**1. Актуальность темы**

Спектрофотомерия имеет сегодня большое значение для фарманализа, потому как метод обладает высокой чувствительностью и воспроизводимостью. Особо важна высокая чувствительность этого метода потому как многие современные лекарственные средства крайне трудно проанализировать химическими методами, потому как содержат малые количества действующего вещества. Многие вещества не дают реакции идущие в стехеометрическом соотношении(рутин). Нет методик количественного определения химическими методами в лекарственных формах (комплексные витаминные препараты, содержащие пиродоксин, рибофлавин и никотоинамид)

Спектрофотомерия в видимой области главным образом применяется для количественного определения веществ и определения содержания примесей, а также при установлении подлинности. Немало важно отметить, что данный метод применяется в связи с другими методами, например, ВЭЖХ, где спектрофотометр применяется как детектор. [4] Такое сочетание методов позволяет проводить качественный и количественный анализ с высокой точностью, при наличии большого количества веществ в смеси с близкими физико-химическими свойствами. Этот момент особо важен потому, как сегодня имеется большое число комбинированных препаратов, а так же при фарманализе необходимо проводить качественное и количественное определение примесей, которые могут быть как допустимыми, так и недопустимыми.

Применение в количественном анализе основано на изменении интенсивности проходящего света при поглощении. Эта зависимость отображена в законе Бугера-Ламберта-Бера.

Селективность при качественном анализе обеспечивается избирательным поглощением монохроматического света.

В зависимости от используемого оборудования различают спектрофотометрические методы - анализ по поглощению монохроматического света и колориметрические методы - анализ по поглощению немонохроматическому свету. В свою очередь спектрофотометрические методы подразделяются по длине волны (волновым числам). В 12 ГФ предложенная следующая классификация: В зависимости от используемой аппаратуры в фармацевтическом анализе различают следующие методы анализа, основанные на поглощении электромагнитного излучения и испускании света:

спектрофотометрия в ультрафиолетовой (УФ) и видимой областях;

спектрофотометрия в инфракