивность поглощения
- E. Угол вращения

6. Провизору-аналитику аптеки необходимо сделать заключение о качестве приготовления 3% раствора натрия бромиды. Количественное определение состава микстуры провизор-аналитик провел рефрактометрическим методом. Рассчитать количество натрия бромиды в этом случае можно, определив значение:

- A. *Показателя преломления
- B. Удельного показателя поглощения
- C. Оптической плотности раствора
- D. Вязкости раствора
- E. pH раствора

7. Провизор-аналитик исследует доброкачественность глицерина в соответствии с требованиями ГФУ. С помощью рефрактометра он измерил:

- А. *Показатель преломления
- В. Температуру плавления
- С. Вязкость
- Д. Плотность
- Е. Угол вращения

ПОЛЯРИМЕТРИЯ

Поляриметрический метод анализа основан на способности некоторых вещества вращать плоскость поляризации поляризованного луча света. Следует отметить, что свет, испускаемый различными источниками, не поляризован, т.е. колебания происходят во всех возможных плоскостях. Свет называют поляризованным, если колебания поля происходят в одной плоскости – плоскости поляризации.

Оптическое вращение – это свойство вещества вращать плоскость поляризации поляризованного света. Вещества, способные вращать плоскость поляризации света, называются *оптически активными*. Величина и направление вращения плоскости поляризации зависит от природы оптически активного вещества. Если для наблюдателя, к которому направлен свет, проходящий через оптически активное вещество, плоскость поляризации вращается по часовой стрелке, то такое вещество называют *правовращающим* и рядом с его названием ставят знак «+», если же плоскость поляризации вращается против часовой стрелки, то такое вещество называют *левовращающими* рядом с его названием ставят знак «-».

Величину отклонения плоскости поляризации от начального положения называют *углом вращения* и обозначают буквой α , выраженным в угловых градусах ($^{\circ}$). Эта величина зависит от природы оптически активного вещества, длины пути поляризованного света в оптически активной среде и длины волны

света, температуры, плотности (для жидких индивидуальных веществ), от концентрации оптически активного вещества и от природы растворителя (для растворов).

Измерения угла вращения вещества проводят на приборах, которые называются *поляриметрами*. Схема определения оптической активности с помощью поляриметра (рис. 5).

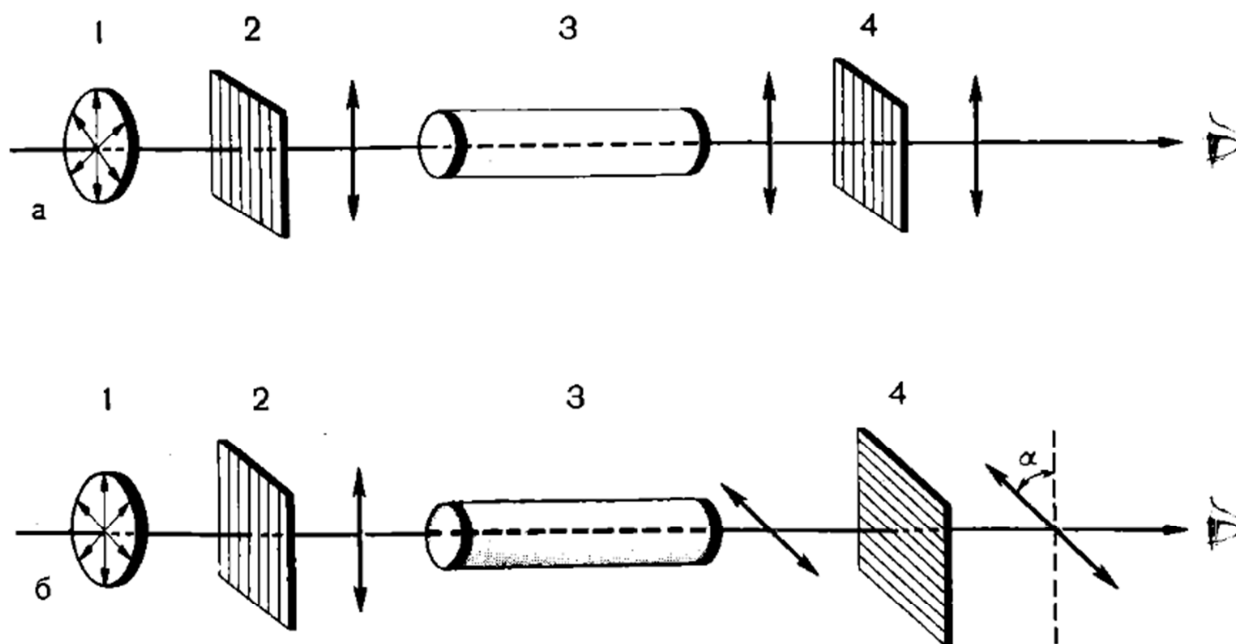


Рис. 6. Схема определения оптической активности вещества с помощью поляриметра: а – вещество оптически неактивное, б – вещество оптически активное; 1 – источник света, 2 – призма-поляризатор 3 – поляриметрическая трубка (кювета); 4 – призма-анализатор.

Основными частями поляриметра являются две призмы, между которыми размещается поляриметрическая трубка (кювета). Одна из этих призм неподвижно закреплена и называется *поляризатором* (2). Она поляризует световой луч, исходящий от *источника света* (1), то есть превращает неполяризованный свет в поляризованный. Другая призма – подвижная (ее можно поворачивать), называется *анализатором* (4). Анализатор пропускает сквозь себя поляризованный свет, который прошел через *поляриметрическую трубку* (3).

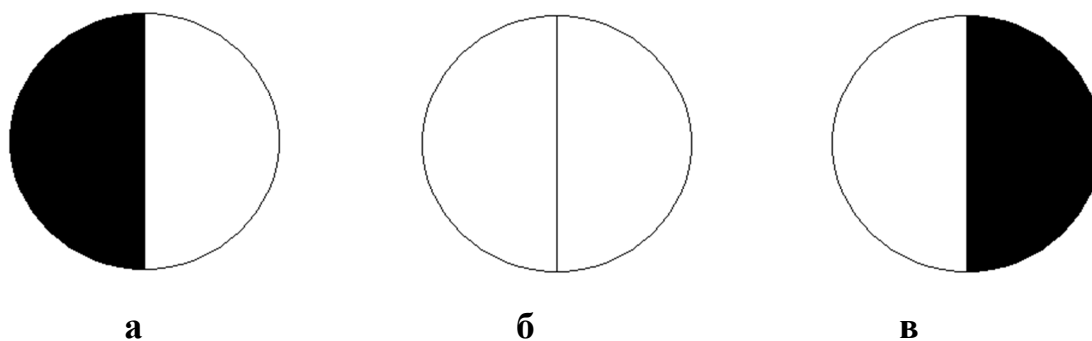


Рис. 7. Поле зрения в окуляре поляриметра

Если вещество оптически неактивное (рис. 7, а), то при одинаковой ориентации двух призм поляризованный свет проходит через анализатор полностью и без изменения положения плоскости поляризации (наблюдают равномерно освещенное поле зрения – рис. 7, б).

Если между поляризатором и анализатором поместить кювету с оптически активным веществом (рис. 7, в), то одна из частей поля зрения затемняется (рис. 7, а, в), ибо прохождение света сквозь анализатор нарушается, так как происходит отклонение плоскости поляризации поляризованного света на определенный угол («угол вращения»). Чтобы свет снова полностью проходил сквозь анализатор, последний необходимо повернуть на определенный угол, соответствующий углу поворота плоскости поляризации веществом. Соответственно, установится равномерность освещения полей зрения поляриметра (рис. 7, б). После этого по шкале прибора отсчитывают значение угла вращения α и определяют его знак (+ или –).

Для сравнительной оценки способности разных веществ вращать плоскость поляризации введено понятие «*удельное оптическое вращение*» (иногда эту величину для упрощения называют «удельное вращение»).

Удельное оптическое вращение $[\alpha]_D^{20}$ **вещества в растворе** представляет собой угол вращения плоскости поляризации α , выраженный в угловых градусах ($^\circ$), при длине волны линии D спектра натрия ($\lambda = 589,3$ нм), измеренный при температуре 20 $^\circ\text{C}$ в растворе испытуемого вещества и рассчитанный для толщины слоя 1 дм в пересчете на содержание 1 г вещества в 1 мл раствора:

$$[\alpha]_D^{20} = \frac{\alpha \cdot 100}{l \cdot C},$$

где

C – концентрация раствора, %;

α – измеренный угол вращения, град ($^{\circ}$);

l – толщина слоя (длина поляризметрической кюветы), дм.

Для удельного оптического вращения вещества в растворе всегда отмечают используемый растворитель и концентрацию раствора, а расчет ведут с учетом предела концентрации, при котором удельное вращение раствора данного вещества в данном растворителе постоянно (руководствуются справочной литературой).

Удельное оптическое вращение $[\alpha]_D^{20}$ индивидуального жидкого вещества представляет собой угол вращения плоскости поляризации α , выраженный в угловых градусах ($^{\circ}$), при длине волны линии D спектра натрия ($\lambda = 589,3$ нм), измеренный при температуре 20°C , рассчитанный для толщины слоя испытуемого вещества 1 дм и разделенный на плотность, выраженную в г/мл:

$$[\alpha]_D^{20} = \frac{\alpha}{l \cdot \rho_{20}},$$

где ρ_{20} – плотность при температуре 20°C , г/мл.

Удельное оптическое вращение рассчитывают по приведенным формулам, отмечая правое и левое вращение, соответственно «+» и «-».

Значение $[\alpha]_D^{20}$ является постоянными для каждого оптически активного вещества. Поэтому величину удельного вращения чаще всего определяют для подтверждения чистоты и идентификации оптически активного вещества.

В интервале концентраций, при которых удельное вращение – постоянная величина, с помощью измеренного угла вращения можно также рассчитать концентрацию вещества в растворе (%) по формуле:

$$C = \frac{\alpha \cdot 100}{l \cdot [\alpha]_D^{20}}.$$

Поляриметрия дает возможность качественно и количественно определить оптически активное вещество в присутствии оптически неактивных.

ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ

1. Какой из инструментальных методов фармацевтического анализа является специфическим для оптически активных веществ?

- A. *Поляриметрия
- B. Рефрактометрия
- C. Хроматография
- D. УФ-спектрофотометрия
- E. Потенциометрическое титрования

2. Основным условием существования молекулы органического лекарственного средства в форме оптических изомеров является наличие:

- A. *Асимметрического атома Карбона [Углерода]
- B. Двойной связи
- C. Тройной связи
- D. Замкнутой π -системы из 6 электронов
- E. Ионной связи

3. Определение удельного оптического вращения используется для проведения идентификации и доброкачественности многих лекарственных веществ. Укажите главное условие проявления веществом оптической активности.

- A. *Наличие в структуре вещества центра хиральности
- B. Растворимость в оптически неактивном растворителе
- C. Отсутствие в структуре вещества центра хиральности
- D. Наличие в структуре вещества центра основности
- E. Отсутствие в структуре вещества центра основности

4. Провизор-аналитик выполняет анализ субстанции ментола рацемического согласно ГФУ. Для идентификации и определения чистоты лекарственного средства он измеряет оптическое вращение, которое должно быть:

- A.** *От $+0,2^\circ$ до $-0,2^\circ$
- B.** От -48° до -51°
- C.** От $+50^\circ$ до $+56^\circ$
- D.** От $+10^\circ$ до $+13^\circ$
- E.** От -102° до -105°

5. Провизор-аналитик осуществляет анализ 10% раствора глюкозы. Для количественного определения он использует один из физико-химических методов, измеряя угол вращения раствора, при помощи:

- A.** *Поляриметра
- B.** Газового хроматографа
- C.** УФ-спектрофотометра
- D.** Рефрактометра
- E.** Потенциометра

6. При испытании на чистоту субстанции этилморфина гидрохлорида необходимо определить удельное оптическое вращение. Это исследование в фармацевтическом анализе проводят с использованием:

- A.** *Поляриметра
- B.** Спектрофотометра
- C.** Фотоэлектроколориметра
- D.** Рефрактометра
- E.** Полярографа

7. В ходе определения удельного вращения раствора лекарственного средства следует использовать:

- A.** *Поляриметр
- B.** Рефрактометр
- C.** Пикнометр
- D.** Ареометр

Е. Колориметр

8. Идентифицировать глюкозу провизор-аналитик может по значению удельного оптического вращения, определив:

- А.** *Угол вращения
- В.** Показатель преломления
- С.** Оптическую плотность
- Д.** Температуру плавления
- Е.** Вязкость

9. Провизор-аналитик проводит анализ ментола [левоментола] – оптически активного вещества. Укажите, какой показатель измеряют при его поляриметрическом определении:

- А.** *Угол вращения
- В.** Показатель преломления
- С.** Оптическую плотность
- Д.** Температуру плавления
- Е.** Вязкость

10. В лабораторию Гослекслужбы на анализ поступила субстанция глюкозы. Определяя ее доброкачественность, провизор-аналитик воспользовался поляриметром. При этом он измерил:

- А.** *Угол вращения
- В.** Показатель преломления
- С.** Оптическую плотность
- Д.** Температуру плавления
- Е.** Электродвижущую силу

11. По АНД удельное оптическое вращение 2%-ного раствора метионина должно быть от $+22,5^\circ$ до $+24,0^\circ$. Для расчета этой величины необходимо измерить:

- A.** *Угол вращения
- B.** Показатель преломления
- C.** Температуру плавления
- D.** Вязкость
- E.** Оптическую плотность

12. Удельное оптическое вращение 10%-ного раствора кислоты глутаминовой должно быть от $+30,5^\circ$ до $+32,5^\circ$. Для расчета этой величины необходимо измерить:

- A.** *Угол вращения
- B.** Температуру плавления
- C.** Плотность
- D.** Вязкость
- E.** Показатель преломления

13. Какая величина используется в фармацевтическом анализе для идентификации лекарственных веществ методом поляриметрии?

- A.** *Удельное оптическое вращение
- B.** Угол вращения
- C.** Показатель преломления
- D.** Молярный коэффициент поглощения
- E.** Удельный показатель преломления

14. Угол оптического вращения вещества, который определяют при температуре 20°C , в толщине слоя 1 дециметр и при длине волны линии D спектра натрия ($\lambda = 589,3 \text{ нм}$), в пересчете на содержание 1 г вещества в 1 мл раствора называют:

- A.** *Удельным оптическим вращением
- B.** Оптической плотностью
- C.** Показателем преломления
- D.** Относительной плотностью
- E.** Показателем распределения

15. Определение удельного вращения раствора глюкозы проводят в присутствии раствора аммиака с целью:

- A.** *Ускорения установления равновесия таутомерных форм глюкозы в растворе
- B.** Улучшения растворения глюкозы
- C.** Создания слабощелочной реакции среды анализируемого раствора
- D.** Перевода примесей в аммонийные соли
- E.** Нейтрализации глюконовой кислоты

16. Явление изменения с течением времени угла вращения свежеприготовленного водного раствора оптически активной субстанции вследствие образования нескольких ее таутомерных форм характерно для углеводов (например, для глюкозы, лактозы) и называется:

- A.** *Мутаротация
- B.** Инверсия
- C.** Полимеризация
- D.** Рацемизация
- E.** Изомеризация

17. Явление изменения не только угла, но и знака вращения после гидролиза оптически активного вещества в растворе характерно, например, для сахарозы, и называется:

- A.** *Инверсия
- B.** Мутаротация

- С. Полимеризация
- Д. Рацемизация
- Е. Изомеризация

ФОТОМЕТРИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА

В фармацевтическом анализе наибольшее распространение получили методы молекулярно-абсорбционного анализа, которые основаны на избирательном поглощении электромагнитного излучения анализируемым соединением и служат для исследования строения, идентификации и количественного определения лекарственных веществ. При этом под избирательным поглощением подразумевается, что поглощается только такое излучение, которое способно вызвать определенные изменения в молекуле данного вещества, т.е. лучи определенной волны (λ) и соответствующей им энергии (E). Поэтому при пропускании через раствор вещества полихроматического света, т.е. света с широким интервалом длин волн, поглощается излучение только определенной длины волны, а остальные лучи проходят через раствор либо претерпевают некоторую трансформацию.

При взаимодействии со световой энергией в атомах поглощающего вещества происходит переход электронов на более удаленные от ядра орбитали.

Электронные переходы, вызванные поглощением строго определенных квантов световой энергии, характеризуются наличием строго определенных полос поглощения в электронных спектрах поглощающих атомов или молекул.

Энергия излучения обычно характеризуется электромагнитным спектром. Электромагнитные излучения различных длин волн (или частот) составляют *электромагнитный спектр* (табл. 2).

В зависимости от используемой аппаратуры, в фотометрическом анализе различают спектрофотометрические методы, основанные на поглощении монохроматического света [излучение, в котором все волны имеют одинаковую длину волны λ (или частоту ν), называется *монохроматическим*] и фотоколориметрические – анализ по поглощению полихроматического (немонохромати-

ческого света). Оба метода основаны на общем принципе – существования пропорциональной зависимости между светопоглощением и концентрацией поглощающего вещества.

Точность фотоколориметрических определений лежит в пределах $\pm 1 - 2$ отн. %, спектрофотометрических $\pm 0,1 - 0,5$ отн. %.

Таблица 2

Электромагнитный спектр излучения

Ультрафиолетовая область	Видимая область	Инфракрасная область	Микроволны	Радиочастота
Электронное возбуждение		Молекулярные колебания	Молекулярные вращения	Ядерные процессы
185-400 нм	400-800 нм	800 нм-1 мм	10^{-2} -10 см	>100 см

λ - длина волны; 1 мк = 1 мкм = $1 \cdot 10^{-6}$ м = $1 \cdot 10^{-4}$ см; 1 нм = 1 нмк = $1 \cdot 10^{-9}$ м)

(ν - волновое число = $1/\lambda$).

Основной закон светопоглощения

При прохождении потока *монохроматического света* через раствор выполняется объединенный закон Бугера-Ламберта-Бера (*основной закон светопоглощения*), который формулируется следующим образом: *поглощение монохроматического света раствором прямо пропорционально концентрации поглощающего свет вещества и толщине слоя раствора, через который проходит данный световой поток* (рис. 8).

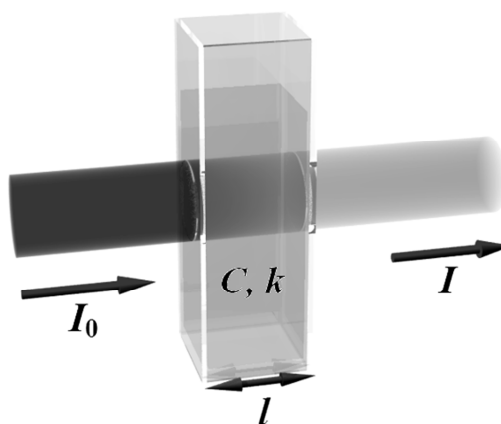


Рис 8. Графическое пояснение к закону Бугера-Ламберта-Бера

Закон Бугера-Ламберта-Бера лежит в основе большинства фотометрических методов анализа. Математически он выражается следующим образом:

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

где I, I_0 – интенсивность прошедшего и падающего светового потока;

k – показатель (коэффициент) поглощения (отвечает величине, обратной толщине слоя, которая ослабляет интенсивность светового потока в 10 раз);

C – концентрация вещества в растворе;

l – толщина слоя, см.

Уравнение (1) можно использовать для вычисления концентрации C , предварительно преобразовав его:

$$\frac{I}{I_0} = 10^{-kCl}.$$

Прологарифмируем: $\lg \frac{I}{I_0} = -kCl$.

Поменяем знаки на обратные: $\lg \frac{I_0}{I} = kCl$,

где $\lg \frac{I_0}{I}$ – величина, которая называется **оптической плотностью**

(погашением, экстинкцией). Она характеризует *поглощенную часть светового потока*, прошедшего через исследуемый раствор. Данная величина обозначается буквой A (также ее иногда обозначают буквой D):

$$\lg \frac{I_0}{I} = A(D).$$

Соответственно можно приравнять:

$$A(D) = kCl, \quad (2)$$

откуда:

$$C = \frac{A(D)}{kl}.$$

Из уравнения (2) следует, что *оптическая плотность раствора при прочих условиях прямо пропорциональна концентрации растворенного вещества и*

толщине поглощающего слоя раствора. Показатель поглощения k можно рассматривать как коэффициент пропорциональности. Для каждого вещества k является специфической физической константой. Значение k зависит от природы растворенного вещества и природы растворителя, температуры, длины световой волны. Согласно равенству (2), рассчитать k можно исходя из измеренной оптической плотности для растворов с известной концентрацией:

$$k = \frac{A}{C \cdot l}.$$

Величина k определяется способом выражения концентрации раствора. Если концентрация раствора выражена в моль/л, эту константу называют молярным показателем поглощения и обозначают буквой ϵ – это оптическая плотность раствора с концентрацией вещества 1 моль/л при толщине слоя 1 см. Если же концентрация выражена в процентах, то такую величину называют удельным показателем поглощения и обозначают символом $A_{1\text{см}}^{1\%}$ (или $E_{1\text{см}}^{1\%}$) – это оптическая плотность 1%-ного раствора вещества при толщине слоя 1 см.

Связь между молярным и удельным показателями поглощения выражается уравнениями:

$$e = A_{1\text{см}}^{1\%} \cdot \frac{M.м.}{10} \quad \text{и} \quad A_{1\text{см}}^{1\%} = e \cdot \frac{10}{M.м.},$$

где $M.м.$ – молекулярная масса определяемого вещества.

Часть светового потока, которая пропускается (не поглощается) раствором характеризуется величиной, называемой **пропусканием**, или прозрачностью. Ее обозначают буквой T :

$$T = \frac{I}{I_0}.$$

Часто эту величину выражают в процентах:

$$T' = \frac{I}{I_0} \cdot 100\%.$$

Величина T , характеризующая пропускание слоя толщиной 1 см, называется *коэффициентом пропускания*.

Оптическая плотность и пропускание связаны между собой уравнениями:

$$A = -\lg T \quad \text{или} \quad A = 2 - \lg T'$$

В фармацевтическом анализе практическое значение имеет использование зависимости $A(D)$ от C (рис. 9).

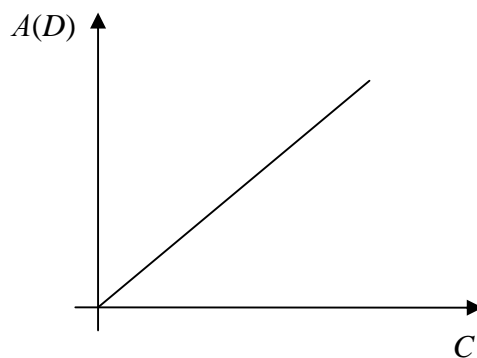


Рис. 9. Зависимость оптической плотности от концентрации раствора (при соблюдении закона Бугера-Ламберта-Бера)

Выполнять фотометрические измерения следует при условии соблюдения основного закона светопоглощения. Определить подчиняется ли светопоглощение данного раствора закону Бугера-Ламберта-Бера можно по двум характеристикам:

1. Зависимость $A(D) = f(C)$ имеет прямолинейный характер (рис. 9).
2. ϵ или $A_{1\text{см}}^{1\%}$ имеет одно и тоже значение при разных концентрациях.

Однако на практике отмеченные условия выполняются лишь на определенном интервале концентраций растворов. За пределами этого интервала могут наблюдаться отклонения от основного закона светопоглощения. Следует также отметить, что закон Бугера-Ламберта-Бера справедлив для анализа весьма разбавленных растворов, чем ограничивается область его применения.

Основные причины несоблюдения закона Бугера-Ламберта-Бера

1. Недостаточная монохроматизация светового потока. Закон выведен и справедлив только для монохроматического света, поэтому недостаточная монохроматизация может вызвать отклонение от закона и тем в большей степени, чем меньше монохроматизация света.

2. Побочные химические и физико-химические взаимодействия в растворе.

В растворах могут протекать различные процессы, которые изменяют концентрацию поглощающего вещества или его природу: гидролиз, ионизация, гидратация, ассоциация, полимеризация, комплексообразование и др.

3. Влияние pH раствора. Светопоглощение растворов существенно зависит от pH раствора. При его изменении может измениться степень ионизации слабого электролита; форма существования ионов, что приводит к изменению светопоглощения. При изменении pH раствора может изменяться состав образующихся окрашенных комплексных соединений.

4. Влияние температуры. Устойчивость окраски многих соединений зависит от температуры раствора.

5. Влияние примесей. На светопоглощение оказывают влияние примеси, которые поглощают энергию в области проведения фотометрических измерений.

Спектры поглощения

Все вещества способны поглощать свет, но избирательно. Для полной характеристики определяемых растворов различных соединений пользуются спектрами поглощения (кривыми светопоглощения). Для их получения проводят серию измерений оптической плотности раствора ($A(D)$) или молярного коэффициента погашения (ϵ) при различных длинах волн в интересующей области спектра. Измерения проводят через 10-20 нм, а найдя границы максимума, промеряют через 1-2 нм. По полученным данным строят кривую (рис. 10).

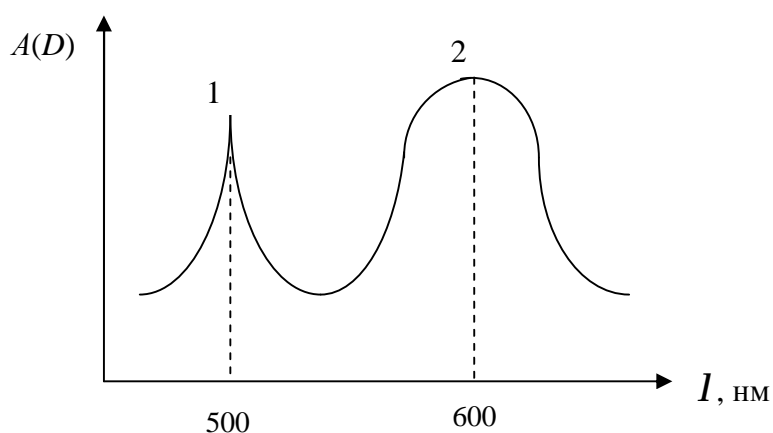


Рис. 10. Зависимость оптической плотности ($A(D)$) от длины волны поглощаемого света (λ , нм)

В соответствии с природой светопоглощения и возможностями оптических приборов, поглощение (или пропускание) света измеряют в видимой ($\lambda = 400-760$ нм), ультрафиолетовой ($\lambda = 185-400$ нм) и инфракрасной ($\lambda=760\text{нм}-1\text{мм}$) областях спектра. Кривые светопоглощения веществ обычно снимают при помощи спектрофотометров, измеряющих оптическую плотность растворов в видимой, ультрафиолетовой и инфракрасной областях спектра. Менее качественно можно снять спектры поглощения при помощи фотоколориметров, снабженных набором узкополосных светофильтров. Длина волны, при которой наблюдается максимальное поглощение света, обозначается через λ_{max} .

Для того, чтобы провести измерение оптической плотности, а в конечном итоге и количественное определение вещества с наибольшей точностью и чувствительностью, необходимо определение проводить в той области спектра, в которой поглощение лучей определяемым веществом является максимальным (рис.3, $\lambda_{\text{max}1}=500$ нм, $\lambda_{\text{max}2}=600$ нм). Причем, для количественного определения используют максимум более широкой полосы. Например, максимум 2 (600 нм) на кривой светопоглощения является более подходящим, чем 1 (500 нм).

Виды и выбор условий фотометрических определений

Определение концентрации исследуемого вещества по поглощению им монохроматического излучения *в видимой области спектра* производится двумя основными способами: субъективными и объективными.

Субъективные методы основаны на визуальном сравнении интенсивностей окрасок растворов разных концентраций (колориметрия), а *объективные* – на инструментальном измерении количества света, поглощаемого испытуемым веществом (фотоколориметрия).

Колориметрия осуществляется путем сравнения интенсивностей окрасок испытуемого и стандартного растворов, рассматриваемых в слоях одинаковой толщины. Использование этого метода связано с весьма простой аппаратурой и не требует соблюдения закона Бера.

Субъективные методы выполняются посредством следующих операций:

а) окрашенную пробу и стандарт разбавляют в сосудах одинакового диаметра до совпадения окрасок (*метод уравнивания*);

б) уравнивают окраски исследуемого окрашенного раствора с раствором, содержащим все вещества, за исключением анализируемого, добавляя к нему раствор этого вещества с известной концентрацией (*колориметрическое титрование*);

в) готовят набор стандартов с различной концентрацией вещества и подбирают совпадение окрасок пробы и одного из стандартов (*метод стандартных серий*).

Фотоколориметрия используется для определения концентраций окрашенных растворов, т.е. растворов поглощающих излучение в видимой области спектра. Однако окрашенных веществ, обладающих в растворах собственным поглощением видимой части спектра, мало. Поэтому в фотометрии используют различные химические реакции, сопровождающиеся образованием окрашенных соединений, способных поглощать излучение. Чаще всего для этой цели используются реакции комплексообразования. Следовательно, фотометрический анализ веществ в видимой области спектра состоит в основном из двух этапов:

I. Проведение химических реакций образования окрашенных соединений с определяемым веществом.

II. Измерение светопоглощения приготовленного раствора.

Чтобы обеспечить получение надежных результатов при выполнении фотометрических определений, необходимо, прежде всего, установить оптимальные условия их проведения.

1) **Выбор реагента.** При выборе реагента, вызывающего реакцию образования окрашенных соединений, учесть, прежде всего, его селективность и чувствительность происходящей реакции. Полученные окрашенные растворы должны отвечать следующим требованиям:

а) иметь постоянный состав;

б) не иметь посторонних примесей;

в) окраска должна быть устойчивой, т.е. не изменяться в течение времени, достаточного для определения.

2) **Выбор светофильтра.** Определить область максимального поглощения света определяемым веществом, т.е. выбрать светофильтр, обеспечивающий выделение участка света, который поглощается анализируемым раствором при $C = const$ максимально. Светофильтры пропускают лучи лишь в определенном интервале длин волн. Фотометрическое определение получается тем точнее, чем более узкий участок спектра удастся выделить светофильтром, т.е. чем больше светофильтров в ФЭК, тем меньший участок спектра приходится на каждый светофильтр, значит большая точность определений.

Существует два способа подбора светофильтров: по максимуму оптической плотности и менее точный, но более быстрый – выбирают светофильтр по цвету исследуемого раствора (табл. 3):

Таблица 3

Цвета растворов и соответствующих им светофильтров

Цвет раствора (дополнительный к поглощаемому)	Область максимального поглощения лучей раствором, нм	Цвет светофильтра (поглощаемый цвет)
Желто-зеленый	400-500	Фиолетовый
Желтый	450-480	Синий
Оранжевый	480-490	Зелено-синий
Красный	490-500	Сине-зеленый
Пурпурный	500-560	Зеленый
Фиолетовый	560-575	Желто-зеленый
Синий	575-590	Желтый
Зелено-синий	590-625	Оранжевый
Сине-зеленый	625-700	Красный

В видимой области спектра (в белом свете) цвет раствора обусловлен длинами волн излучения, поглощаемого этим раствором и являющегося дополнительным к поглощаемому.

3) **Подбор pH раствора.** Определить значение pH раствора, при котором наблюдается максимальное и стабильное значение оптической плотности при $C = const$. В этом случае на кривой зависимости $A(D)$ от pH будет иметь место горизонтальный участок, параллельный оси абсцисс, отвечающий постоянному значению оптической плотности раствора (рис. 11)

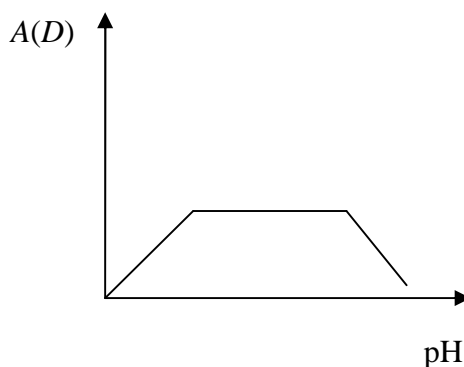


Рис. 11. График зависимости оптической плотности от pH раствора

4) **Подбор концентрации реагента.** Определить количество реагента, необходимое для полного связывания анализируемого иона в окрашенное соединение. Для этого приготовить серию растворов с постоянным содержанием определяемого иона, но с различным и все увеличивающимся количеством реагента. Затем измерить оптические плотности растворов и построить график зависимости $A(D)$ от концентрации реагента C .

Оптимальной является концентрация реагента, соответствующая горизонтальному участку кривой (рис. 12)

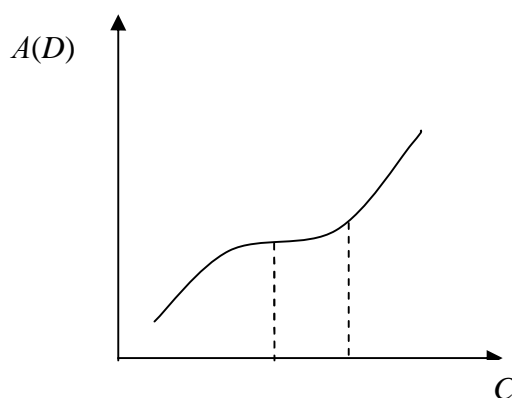


Рис. 12. График зависимости оптической плотности от концентрации реагента

5) **Определение устойчивости светопоглощения раствора во времени.** При этом строят график, отражающий зависимость оптической плотно-

сти раствора $A(D)$ от времени τ . Для работы выбирают такой интервал времени, в течение которого значение оптической плотности сохраняется неизменным или меняется незначительно (рис. 13).

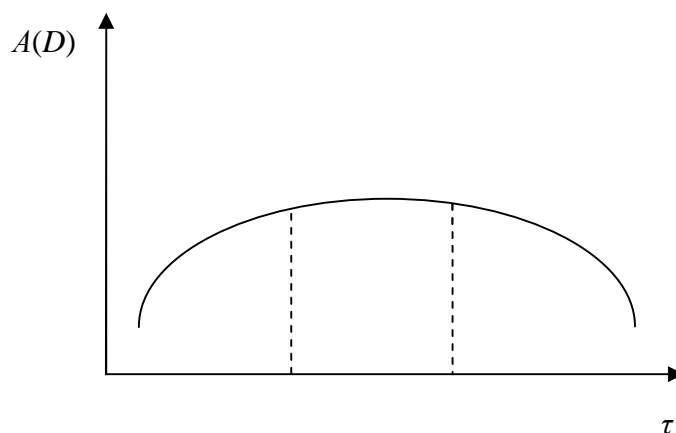


Рис. 13. График зависимости оптической плотности от времени

б) **Подбор кюветы.** Толщина кювет зависит от светопоглощения определяемых веществ, их концентрации: чем более интенсивная окраска, тем тоньше должна быть кювета. При измерении ряда растворов кювету заполняют раствором средней концентрации. Если полученное значение оптической плотности составляет 0,3-0,5, то выбирают данную кювету для работы с этим раствором. В том случае, когда это условие не выполняется, следует испробовать другие кюветы. Если величина измеренной оптической плотности больше 0,5-0,6, то берут кювету меньшей рабочей длины. Если же величина оптической плотности меньше 0,3-0,2, следует выбрать кювету с большей рабочей длиной.

Основные методы определения концентрации в фотометрии

1. Метод стандарта (метод сравнения оптических плотностей стандартного и исследуемого растворов). Для определения концентрации вещества берут аликвотную часть исследуемого раствора и измеряют оптическую плотность. Аналогично исследуемому раствору готовят стандартный раствор и измеряют оптическую плотность при λ_{\max} . Измерения проводят в одних и тех же кюветах.

$$\frac{A(D)_x}{A(D)_{ст}} = \frac{C_x}{C_{ст}}; \quad C_x = C_{ст} \cdot \frac{A(D)_x}{A(D)_{ст}}; \quad l_x = l_{ст}$$

Во избежание больших погрешностей концентрации исследуемого и стандартного растворов должны приготавливаться почти одинаковыми. Поэтому сначала измеряют оптическую плотность исследуемого раствора и лишь после этого подбирают концентрацию стандартных растворов так, чтобы получить значения их оптических плотностей, близкие к значению $A(D)$ исследуемого раствора.

2. Метод показателя поглощения (метод определения по среднему значению молярного или удельного показателя поглощения). Это разновидность метода сравнения. Готовят стандартные растворы известной концентрации, измеряют их оптическую плотность и рассчитывают среднее значение молярного ϵ (удельного $A_{1\text{см}}^{1\%}(E_{1\text{см}}^{1\%})$) показателя поглощения:

$$e = \frac{A(D)_{\text{см}}}{C_{\text{см}} \cdot l_{\text{см}}} \quad \text{или} \quad A_{1\text{см}}^{1\%}(E_{1\text{см}}^{1\%}) = \frac{A(D)_{\text{см}}}{C_{\text{см}} \cdot l_{\text{см}}}.$$

Затем измеряют оптическую плотность исследуемого раствора и из основного закона светопоглощения находят C_x :

$$A(D) = \epsilon Cl \quad \text{или} \quad A(D) = A_{1\text{см}}^{1\%}(E_{1\text{см}}^{1\%}) Cl.$$

$$C_x = \frac{A(D)_x}{e \cdot l_x} \quad \text{или} \quad C_x = \frac{A(D)_x}{A_{1\text{см}}^{1\%}(E_{1\text{см}}^{1\%}) \cdot l_x}.$$

Метод требует обязательного соблюдения основного закона светопоглощения.

3. Метод градуировочного (калибровочного) графика. Для определения концентрации вещества этим методом, готовят серию из 5-8 стандартных растворов разных концентраций (не менее трех параллельных растворов для каждой точки). При выборе интервала концентраций стандартных растворов руководствуются следующими положениями:

- стандартные растворы должны охватывать область возможных изменений концентраций исследуемого раствора;
- оптическая плотность исследуемого раствора должна соответствовать примерно середине градуировочной кривой;

- желательно, чтобы в этом интервале соблюдался основной закон светопоглощения; т.е. график $A(D) = f(C)$ был прямолинейным;
- оптическая плотность должна иметь значения в пределах 0,14-1,3.

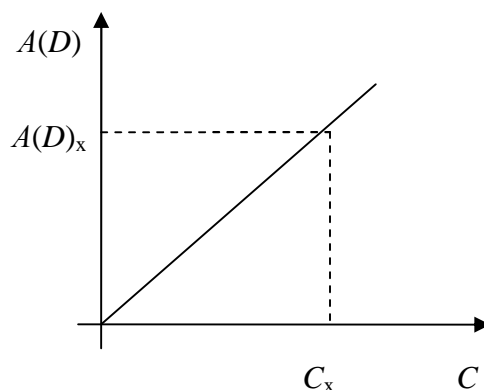


Рис. 14. Градуировочный график зависимости оптической плотности от концентрации

Измеряют оптическую плотность стандартных растворов и строят график зависимости $A(D) = f(C)$ (рис. 14).

Определив $A(D)_x$ исследуемого раствора по градуировочному графику, находят C_x .

Этот метод, применяемый при выполнении серийных анализов, позволяет определить количество вещества даже тогда, когда основной закон светопоглощения не соблюдается. В таком случае готовится большее число стандартных растворов, отличающихся по концентрации не более чем на 10%. Воспроизводимость определений здесь ниже, чем в случае линейной зависимости $A(D)$ от C в виде: $A(D) = f(C)$.

4. Метод добавок (метод добавок стандарта). Разновидность метода сравнения. Этот метод основан на сравнении оптической плотности исследуемого раствора и того же раствора с добавкой известного количества определяемого вещества. Неизвестную концентрацию находят расчетным или графическим способом:

$$A(D)_x = e_l \cdot C \cdot l; \quad A(D)_{(x+a)} = e_l \cdot (C_x + C_a) \cdot l.$$

$$\frac{A(D)_x}{A(D)_{(x+a)}} = \frac{C_x}{C_x + C_a}; \quad C_x = C_a \cdot \frac{A(D)_x}{A(D)_{(x+a)} - A(D)_x}.$$

При определении неизвестной концентрации графическим способом на оси ординат откладывают $A(D)_x$, а на оси абсцисс C_a ; из этой точки восстанавливают перпендикуляр, на котором откладывают значение оптической плотности $A(D)_{x+a}$. Получившиеся точки соединяют и продолжают до пересечения с продолжением оси абсцисс в точке C_x (рис. 15)

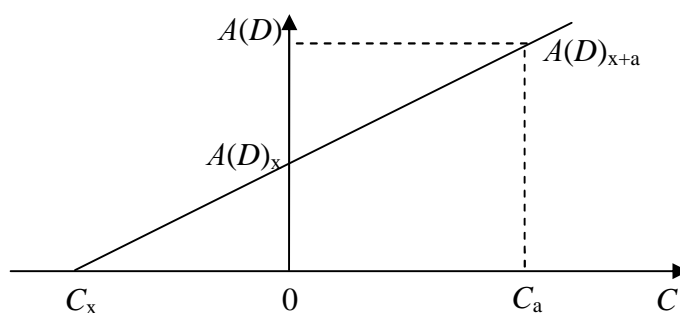


Рис. 15. Определение концентрации исследуемого раствора методом добавок

Метод добавок применяют для устранения мешающего влияния посторонних примесей, определения малых количеств определяемого вещества в присутствии больших количеств посторонних веществ. Метод требует обязательного соблюдения основного закона светопоглощения.

5. Дифференциальная фотометрия. Сущность метода заключается в измерении оптической плотности анализируемого раствора относительно раствора сравнения, содержащего несколько меньшее количество анализируемого вещества.

Для анализа готовят исследуемый раствор и раствор сравнения с известным количеством анализируемого вещества. Далее при помощи двух кювет устанавливают на нуль шкалу оптической плотности по отношению к раствору сравнения и проводят фотометрические измерения. Концентрацию анализируемого вещества находят либо по калибровочному графику (рис. 16), либо расчетным путем с помощью фактора пересчета F по формуле $C_x = C_0 A(D)_x F$ ($\text{tg} \alpha = F$).

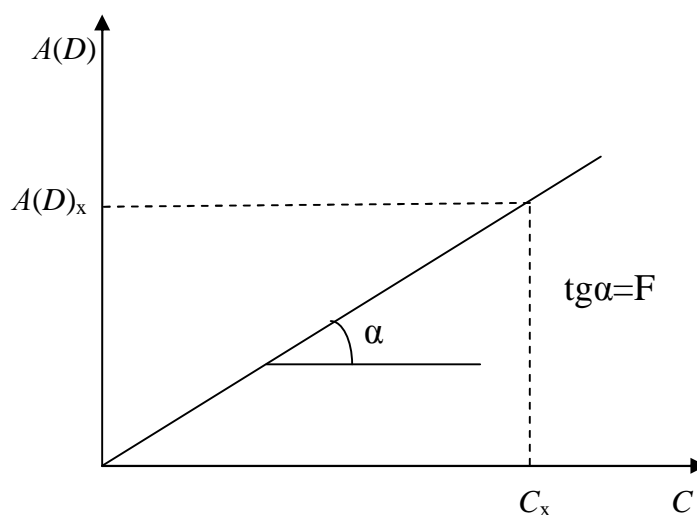


Рис. 16. Определение концентрации исследуемого раствора методом дифференциальной фотометрии

Метод применяется для повышения точности фотометрических измерений при определении высоких концентраций (от 10 до 100%).

Применение фотометрии в фармацевтическом анализе

Широкое применение фотоколориметрии обусловлено возможностью использовать относительно недорогую и общедоступную аппаратуру для проведения анализов с достаточно высокой точностью ($\pm 1-3\%$), а также большим выбором фотометрических методик и способов, позволяющих проводить определение веществ в обширном интервале концентраций.

Недостатки: недостаточная монохроматизация света понижает точность и воспроизводимость измерений; возможность определения только окрашенных растворов.

Спектрофотометрия – метод фотометрического анализа, в котором содержание вещества определяют по поглощению им монохроматического света в видимой, УФ-, ИК-областях спектра.

В спектрофотометрии, в отличие от фотоколориметрии, монохроматизация светового потока обеспечивается не светофильтрами, а монохроматорами (дифракционными решетками), позволяющими получать заданную длину волны, поэтому точность определения выше и составляет $\pm 1-2\%$

Спектрофотометрические методы, по сравнению с фотоколориметрией, позволяют решать более широкий круг задач:

- количественное определение веществ в широком интервале длин волн (от 185 до 1100 нм);
- количественный анализ многокомпонентных систем без разделения;
- определение фотометрических характеристик светопоглощающих систем.

В качестве раствора сравнения используют чаще всего растворитель или раствор, содержащий все реагенты кроме определяемого вещества. Особенно хороши эти методы в том случае, когда использование химических методов затруднено.

ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ

1. Теоретической основой спектрофотометрических методов анализа лекарственных веществ является закон:

- A.** *Бугера-Ламберта-Бера
- B.** Клапейрона-Менделеева
- C.** Ильковича
- D.** Ломоносова
- E.** Нернста

2. Как подобрать кювету для фотоэлектроколориметрического определения окрашенного лекарственного вещества?

- A.** *В пределах 0,3-0,5 единиц оптической плотности
- B.** По минимуму светопоглощения
- C.** По максимуму светопоглощения
- D.** В пределах 0,1-1,0 единиц оптической плотности
- E.** В зависимости от цвета раствора

3. Количественное определение субстанции нитрофурала (фурацилина) проводят спектрофотометрическим методом. Рассчитать его количественное содержание провизор-аналитик может, измерив:

- A. *Оптическую плотность
- B. Температуру плавления
- C. Угол вращения
- D. Показатель преломления
- E. pH раствора

4. Количественное определение субстанции рутина проводят спектрофотометрическим методом. Рассчитать его количественное содержание провизор-аналитик сможет, если измерит:

- A. *Оптическую плотность
- B. pH раствора
- C. Угол вращения
- D. Температуру плавления
- E. Показатель преломления

5. Количественное содержание гидрокортизона ацетата ГФУ рекомендует определять методом спектрофотометрии. Для этого необходимо измерить:

- A. *Оптическую плотность
- B. Показатель преломления
- C. Угол вращения
- D. Температуру плавления
- E. Вязкость

6. Количественное определение раствора цианокобаламина для инъекций проводят методом спектрофотометрии, измеряя:

- A. *Оптическую плотность

- В.** Показатель преломления
- С.** Уровень рН
- Д.** Удельное вращение
- Е.** Фактор пересчета

7. Одним из тестов, позволяющих идентифицировать действующее вещество в составе таблеток дихлотиазида по 0,05 г, является обнаружение максимума поглощения при длине волны 275 нм. Для проведения этого теста лаборант ОТК фармацевтического предприятия должен использовать:

- А.** *УФ-спектрофотометр
- В.** Полярограф
- С.** Поляриметр
- Д.** рН-метр
- Е.** Рефрактометр

8. При проведении идентификации веществ с помощью ИК-спектроскопии согласно требованиям ГФУ используют:

- А.** *Сравнение спектра исследуемого вещества и спектра фармакопейного стандартного образца этого же вещества
- В.** Длину волны максимума отдельной полосы
- С.** Длину волны минимума пропускания отдельной полосы
- Д.** Диапазон длины волн плеча в спектре исследуемого раствора
- Е.** Волновые числа полос поглощения в диапазоне $4000-1500 \text{ см}^{-1}$

9. При идентификации никотинамида методом ИК-спектрофотометрии необходимо сравнить спектр испытуемого образца с:

- А.** *ИК-спектром ФСО никотинамида
- В.** ПМР-спектром никотинамида
- С.** ИК-спектром никотиновой кислоты

- D. Масс-спектром никотинамида
- E. УФ-спектром ФСО никотинамида

10. Хлорпромазина гидрохлорид идентифицируют, сравнивая спектры поглощения стандартного и исследуемого образцов лекарственного вещества. Какой прибор используют при этом?

- A. *ИК-спектрофотометр
- B. Фотоэлектроколориметр
- C. Полярограф
- D. Рефрактометр
- E. Флюориметр

ОПРЕДЕЛЕНИЕ pH РАСТВОРОВ

Водородным показателем (pH) называется отрицательный десятичный логарифм активности ионов водорода:

$$pH = -\lg a_{H^+}$$

Величина pH характеризует кислотность или основность растворов.

Колориметрический метод определения pH основан на свойстве индикаторов изменять свою окраску в зависимости от активности ионов водорода в определенном интервале pH. Колориметрическое определение pH производят при помощи индикаторов и стандартных буферных растворов.

Потенциометрический метод имеет преимущества по сравнению с колориметрическим, он более точен и имеет меньше ограничений, связанных с присутствием в растворе окислителей и восстановителей, с белковой или солевой ошибками. Потенциометрический метод в отличие от колориметрического может применяться для определения pH в окрашенных, мутных или гелеобразных растворах.

Потенциометрическое определение рН заключается в измерении ЭДС элемента, состоящего из двух электродов: индикаторного, потенциал которого зависит от активности ионов водорода и электрода сравнения – стандартного электрода с известной величиной потенциала. В качестве индикаторных электродов для измерения рН преимущественно применяют стеклянный электрод. Иногда используют водородный электрод. Электродом сравнения является хлорсеребряный.

Для измерения рН применяют высокоомные потенциометры различных систем или рН-метры, шкала которых градуирована в милливольтгах или непосредственно в единицах рН.

Подготовка рН-метра и электродной системы производится согласно инструкциям, прилагаемых к приборам. Калибровка и проверка рН-метров производится по стандартным буферным растворам.

Если рН контролируемого раствора отличается менее, чем на единицу от рН стандартного буферного раствора, то достаточно проверки прибора по одному буферному раствору, величина рН которого лежит в том же диапазоне измерения, что и значения рН контролируемого раствора. Если рН контролируемых растворов находятся в широких пределах, то проверку рН-метра следует производить по двум стандартным буферным растворам согласно инструкции. Измерения проводят в термостатируемых условиях либо автоматической компенсацией температуры.

ПОТЕНЦИОМЕТРИЧЕСКОЕ ТИТРОВАНИЕ

Потенциометрическое титрование – это косвенный метод анализа, в котором эквивалентный объем титранта определяется путем измерения в процессе титрования ЭДС специально подобранной электродной пары. Индикацию точки эквивалентности осуществляют по резкому изменению ЭДС потенциометрической ячейки.

Индикаторный электрод выбирают таким образом, чтобы его потенциал зависел от концентрации ионов, принимающих участие или образующихся в

процессе титрования. Потенциал *электрода сравнения* во время титрования должен сохранять постоянную величину. Выбор электродной системы при потенциометрическом титровании главным образом зависит от типа аналитической реакции (табл. 4).

Таблица 4

Электродные системы для потенциометрического титрования

Тип аналитической реакции	Индикаторные электроды	Электроды сравнения	Применение
Кислотно-основный	Стекланный	Хлорсеребряный, каломельный	Титрование кислот, оснований и солей
Осаждение	Серебряный, Сульфидсеребряный	Хлорсеребряный, каломельный, стекланный	Титрование галогенидов, роданидов, цианидов, сульфидов
Комплексонометрический	Ртутный, ионселективные	Хлорсеребряный, каломельный, стекланный	Титрование катионов, которые образуют устойчивые комплексоны
Окислительно-восстановительный	Платиновый	Хлорсеребряный, каломельный, стекланный	Титрование восстановителей разными окислителями; титрование окислителей разными восстановителями.

Обычно электродную пару при титровании погружают в анализируемый раствор. Однако, в тех случаях, когда ионы, диффундирующие из электрода сравнения, могут помешать проведению титрования, контакт электрода сравнения с анализируемым раствором осуществляется через электролитический мостик, который представляет собой П-образную трубку, заполненную раствором электролита, ионы которого не мешают проведению титрования.

Один конец трубки, снабженный пришлифованной пробкой или пористой мембраной, погружают в анализируемый раствор, а другой в стакан с насыщенным водным раствором хлорида калия, в который погружен электрод сравнения.

Стандартная схема установки для потенциометрического титрования приведена на рис. 5.1.

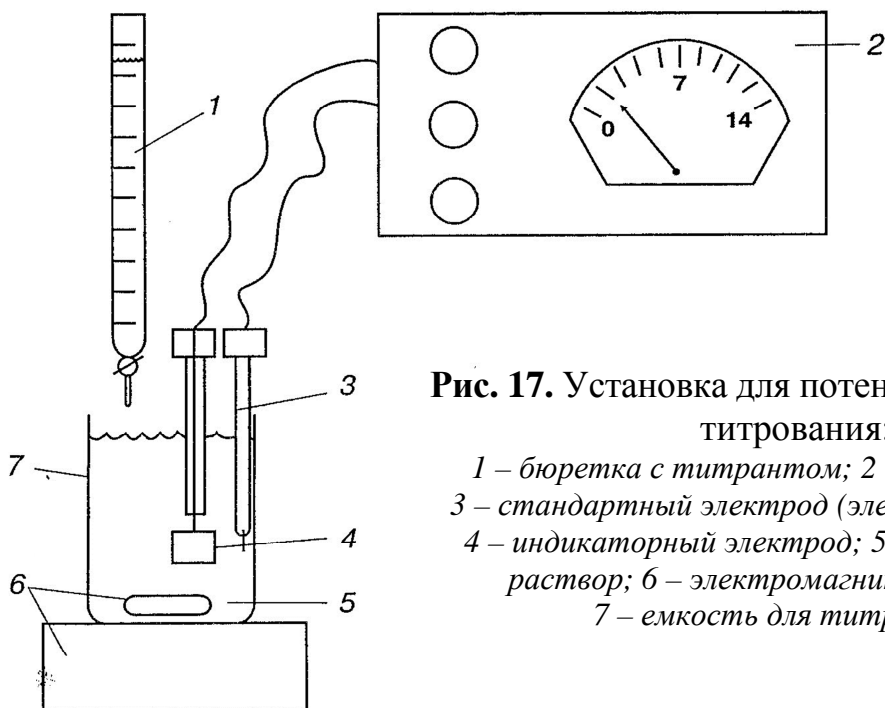


Рис. 17. Установка для потенциометрического титрования:

- 1 – бюретка с титрантом;
- 2 – потенциометр;
- 3 – стандартный электрод (электрод сравнения);
- 4 – индикаторный электрод;
- 5 – анализируемый раствор;
- 6 – электромагнитная мешалка;
- 7 – емкость для титрования.

При проведении анализа титруемый раствор прибавляют из бюретки равными объемами при постоянном перемешивании (в конце титрования – по 0,1-0,05 мл), пока реакция с определяемым веществом не закончится, а для получения кривой титрования раствор перетитровывают на 30-50 %. Цель титрования заключается в добавлении титранта в количестве, химически эквивалентном количеству реагирующего с ним вещества. Эта цель достигается в точке эквивалентности. Однако операцией титрования определяется по существу, не точка эквивалентности, а конечная точка титрования. При этом разность объемов в точке эквивалентности и конечной точке титрования мала, а возникающая за счет этой разности ошибка анализа незначительна.

Измерение ЭДС, возникающей за счет разности потенциалов между индикаторным и электродом сравнения, осуществляется с помощью высокоомных потенциометров (рН-метров).

Вблизи точки эквивалентности наблюдается наибольшее изменение электродного потенциала (скачек потенциала).

Объем титранта в точке эквивалентности ($V_{\text{ЭКВ}}$) может быть определен графическим и расчетным способами.

Графически определить точку эквивалентности и, соответственно, эквивалентный объем титранта можно по кривым потенциометрического титрования. При обработке результатов потенциометрического титрования в фармацевтическом анализе чаще всего используют интегральную и дифференциальную кривые (рис. 18).

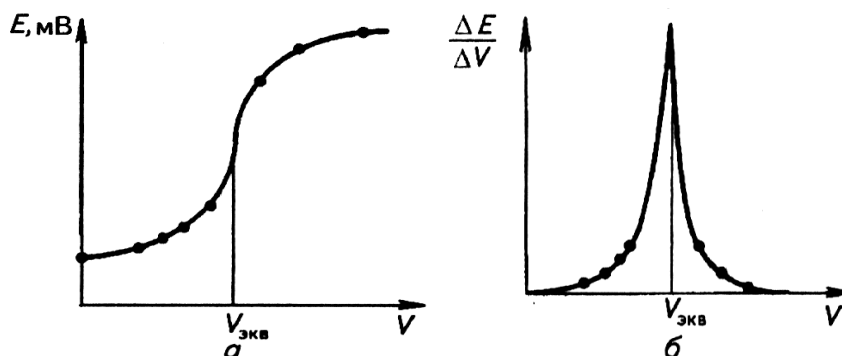


Рис. 18. Кривые потенциометрического титрования (общий вид):

а – интегральная кривая титрования; б – дифференциальная кривая титрования

Интегральную кривую титрования строят в координатах: на оси абсцисс – объем титранта (V , мл), на оси ординат – электродвижущая сила (E , мв). Точке эквивалентности отвечает точка перегиба на этой кривой титрования. Для ее

нахождения применяют *метод касательных* (рис.

19): проводят касательные к нижней и верхней ветвям кривой, а также к среднему участку графика. Отрезок срединной касательной, которая находится между касательными к нижней и верхней ветвям кривой, делят пополам ($AB = BC$). Найдена точка B

представляет собой точку перегиба и отвечает точке эквивалентности. Проекция точки B на ось абсцисс отвечает эквивалентному объему титранта.

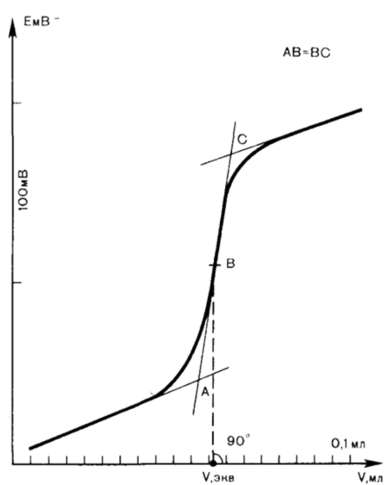


Рис. 19. Метод касательных

Дифференциальную кривую титрования строят в координатах: на оси ординат – отношение изменения потенциала ΔE к соответствующему изменению объема ΔV , т.е. $\frac{\Delta E}{\Delta V}$, а на оси абсцисс – объем титранта (V , мл). Точка эквивалентности определяется максимумом кривой титрования, проекция которого на ось абсцисс отвечает эквивалентному объему титранта. Этот способ определения конца титрования наиболее приемлем для слабых кислот, слабых оснований, когда скачек титрования значительно уменьшается и определить количество титранта в конце титрования по интегральной кривой затруднительно, что влечет за собой большую ошибку (рис. 20, 21).

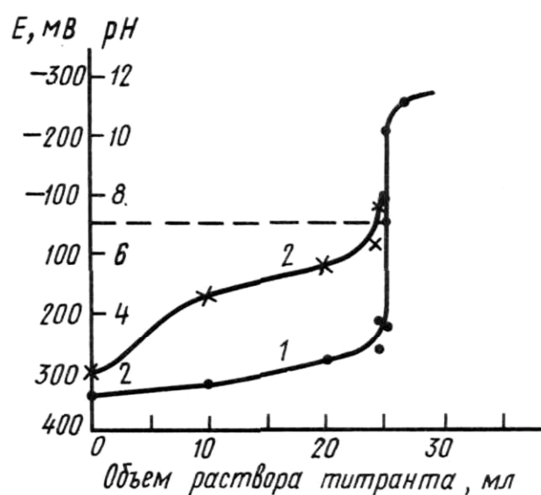


Рис. 20. Интегральные кривые титрования: 1 – сильной кислоты; 2 – слабой кислоты

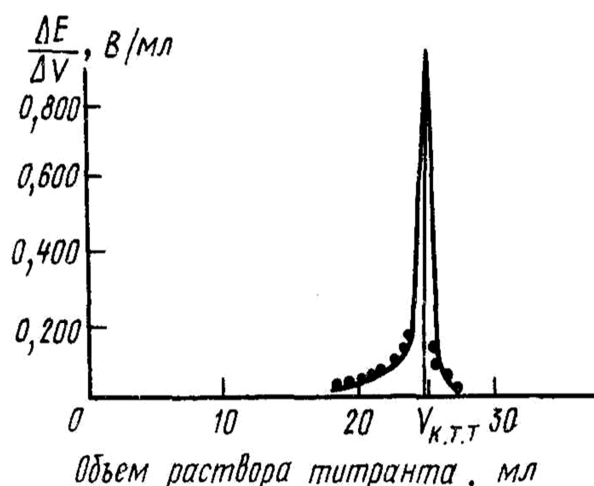


Рис. 21. Дифференциальная кривая титрования слабой кислоты сильным основанием

Точка эквивалентности может быть также определена *расчетным путем* по максимальному значению $\frac{\Delta E}{\Delta V}$ и соответственно $\Delta\left(\frac{\Delta E}{\Delta V}\right)$, как указано в таблице 5 и формуле расчета.

Таблица 5

Обработка результатов потенциометрического титрования

$V_{1\text{мл}}$	ΔV^*	$E_{1\text{мВ}}$	ΔE	$\frac{\Delta E}{\Delta V}$	$\Delta\left(\frac{\Delta E}{\Delta V}\right) = A_V$
5,00		250			
	0,1		13	130	
5,10		263			+ 150
	0,1		28	280	
5,20		291			+ 720
	0,1		100	1000	
5,30		391			- 450
	0,1		55	550	
5,40		446			- 330
	0,1		22	220	
5,50		468			- 120
	0,1		10	100	
5,60		478			

Примечание: * – ΔV – арифметическая разница между последующим и предыдущим объемом, пошедшими на титрование.

Из таблицы видно, что наибольшее значение $\frac{\Delta E}{\Delta V}$ получилось после прибавления 5,30 мл титранта. Более точный эквивалентный объем титранта (V_3) рассчитывают по формуле:

$$V_3 = V_1 + (V_1 - V_2) \cdot \frac{A_{V_1}}{A_{V_1} - A_{V_2}}, \text{ где}$$

Ø V_1 – объем титранта, соответствующий первому отрицательному

(положительному) значению величины $A_V \left(A_V = \Delta\left(\frac{\Delta E}{\Delta V}\right) \right)$

Ø V_2 – объем титранта, соответствующий последнему положительно-
му (отрицательному) значению величины A_V

$$\text{Ø } A_V = \Delta \left(\frac{\Delta E}{\Delta V} \right) - \text{приращения величин } \frac{\Delta E}{\Delta V}.$$

При прохождении через точку эквивалентности A_V меняет знак на про-
тивоположный:

$$V_3 = 5,20 + (5,30 - 5,20) \cdot \frac{+720}{720 - (-450)} = 5,26 \text{ мл.}$$

При титровании двух кислот или многоосновных кислот на кривых тит-
рования будет несколько перегибов, соответствующих точкам эквивалентности
титруемых кислот. Появление перегибов можно ожидать тогда, когда отклоне-
ние между константами диссоциации будет порядка 10^4 .

Потенциометрическое титрование также может быть использовано для
определения точки эквивалентности при количественном определении метода-
ми осаждения, комплексообразования, окисления-восстановления. Также по-
тенциометрическое титрование применяют в случае определения окрашенных,
мутных и гелеобразных растворов. Все потенциометрические методы могут
быть полностью автоматизированы, начиная от момента взятия пробы до выда-
чи и записи результатов анализа.

ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ

1. По АНД значение рН раствора димедрола 1% для инъекций должно
быть в пределах 5,0-6,5. Для измерения этого показателя химик-аналитик
ОТК фармацевтического предприятия должен воспользоваться:

- А. *Потенциометром
- В. Полярграфом
- С. Поляриметром
- Д. Рефрактометром
- Е. Фотоэлектроколориметром

2. Провизор-аналитик выполняет идентификацию натрия гидрокарбоната. С помощью какого индикатора можно подтвердить наличие слабощелочной реакции среды в растворе натрия гидрокарбоната?

- A. *Фенолфталеина
- B. Крахмала
- C. Тропеолина 00
- D. Ферроина
- E. Нафтолбензеина

3. Водный раствор какого лекарственного средства имеет слабо щелочную реакцию среды?

- A. *Натрия гидрокарбоната
- B. Натрия хлорида
- C. Калия хлорида
- D. Натрия бромиды
- E. Калия бромиды

ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА

Хроматография – процесс разделения смеси веществ, основанный на количественных различиях в поведении разделяемых компонентов при их непрерывном перераспределении между двумя контактирующими фазами, одна из которых неподвижна, а другая имеет постоянное направление движения.

По механизму, лежащему в основе разделения, различают адсорбционную, распределительную, ионообменную и некоторые другие виды хроматографии. Кроме того, методы хроматографии классифицируют:

а) по агрегатному состоянию – газовая, жидкостная, газожидкостная хроматография;

б) по форме проведения процесса – колоночная, капиллярная, плоскостная (бумажная и тонкослойная) хроматография.

В фармацевтическом анализе в настоящее время наиболее широко применяют следующие виды хроматографии: ионообменная, адсорбционная, в тонком слое сорбента, распределительная на бумаге, газовая, жидкостная, газожидкостная хроматография.

Ионообменная хроматография

В основе ионообменной хроматографии лежит обратимый процесс между ионами анализируемого раствора и ионогенными группами сорбента. В ионообменной хроматографии в качестве твердых сорбентов применяют ионообменные смолы, или иониты. Они относятся к группе высокомолекулярных соединений и характеризуются наличием ионогенных групп, присоединенных к структурному скелету смолы (матрица, каркас).

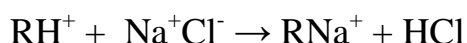
В зависимости от характера ионогенных групп ионогенные сорбенты разделяются на *катиониты* (катионообменные) и *аниониты* (анионообменные).

Макромолекулы катионитов содержат кислотные группы различной силы, такие как сульфогруппы, сульфгидрильные, карбоксильные и оксифенильные группы.

Макромолекулы анионитов, наоборот, имеют в своем составе основные группы, например алифатические или ароматические аминогруппы различной степени замещенности (вплоть до четвертичных).

В Н-форме катиониты и в ОН-форме аниониты соответственно содержат в способном к обмену состоянии только ионы водорода или гидроксила. В солевых формах ионы водорода заменены катионами металлов или органических оснований, а анионы гидроксила – анионами кислот.

При взаимодействии солей с катионитами в Н-форме происходит процесс обмена катионов:

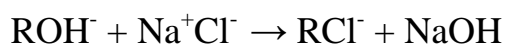


Катион металла при этом удерживается молекулой смолы, а водород катионита с анионом соли образует соответствующую кислоту. Наиболее часто применяются сильнокислотные катиониты: КУ-2, СДВ-3, СБС, содержащие

сульфогруппы и слабокислотные: КБ-4, КБ-4П-2, содержащие карбоксильные группы.

Из анионитов широкое применение находят сильноосновные АВ-17, АВ-16, ЭДЭ-10П и слабо-основные: АН-2.

При взаимодействии солей с анионитами в ОН-форме происходит процесс обмена анионов:



Свойствами ионитов обладают также многие природные вещества: минеральные иониты (цеолиты, алюмосиликаты), угли и др.

Каждый ионит способен поглощать лишь определенное количество ионов, что определяется понятием – емкость ионита. **Емкостью ионита** называется количество вещества, выраженного в мг-экв, сорбируемого на единицу объема или массы ионита. Для большинства ионитов емкость составляет от 1 до 6-8 мг-экв. На емкость ионита влияет рН раствора, размер его зерен, число функциональных групп в каркасе ионита, размер поглощаемых молекул или ионов.

Перед употреблением промышленные иониты подвергают обработке кислотой или щелочью. Особенностью ионитов является способность к их многократной регенерации, после которой восстанавливается их ионообменная способность.

Количественный анализ проводится в результате обменной реакции на колонках, заполненных адсорбентом, и состоит из следующих операций:

- 1) подготовка ионита для заполнения колонки;
- 2) подготовка колонки;
- 3) хроматографирование и определение содержания анализируемого вещества;
- 4) регенерация ионита.

Подготовка сорбента

5-10 г сорбента (с размером частиц 0,2-0,5 мм) помещают в стакан, промывают 2-3 раза дистиллированной водой, заливают разведенной хлористо-

дородной кислотой и оставляют набухать в течение 12 часов при периодическом перемешивании.

В случае анионообменного сорбента хлористоводородную кислоту отмывают несколько раз водой, заливают 5%-ным раствором натрия карбоната или 2%-ным раствором натрия гидроксида и оставляют на 2-4 часа. Настаивание с раствором натрия карбоната или щелочи повторяют несколько раз до отрицательной реакции на хлорид-ион. Подготовленные таким образом сорбенты промывают 1-2 раза дистиллированной водой, переносят в колонку и промывают водой до нейтральной реакции.

Подготовка колонки

Колонка для хроматографирования представляет собой стеклянную трубку, нижняя суженная часть которой снабжена стеклянным краном или каучуковой трубкой с зажимом для регулирования скорости фильтрации. На высоте 0,5-1 см от места сужения трубки впаивают пористую стеклянную пластинку.

Обычно применяют колонки длиной 15-25 см с внутренним диаметром 1-2 см.

Колонку устанавливают в строго вертикальном положении. Кран закрывают и колонку на 3/4 заполняют дистиллированной водой. Затем подготовленный сорбент смывают в колонку, одновременно открывая кран. Нужно строго следить, чтобы между зернами сорбента в колонке не задерживались пузырьки воздуха. Оставшиеся пузырьки воздуха можно удалить, пропуская через колонку снизу вверх струю воды. Когда слой сорбента достигнет высоты 8-10 см, закрывают кран и поверх сорбента помещают тампон из ваты, препятствующий всплыванию зерен к поверхности раствора.

Над ватным тампоном всегда должен быть слой жидкости не менее 1 см.

Хроматографирование и определение содержания анализируемого вещества

Перед началом определения следует проверить реакцию воды, вытекающей из колонки, она должна быть нейтральной. В противном случае колонку

следует дополнительно промыть водой. Затем 5-10 мл анализируемого раствора, приготовленного, как указано в соответствующей статье, переносят в хроматографическую колонку, поддерживая скорость вытекания 20-25 капель в минуту. Собирают вытекающую жидкость в коническую колбу, промывают колонку водой до нейтральной реакции, собирая промывную воду в ту же колбу, и поддерживая ту же скорость вытекания жидкости из колонки.

Регенерация сорбента

Через колонку катионообменного сорбента пропускают 4% раствор кислоты, через колонку анионообменного сорбента - 5% раствор натрия карбоната или 2% раствор щелочи до тех пор, пока концентрация отходящей кислоты или щелочи не станет равной исходной. Затем колонку промывают дистиллированной водой до нейтральной реакции.

При анализе, одну и ту же колонку с сорбентом можно использовать для 10-12 определений без ее регенерации.

Поглощение ионов ионитами происходит в статических или динамических условиях. В первом случае ионит непосредственно помещают в исследуемый раствор и между содержанием определяемых ионов в растворе и ионитом возникает равновесие. Во втором случае исследуемый раствор пропускают через слой ионита. При этом равновесие не наступает, так как по мере продвижения раствор проходит сквозь свежие порции ионита.

Метод ионообменной хроматографии используется в фармацевтическом анализе для количественного определения солей органических и минеральных кислот, солей алкалоидов и азотистых оснований и других групп лекарственных веществ на катионообменных и анионообменных сорбентах.

Для количественного определения солей минеральных органических кислот, образованных сильным основанием и сильной кислотой (калия йодид, натрия йодид, кальция хлорид, натрия хлорид, натрия сульфат, натрия бензоат, натрия салицилат и т.д.) можно использовать как катионит так и анионит.

Для определения субстанции точную навеску препарата (0,3-0,5 г) растворяют в воде и доводят водой до метки, используя мерную колбу емкостью

50мл. 5 мл полученного раствора пропускают через колонку с катионитом (или анионитом) со скоростью 20-25 капель в минуту, промывают водой до нейтральной реакции промывных вод и титруют 0,1М раствором натрия гидроксида (катионит) или 0,1 М раствором кислоты хлористоводородной (анионит) в присутствии соответствующего индикатора. Если через колонку пропущен раствор соли органической кислоты (натрия бензоат, натрия салицилат), то выделяется кислота нерастворимая в воде, в таком случае колонку промывают спиртом до нейтральной реакции.

Содержание препарата рассчитывают по формуле:

$$C\% = \frac{V \cdot T \cdot КП \cdot 50,00 \cdot 100}{a \cdot 5,00}, \text{ где}$$

V – объем 0,1 М раствора натрия гидроксида или кислоты хлористоводородной, пошедший на титрование, мл;

T – титр титранта по определяемому веществу, г/мл;

$КП$ – поправочный коэффициент;

50,00 – объем мерной колбы, мл;

a – точная навеска препарата, г;

5,00 – объем раствора, взятого из разведения, мл.

Если анализируются растворы, например: раствор натрия йодида 3%, раствор кальция хлорида 3%, раствор натрия хлорида 0,9%, в этом случае навески рассчитывают по формуле:

$$a = \frac{V \cdot T \cdot КП \cdot 100}{C\%}, \text{ где}$$

$C\%$ – содержание определяемого вещества по прописи.

При анализе сложных лекарственных форм возможно определение входящих ингредиентов без предварительного разделения.

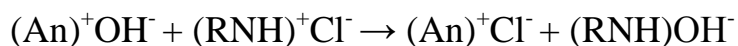
Для определения лекарственных веществ солей алкалоидов, а также ряда синтетических лекарственных веществ разработаны методы ионообменной хроматографии, которые могут иметь два пути решения: определение солей при

помощи катионита (определение по кислотному остатку) или при помощи анионита (по действующему веществу).

Несмотря на сложность определения с использованием анионита, предпочтение отдается именно этому методу, так как только таким способом можно определить действующее вещество.

Для количественного определения субстанции солей алкалоидов и азотистых оснований с помощью анионита

0,03-0,05 г препарата растворяют в 5 мл воды или спирта, подкисляют каплей разведенной кислоты хлористоводородной и раствор медленно пропускают через колонку с анионитом. При этом выделяется основание по реакции:



Учитывая, что образующиеся основания алкалоидов трудно растворимы в воде, для достижения полноты вымывания оснований кокаина, хинина, морфина, этилморфина, скополамина анионит обрабатывают 5-6 раз 5мл 95% спирта, а затем 1-2 раза 5-10 мл воды до отрицательной реакции на основание испытуемой соли, для чего 3-4 мл последнего фильтрата упаривают до 2-3 капель и к остатку добавляют 1-2 капли реактива, позволяющего идентифицировать анализируемое лекарственное средство.

Основания кодеина, эфедрина, прокаина г/х (новокаина), вследствие их растворимости в воде элюируют водой.

Для количественного определения лекарственных форм, в состав которых входят соли органических оснований и минеральных кислот, можно для количественного определения использовать и катионит. Метод ионообменной хроматографии применяется и для анализа сложных лекарственных форм, содержащих соли алкалоидов или азотистых оснований. При этом используют способность катионитов адсорбировать вещества, обладающие основными свойствами: амидопирин, гексаметилентетрамин, кофеин и другие. Вследствие этого, они не мешают определению солей алкалоидов в лекарственных формах.

Тонкослойная хроматография

Тонкослойная хроматография представляет собой метод разделения, в котором используется неподвижная фаза, состоящая из подходящего материала, нанесенного в виде стандартизованного тонкого слоя и зафиксированного на подложке (пластинке или пластине) из стекла, металла или пластмассы. Перед хроматографированием растворы анализируемых веществ наносят на пластинку. Разделение основано на процессах адсорбции, распределения, ионного обмена или на их комбинации и осуществляется посредством перемещения в тонком слое (неподвижной фазе) исследуемых веществ, растворенных в растворителе или соответствующей смеси растворителей (подвижной фазе).

Оборудование

Предварительная подготовка пластинок. В некоторых случаях может понадобиться промывка пластинок перед хроматографированием, которая может быть выполнена посредством предварительного элюирования чистых пластинок в подходящем растворителе. Пластинки могут быть также импрегнированы (пропитаны) посредством таких процедур, как элюирование, погружение или опрыскивание. Перед использованием пластинки активируют, если необходимо, посредством нагревания в термостате при температуре от 100⁰С до 105⁰С в течение 1 ч.

Хроматографическая камера представляет собой емкость с плотно подогнанной крышкой и с плоским дном или дном с двумя желобами из инертного прозрачного материала, соответствующими по размеру используемым пластинкам. Для горизонтального элюирования хроматографическая камера имеет желоб для подвижной фазы и дополнительно содержит устройство для подачи подвижной фазы к неподвижной фазе.

Микропипетки, микрошприцы, калиброванные капилляры или другие устройства, пригодные для нанесения растворов.

Устройство для обнаружения или тушения флуоресценции.

Проявляющие реактивы – для обнаружения разделенных веществ посредством опрыскивания, обработки парами или погружения.

Методика

Вертикальное элюирование. Стенки хроматографической камеры выстилают фильтровальной бумагой. Подвижную фазу наливают в камеру в количестве, достаточном для того, чтобы после смачивания фильтровальной бумаги покрыть дно камеры слоем жидкости, необходимым для хроматографирования. Для насыщения хроматографическую камеру с подвижной фазой закрывают крышкой и выдерживают в течение 1ч при температуре от 20⁰С до 25⁰С.

Объемы растворов анализируемых веществ, указанные в частной статье, наносят небольшими порциями, получая полосы или круглые пятна на подходящем расстоянии от нижнего края и от боковых краев пластинки. Растворы наносят на линию, параллельную нижнему краю пластинки, с расстоянием не менее 10 мм между пробами.

После испарения растворителей из нанесенных проб пластинку помещают в хроматографическую камеру как можно более вертикально, следя за тем, чтобы пятна или полосы находились выше поверхности подвижной фазы. Камеру закрывают, оставляют ее при температуре от 20⁰С до 25⁰С в защищенном от прямых солнечных лучей месте. После того, как подвижная фаза пройдет расстояние, указанное в частной статье, пластинку вынимают, сушат и обнаруживают пятна способом, указанным в частной статье.

В случае двухмерной хроматографии после первого хроматографирования пластинку сушат и выполняют второе хроматографирование в направлении, перпендикулярном первому.

Горизонтальное элюирование. Объемы растворов анализируемых веществ, указанные в частной статье, наносят небольшими порциями, получая круглые пятна (от 1 мм до 2 мм в диаметре) или полосы (длиной от 5 мм до 10 мм и шириной от 1 мм до 2 мм) на подходящем расстоянии от нижнего края и от боковых краев пластинки. Растворы наносят на линию, параллельную нижнему краю пластинки, с интервалом не менее 5 мм между нанесенными пробами. После испарения растворителей из нанесенных проб, в желоб хроматогра-

фической камеры вводят с помощью шприца или пипетки достаточное количество подвижной фазы, помещают пластинку горизонтально в хроматографическую камеру и подсоединяют устройство для подачи подвижной фазы в соответствии с инструкцией производителя. Если указано в частной статье, пластинку элюируют, начиная одновременно с двух концов. Камеру закрывают и проводят хроматографирование при температуре от 20 °С до 25 °С. После того, как подвижная фаза пройдет расстояние, указанное в частной статье, пластинку вынимают, сушат и обнаруживают пятна указанным способом.

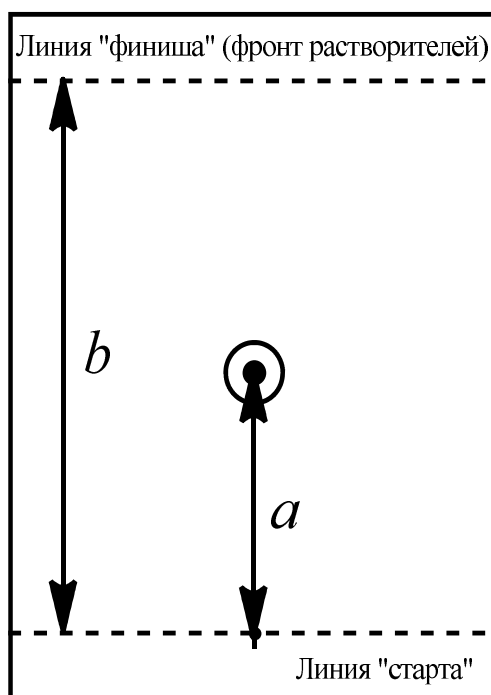


Рис. 22. Схема определения R_f

В случае двумерной хроматографии после первого хроматографирования пластинку сушат и выполняют второе хроматографирование в направлении, перпендикулярном первому.

Визуальная оценка

Идентификация. Основное пятно на хроматограмме, полученной для испытуемого раствора, сравнивают визуально с соответствующим пятном на хроматограмме, полученной для раствора стандартного образца (раствора сравнения), сравнивая окраску (цвет флуоресценции), размер и величину удерживания R_f обоих пятен.

Величину удерживания R_f определяют как отношение расстояния от точки нанесения пятна до центра пятна после хроматографирования к расстоянию, пройденному фронтом растворителя от точки нанесения:

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

где

a – расстояние от линии старта до центра пятна;

b – расстояние от линии старта до фронта подвижной фазы.

Более точной оценкой хроматографической подвижности, мало чувствительной к влиянию случайных отклонений в условиях проведения эксперимента, является **величина R_s** , представляющая собой отношение величины R_f одного вещества к величине R_f другого вещества, принятого за стандарт:

$$R_s = \frac{R_f}{R_{f_{ст}}}.$$

Испытание на специфические примеси. Дополнительное пятно (пятна) на хроматограмме, полученной для испытуемого раствора, сравнивают визуально с соответствующим пятном (пятнами) на хроматограмме, полученной для раствора сравнения. В качестве стандартного образца для приготовления раствора сравнения используют как саму примесь (примеси), так и различные разбавления испытуемого раствора.

Проверка чувствительности. Чувствительность считается удовлетворительной, если пятно или полоса четко обнаруживаются на хроматограмме, полученной с наиболее разбавленным раствором сравнения.

Методика. Если нет других указаний в частной статье, хроматографическое разделение выполняют восходящим способом в насыщенной атмосфере.

Предпочтительнее использовать такие подвижные фазы, которые обеспечивают величины R_f испытуемых соединений в пределах от 0,3 до 0,7.

Если нет других указаний в частной статье, пятна или полосы наносят на расстоянии не менее 15 мм от нижнего края и не менее 10 мм от боковых краев пластинки.

Слой жидкости в хроматографической камере должен быть таким, чтобы после помещения в него пластинки пятна или полосы находились над уровнем жидкости.

Если условия насыщения хроматографической камеры, нанесения пятен или хроматографирования отличаются от указанных выше, они должны быть описаны в частной статье.

Теория хроматографического разделения ГХ, ВЭЖХ

Известно несколько теорий хроматографического разделения. Наиболее популярны теория теоретических тарелок и кинетическая теория.

Теория теоретических тарелок основана на некоторых допущениях:

- 1) колонка состоит из определённого числа теоретических тарелок;
- 2) равновесие на каждой тарелке устанавливается мгновенно;
- 3) на любой тарелке в любой момент времени число молекул (ионов) сорбируемых компонентов пробы значительно меньше, чем число сорбируемых молекул (ионов) элюента (подвижная фаза, вводимая в слой неподвижной фазы), т.е. вводимая проба должна быть малой;
- 4) все протекающие на колонке процессы рассматриваются как взаимно независимые.

Теоретическая тарелка – это гипотетическая зона, высота которой соответствует достижению равновесия между двумя фазами. Чем больше теоретических тарелок в колонке, тем эффективнее колонка. Эффективность колонки – это характеристика качества колонки, определяемая числом теоретических тарелок и высотой теоретической тарелки. Согласно этой теории хроматографическая колонка мысленно делится на ряд элементарных участков-«тарелок», и на каждой тарелке очень быстро устанавливается равновесия между сорбентом и подвижной фазой (ПФ). Каждая новая (ПФ вызывает смещение этого равновесия, вследствие чего часть вещества переносится на следующую тарелку. В результате этого хроматографируемое вещество распределяется на не-

скольких тарелках, причём на средних тарелках его концентрация оказывается максимальной по сравнению с соседними тарелками.

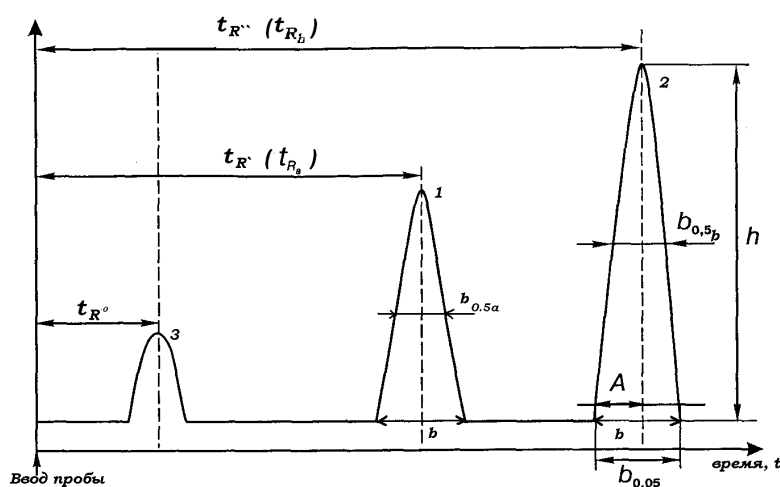


Рис. 23. Схема дифференциальной хроматограммы ВЭЖХ
(высокоэффективная жидкостная хроматография)

На рис. 23 схематически изображена хроматограмма в случае разделения трехкомпонентной смеси, состоящей из компонента 1 и 2, сорбируемых в колонке, и компонента 3, не сорбируемого в колонке. Каждому из трёх компонентов на хроматограмме отвечает свой пик. По оси абсцисс откладывается время, по оси ординат – аналитический сигнал, зависящий от концентрации веществ в элюате. Время от момента ввода пробы до регистрации максимума пика называют *временем удерживания* (элюирования) t_R .

Время удерживания – качественная характеристика каждого вещества.

- t_R^0 – время выхода несорбируемого компонента (3) (расстояние вдоль базовой линии от точки ввода пробы до перпендикуляра, опущенного из максимума пика несорбируемого компонента, мм);
- t_R^1 (t_{Ra}) – время удерживания вещества 1 (расстояние вдоль базовой линии от точки ввода пробы до перпендикуляра, опущенного из максимума пика, мм);
- t_R^2 (t_{Rb}) – время удерживания вещества 2 (расстояние вдоль базовой линии от точки ввода пробы до перпендикуляра, опущенного из максимума пика, мм);
- b – ширина пиков (1, 2), мм;

- $b_{0,5a}$; $b_{0,5b}$ – ширина пиков на половине их высоты, мм
- $b_{0,05}$ – ширина пика на 1/20 его высоты, мм;
- h – высота пика соответствующего компонента;
- A – расстояние между перпендикуляром, опущенным из максимума пика, и передним краем пика на 1/20 его высоты;
- L – длина хроматографической колонки;
- КВНФ, КВПФ – количество растворённого вещества в неподвижной фазе (НФ) и подвижной фазе (ПФ);
- K – равновесный коэффициент, равный отношению концентрации определяемого вещества в неподвижной и подвижной фазах;
- V_s, V_m – объём неподвижной и подвижной фаз соответственно;
- h_n – абсолютное значение наибольшей флуктуации шума от базовой линии на хроматограмме контрольного раствора, которое наблюдается на промежутке, равному двадцатикратной ширине на половине высоты пика, помещенному равномерно около места размещения пика;
- S – площадь пика.

Хроматографический процесс характеризуется следующими критериями: удерживание, эффективность и степень разделения. Их определяют по хроматограмме.

Для идентификации веществ пользуются относительным *объёмом удерживания* (r). Для вещества 1 относительный объём удерживания рассчитывают по формуле:

$$r = \frac{t_{R^1} - t_{R^0}}{t_{cm} - t_{R^0}},$$

где t_{cm} – время удерживания стандартного вещества.

Для проверки достоверности результатов анализа используют такие показатели, как коэффициент симметрии пика, коэффициент разделения, число теоретических тарелок, коэффициент ёмкости компонента и отношение сигнал/шум.

Форма пика зависит от нагрузки и условий хроматографирования. При правильном выборе условий хроматографирования образуются симметричные пики. Иногда образуются пики с «хвостом» или пики с крутым задним фронтом. Для проверки правильности выбора условий хроматографирования определяют *коэффициент симметрии пика* (K_s):

$$K_s = \frac{b_{0,05}}{2A}$$

Разделение смеси на отдельные пики по мере их продвижения колонкой характеризуется *коэффициентом разделения* (R_s):

$$R_s = \frac{1,18 \cdot (t_{R_b} - t_{R_a})}{b_{0,5a} + b_{0,5b}}; t_{R_b} > t_{R_a}$$

Если $R_s < 1$, то разделение двух веществ неполное. При $R_s > 1$ наблюдается полное разделение двух компонентов смеси.

Эффективность колонки количественно выражается *числом теоретических тарелок* (n):

$$n = 5.54 \left(\frac{t_R}{b_{0.5}} \right)^2$$

Чем эффективнее колонка, тем образуются более узкие пики.

Как характеристику эффективности колонки используют также *высоту* (H), эквивалентную *теоретической тарелке* (ВЭТТ), которую рассчитывают по формуле:

$$H = \frac{L}{n}$$

Коэффициент ёмкости K' , или *коэффициент распределения* D_m , определяют как:

$$D_m = K' = \frac{KBH\Phi}{KBП\Phi} = k \frac{V_s}{V_m} = \frac{t_{R'}(t_{R''}) - t_{R^0}}{t_{R^0}}$$

Если коэффициент ёмкости K' мал, то вещество слабо удерживается и продвигается по колонке практически с той же скоростью, что и подвижная фаза.

за (ПФ). Если же коэффициент ёмкости слишком велик, то время пребывания вещества в колонке будет большим и на анализ потребуется много времени.

Во время записи хроматографического процесса даже в холостом опыте самописец фиксирует не прямую, а волнистую линию. Это так называемый «шум». Погранично допустимый уровень шумов регламентируют отношением *сигнал/шум* (S/N), которое определяют по формуле:

$$S / N = \frac{2h}{h_n}$$

Количественный анализ методом ВЭЖХ основывается на предположении, что площади (или высоты) пиков, которые отвечают индивидуальным веществам на хроматограмме пропорциональны их количеству или концентрации.

Площадь пиков S на хроматограмме измеряют при помощи планиметра, интеграторов площади пиков, взвешиванием вырезанных пиков или вычисляют по следующим формулам:

$$S = \frac{hb}{2}; \quad S = hb_{0,5}$$

Количественное содержание вещества можно определять следующими методами: метод абсолютного градуирования, внутреннего стандарта, метод нормирования.

ТЕСТОВЫЕ ЗАДАНИЯ

1. Химик ОТК фармацевтического предприятия проводит анализ поступившей субстанции нитразепама методом восходящей тонкослойной хроматографии. После нанесения необходимых растворов на хроматографическую пластинку, работник поместил ее в хроматографическую камеру. Когда он должен вынуть пластинку из камеры?

- A. *Когда фронт растворителей дойдет до линии “финиша”
- B. Когда пятно ФСО нитразепама поднимется на 1 см от линии “старта”
- C. Когда на линии “финиша” появится первое пятно
- D. Через 1 час после начала хроматографирования

Е. Через 10 минут после начала хроматографирования

2. Идентификацию субстанции рибофлавина проводят методом ТСХ.

Положительным результатом считается наличие основного пятна на хроматограмме исследуемого раствора:

А. *На уровне основного пятна на хроматограмме раствора ФСО

В. Выше основного пятна на хроматограмме раствора ФСО

С. Ниже основного пятна на хроматограмме раствора ФСО

Д. На линии финиша

Е. На линии старта

3. Лаборант ЦЗЛ фармацевтического предприятия провел согласно АНД идентификацию лекарственной субстанции методом хроматографии в тонком слое сорбента. После проявления хроматографической пластинки он обнаружил пятно, расстояние от линии старта до центра которого составило 4 см, при этом фронт растворителей прошел расстояние 10 см. Определите значение характеристической величины R_f для данной субстанции:

А. * $R_f = (4/10) = 0,4$

В. $R_f = 4 \times 10 = 40$

С. $R_f = (10 + 4)/2 = 7$

Д. $R_f = (10/4) = 2,5$

Е. $R_f = (10 - 4)/10 = 0,6$

4. В соответствии с требованиями ГФУ, идентификацию нитрофурала проводят хроматографическим методом. Какой вид хроматографии используют с этой целью?

А. *Тонкослойная

В. Катионообменная

С. Анионообменная

Д. Газожидкостная

Е. Распределительная на бумаге

5. Специалист лаборатории Государственной службы по лекарственным средствам может идентифицировать лекарственное вещество методом газожидкостной хроматографии по:

- А.** *Параметрам удерживания
- В.** Высоте хроматографического пика
- С.** Площади хроматографического пика
- Д.** Коэффициенту распределения
- Е.** Отношению ширины пика к его высоте

6. В контрольно-аналитической лаборатории определяется количественное содержание натрия цитрата методом ионообменной хроматографии с использованием катионита. Какой титрованный раствор необходимо использовать для последующего титрования образующейся лимонной кислоты?

- А.** *Раствор натрия гидроксида
- В.** Раствор натрия эдетата
- С.** Раствор кислоты соляной
- Д.** Раствор йода
- Е.** Раствор калия йодата

РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Беликов В.Г. Фармацевтическая химия: Учебное пособие. – 4-е изд., перераб. и доп. – М.: МЕДпресс-информ, 2007.
2. Біофізика. Фізичні методи аналізу та метрологія: підруч. для студ. вищ. фармац. закл. III-IV рівнів акредитації / Е. І. Личковський, В. О. Тіманюк, О. В. Чалий [та ін.] ; за ред. Е. І. Личковського, В. О. Тіманюка. – Вінниця : Нова книга, 2014.
3. Васильев В.П. Аналитическая химия. В 2 кн. Кн. 2. Физико-химические методы анализа: Учебн. для студ. вузов, обучающихся по химико-технол. спец. - 2-е изд., перераб. и доп. – М.: Дрофа, 2002.
4. Глущенко Н.Н., Плетнева Т.В., Попков В.А. Фармацевтическая химия: Учебник / Под ред. Т.В. Плетневой. – М.: Изд. центр «Академия», 2004.
5. Державна Фармакопея України / ДП "Науково-експертний фармакопейний центр". – 1-е вид. – Харків: "РІРЕГ", 2001. [Доповнення 1. –2004; Доповнення 2. – 2008; Доповнення 3. – 2009; Доповнення 4. – 2011].
6. Колесник Ю.М. та ін. Методичні рекомендації з підготовки і проведення ліцензійних інтегрованих іспитів «Крок» як стандартизованої системи оцінювання якості освіти відповідно до вимог Болонського процесу. – Запоріжжя: ЗДМУ, 2008.
7. Лицензионный экзамен «Крок 2. Фармация»: Уч.-метод. пособие для самост. подготовки студентов фарм. ф-та / Под общ. ред. Колесника Ю.М. – Запорожье: ЗГМУ, 2002.
8. Машковский М.Д. Лекарственные средства. 15-е изд., перераб., испр. и доп. – М.: ООО «Издательство Новая Волна», 2005.
9. Общие методы анализа лекарственных средств и лекарственных препаратов: Учебн. пособ. / И.А. Мазур, Р.С. Синяк, А.А. Крапивной и др.; Под ред. И.А. Мазура. – Запорожье: Издательство ЗГМУ, 2003.

10. Основы аналитической химии. Практическое руководство: Учеб. пособие для вузов / В.И. Фадеева, Т.Н. Шеховцова, В.М. Иванов и др.; Под ред. Ю.А. Золотова. – М.: Высшая школа, 2001.

11. Потенциометрия в фармацевтическом анализе: Метод. пособие / Моряк З.Б., Проценко Т.В., Портная Е.А. и др.; Под ред Мазура И.А. – Запорожье, 2006.

12. Сучасні вимоги до організації роботи лабораторій з аналізу якості лікарських засобів / В.Г. Марченко, С.В. Сур, В.П. Черних та ін. – Харків: Вид-во НФаУ, 2002.

13. Фармацевтическая химия. Смысловой модуль 3.1 «Физические и физико-химические методы анализа лекарственных веществ и лекарственных форм» : учеб.-метод. пособие для студентов IV курса специальности «Фармация» / З. Б. Моряк [и др.] – Запорожье : ЗГМУ, 2014.

14. Фармацевтическая химия: Учеб. пособие / Под ред. А.П. Арзамасцева. – М.: ГЭОТАР-МЕД, 2004.

15. Фармацевтический анализ лекарственных средств. / Под ред. Шаповаловой В.А. – Харьков: ИМП «Рубикон», 1995.

16. Фармацевтична хімія : підруч. для студ. вищих мед. навч. закл. / П.О. Безуглий, І.С. Гриценко, І.В. Українець [та ін.]; за ред. П.О. Безуглого. – 2-ге вид., випр., доопр. – Вінниця : Нова книга, 2011.

17. Фармацевтична хімія. Аналіз лікарських речовин за функціональними групами: навчальний посібник (ВНЗ III–IV р. а.) / О.О. Цуркан, І.В. Ніженковська, О.О. Глушаченко. – 2-ге вид., переробл. і допов. – К.: ВСВ "Медицина", 2015.

18. Фармацевтична хімія. Аналіз препаратів біотехнологічного виробництва: Навчальний посібник для студентів вищих навчальних закладів III–IV рівнів акредитації / Георгіянц В.А., Безуглий П.О., Петрушова Л.О. та ін. – Х.: НФаУ: Золоті сторінки, 2013.

19. Фармацевтичний аналіз : навч. посіб. для студ. вищих навч. закл. / За заг. ред. В. А. Георгіянц – Х. : НФаУ, Золоті сторінки, 2013.

- 20.** Фармацевтичний аналіз: навч. посібник. / За ред. П.О. Безуглого. – Харків: Вид. НФаУ; «Золоті сторінки», 2001.
- 21.** Фотометрия в фармацевтическом анализе: Методическое пособие / Мазур И.А., Моряк З.Б., Проценко Т.В. и др. - Запорожье, 1999.
- 22.** Харитонов Ю.Я. Аналитическая химия (аналитика): Учебник для вузов. – В 2 кн. – М.: Высшая школа, 2003.
- 23.** Хроматография в фармацевтическом анализе: Учеб. пособие для студентов 4-5 курсов фарм. ф-та. / Мазур И.А., Морозова Е.О., Проценко Т.В. – Запорожье, 1995.
- 24.** Черних В.П., Зіменковський Б.С., Гриценко І.С. Органічна хімія: Підруч. для студ. вищ. навч. закл. – 2-ге вид., випр. і доп. – Х: Вид-во НФаУ; Оригінал, 2008.
- 25.** Шаповалов В.А., Черных В.П., Коваленко С.Н. Физико-химические методы анализа лекарственных средств: Учебн. пособ. для студентов вузов. – Харьков: Изд-во НФаУ; Оригинал, 2006.

ИСПОЛЬЗОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

1. Аксенова Э.Н. и др. Руководство к лабораторным занятиям по фармацевтической химии / Под ред. А.П. Армазасцева. – Медицина, 1987.
2. Бабко А.К., Пилипенко А.Г. Фотометрический анализ. Общие сведения и аппаратура, 1968.
3. Беликов В.Г. Фармацевтическая химия: Учебное пособие. – 4-е изд., перераб. и доп. – М.: МЕДпресс-информ, 2007.
4. Біофізика. Фізичні методи аналізу та метрологія: підруч. для студ. вищ. фармац. закл. III-IV рівнів акредитації / Е. І. Личковський, В. О. Тіманюк, О. В. Чалий [та ін.] ; за ред. Е. І. Личковського, В. О. Тіманюка. – Вінниця : Нова книга, 2014.
5. Булатов И.И., Калинин М.И. Практическое руководство по фотоэлектроколориметрическим методам анализа, 1976.
6. Булах І.Є., Мруга М.Р. Створюємо якісний тест: Навч. посіб. – К.: Майстер-клас, 2006.
7. Васильев В.П. Аналитическая химия. В 2 кн. Кн. 2. Физико-химические методы анализа: Учеб. для студ. вузов, обучающихся по химико-технол. спец. – 2-е изд., перераб. и доп. – М.: Дрофа, 2002.
8. Глуценко Н.Н., Плетнева Т.В., Попков В.А. Фармацевтическая химия: Учебник / Под ред. Т.В. Плетневой. – М.: Изд. центр «Академия», 2004.
9. Державна Фармакопея України / ДП "Науково-експертний фармакопейний центр". – 1-е вид. – Харків: "РІРЕГ", 2001. [Доповнення 1. –2004; Доповнення 2. – 2008; Доповнення 3. – 2009; Доповнення 4. – 2011].
10. Иоффе В.В. Рефрактометрический метод анализа, 1974.
11. Казицина Л.А., Куплетская Н.Е. Применение УФ-, ИК-, ЯМР-спектроскопии в органической химии. – М.: Мир, 1970.
12. Коваленко С.І., Васюк С.О., Портна О.О. Комплексиметрія у фармацевтичному аналізі: Навчальний посібник. – Вінниця: НОВА КНИГА, 2008.

13. Колесник Ю.М. та ін. Методичні рекомендації з підготовки і проведення ліцензійних інтегрованих іспитів «Крок» як стандартизованої системи оцінювання якості освіти відповідно до вимог Болонського процесу. – Запоріжжя: ЗДМУ, 2008.
14. Коренман И.М. Методы количественного химического анализа. – М.: Химия, 1989.
15. Крешков А.П., Ярославцев А.А. Курс аналитической химии. / Под ред. Крешкова А.П. – 5-е изд. испр. – М.: Химия, 1982.
16. Кулешова М.И. и др. Анализ лекарственных форм, изготовляемых в аптеках. – М.: Медицина, 1989.
17. Кунце У., Шведт Г. Основы качественного и количественного анализа: Пер. с нем. – М.: Мир, 1997.
18. Лабораторные работы по фармацевтической химии / Под ред. Беликова В.Г. – М.: Высшая школа, 1989.
19. Лицензионный экзамен «Крок 2. Фармация»: Уч.-метод. пособие для самост. подготовки студентов фарм. ф-та / Под общ. ред. Колесника Ю.М. – Запорожье: ЗГМУ, 2002.
20. Ляликов Ю.С. Физико-химические методы анализа, 1974.
21. Мазур И.А., Бородин Л.И., Коваленко С.И. и др. Создание современной системы контроля качества лекарственных препаратов в Украине. – Запорожье: ЗГМУ, 1999.
22. Майофис Л.С. Химия и технология химико-фармацевтических препаратов. – Ленинград: Медицина, 1964.
23. Максютин Н.П. и др. Анализ фармацевтических препаратов и лекарственных форм. – К.: Здоров'я, 1976.
24. Максютин Н.П. и др. Методы анализа лекарств. – К.: Здоров'я, 1984.
25. Машковский М.Д. Лекарственные средства. 15-е изд., перераб., испр. и доп. – М.: ООО «Издательство Новая Волна», 2005.
26. Мелентьева Г.А., Цуркан А.А., Гулимова Т.Е. Анализ фармакопейных препаратов по функциональным группам. – В 4-х частях. – Рязань, 1981.

- 27.** Общие методы анализа лекарственных средств и лекарственных препаратов: Учебн. пособ. / И.А. Мазур, Р.С. Синяк, А.А. Крапивной и др.; Под ред. И.А. Мазура. – Запорожье: Издательство ЗГМУ, 2003.
- 28.** Основы аналитической химии. Практическое руководство: Учеб. пособие для вузов / В.И. Фадеева, Т.Н. Шеховцова, В.М. Иванов и др.; Под ред. Ю.А. Золотова. – М.: Высшая школа, 2001.
- 29.** Петренко В.В., Стрілець Л.М., Васюк С.О. та ін. Кількісний аналіз. Титриметричні методи аналізу: Навчальний посібник. – Запоріжжя: ЗДМУ, 2006.
- 30.** Погодина Л.И. Анализ многокомпонентных лекарственных форм. – Минск: Вышш. шк., 1985.
- 31.** Пособие по химическому анализу лекарств. / Под ред. М.И. Кулешовой. – М.: Медицина, 1974.
- 32.** Потенциометрия в фармацевтическом анализе: Метод. пособие / Моряк З.Б., Проценко Т.В., Портная Е.А. и др.; Под ред Мазура И.А.. - Запорожье: ЗГМУ, 2006.
- 33.** Практическое руководство по физико-химическим методам анализа / Под ред. И.П. Алимарина, В.М. Иванова. - М.: Изд-во Моск. ун-та, 1987.
- 34.** Руководство к лабораторным занятиям по фармацевтической химии / Под ред. П.Л. Сенова. – М.: Медицина, 1978.
- 35.** Синяк Р.С., Мазур И.А., Моряк З.Б. Методы количественного определения органических лекарственных веществ, содержащих подвижный атом водорода: Учебное пособие. – Запорожье: ЗГМУ, 1994.
- 36.** Справочник провизора-аналитика / Под ред. Волоха Д.С., Максютиной Н.П.. – К.: Здоров'я, 1989.
- 37.** Степаненко Б.Н. Учебник органической химии. – М.: Медицина, 1981.
- 38.** Сучасні вимоги до організації роботи лабораторій з аналізу якості лікарських засобів / В.Г. Марченко, С.В. Сур, В.П. Черних та ін. – Харків: Вид-во НФаУ, 2002.
- 39.** Терней А. Современная органическая химия (Т. I, II). – М.: Мир, 1981.

- 40.** Фармацевтическая химия. Смысловой модуль 3.1 «Физические и физико-химические методы анализа лекарственных веществ и лекарственных форм» : учеб.-метод. пособие для студентов IV курса специальности «Фармация» / З. Б. Моряк [и др.] – Запорожье : ЗГМУ, 2014.
- 41.** Фармацевтическая химия: Учеб. пособие / Под ред. А.П. Арзамасцева. – М.: ГЭОТАР-МЕД, 2004.
- 42.** Фармацевтический анализ лекарственных средств. / Под ред. Шаповаловой В.А. – Харьков: ИМП «Рубикон», 1995.
- 43.** Фармацевтична хімія : підруч. для студ. вищих мед. навч. закл. / П.О. Безуглий, І.С. Гриценко, І.В. Українець [та ін.]; за ред. П.О. Безуглого. – 2-ге вид., випр., доопр. – Вінниця : Нова книга, 2011.
- 44.** Фармацевтична хімія. Аналіз лікарських речовин за функціональними групами: навчальний посібник (ВНЗ III–IV р. а.) / О.О. Цуркан, І.В. Ніженковська, О.О. Глушаченко. – 2-ге вид., переробл. і допов. – К.: ВСВ "Медицина", 2015.
- 45.** Фармацевтична хімія. Аналіз препаратів біотехнологічного виробництва: Навчальний посібник для студентів вищих навчальних закладів III–IV рівнів акредитації / Георгіянц В.А., Безуглий П.О., Петрушова Л.О. та ін. – Х.: НФаУ: Золоті сторінки, 2013.
- 46.** Фармацевтичний аналіз : навч. посіб. для студ. вищих навч. закл. / За заг. ред. В. А. Георгіянц – Х. : НФаУ, Золоті сторінки, 2013.
- 47.** Фармацевтичний аналіз: навч. посібник. / За ред. П.О. Безуглого. – Харків: Вид. НФаУ; «Золоті сторінки», 2001.
- 48.** Физические методы анализа и метрология: учеб.-метод. пособие для преподавателей и студ. 2 курса по специальности "Фармация" / сост.: С. А. Васюк, А. С. Коржова, О. А. Тарханова. – Запорожье : ЗГМУ, 2011.
- 49.** Фотометрия в фармацевтическом анализе: Метод. пособие. / Мазур И.А., Моряк З.Б., Проценко Т.В. и др. – Запорожье: ЗГМУ, 1999.
- 50.** Харитонов Ю.Я. Аналитическая химия (аналитика): Учебник для вузов. – В 2 кн. – М.: Высшая школа, 2003.

51. Хроматография в фармацевтическом анализе: Учеб. пособие для студентов 4-5 курсов фарм. ф-та. / Мазур И.А., Морозова Е.О., Проценко Т.В. – Запорожье: ЗГМУ, 1995.

52. Черних В.П., Зіменковський Б.С., Гриценко І.С. Органічна хімія: Підруч. для студ. вищ. навч. закл. – 2-ге вид., випр. і доп. – Х: Вид-во НФаУ; Оригінал, 2008. – 752 с.

53. Шаповалов В.А., Черных В.П., Коваленко С.Н. Физико-химические методы анализа лекарственных средств: Учебн. пособ. для студентов вузов. – Харьков: Изд-во НФаУ; Оригинал, 2006.

СОДЕРЖАНИЕ

ПРЕДИСЛОВИЕ.....	3
РЕКОМЕНДАЦИИ СТУДЕНТАМ ПО ТАКТИКЕ ВЫБОРА ОТВЕТОВ ПРИ РАБОТЕ С ТЕСТОВЫМИ ЗАДАНИЯМИ ЛИЦЕНЗИОННОГО ЭКЗАМЕНА «Крок 2. Фармация»	5
ОСНОВНЫЕ СПОСОБЫ ПОЛУЧЕНИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ	6
ФИЗИЧЕСКИЕ И ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА ЛЕКАРСТВЕННЫХ СРЕДСТВ	19
ОПРЕДЕЛЕНИЕ РАСТВОРИМОСТИ	19
ОПРЕДЕЛЕНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ ПЛАВЛЕНИЯ.....	20
<i>Капиллярный метод</i>	21
<i>Открытый капиллярный метод</i>	22
<i>Метод мгновенного плавления</i>	23
<i>Температура каплепадения</i>	24
<i>Инструментальный метод</i>	25
РЕФРАКТОМЕТРИЯ.....	30
ПОЛЯРИМЕТРИЯ	37
ФОТОМЕТРИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА	46
<i>Основной закон светопоглощения</i>	47
<i>Основные причины несоблюдения закона Бугера-Ламберта–Бера</i>	50
<i>Спектры поглощения</i>	51
<i>Виды и выбор условий фотометрических определений</i>	52
<i>Основные методы определения концентрации в фотометрии</i>	56
<i>Применение фотометрии в фармацевтическом анализе</i>	60
ОПРЕДЕЛЕНИЕ pH РАСТВОРОВ	64
ПОТЕНЦИОМЕТРИЧЕСКОЕ ТИТРОВАНИЕ	65
ХРОМАТОГРАФИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ АНАЛИЗА.....	72
<i>Ионообменная хроматография</i>	73
<i>Тонкослойная хроматография</i>	79
<i>Теория хроматографического разделения ГХ, ВЭЖХ</i>	83
РЕКОМЕНДУЕМАЯ ЛИТЕРАТУРА	90
ИСПОЛЬЗОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА	93

Учебное издание

Черковская Л.Г., Моряк З.Б., Шабельник К.П., Кривошей О.В.,
Ткаченко Г.И., Авраменко Н.А., Скорина Д.Ю., Борсук С.А.

ФАРМАЦЕВТИЧЕСКАЯ ХИМИЯ

Основные способы получения лекарственных средств.
Физические и физико-химические методы анализа
лекарственных средств

*Учебно-методическое пособие
для самостоятельной работы студентов V курса
по подготовке к лицензионному экзамену
«Крок 2. Фармация»*

Підписано до друку _____. Гарнітура Times New Roman
Папір друкарський. Формат 60×84 1/16. Умовн. друк. арк. 0,9.
Наклад – 100 прим. Замовлення № _____.
Надруковано з оригінал-макету в типографії
Запорізького державного медичного університету
м. Запоріжжя, пр. Маяковського, 26, тел. 239-33-01.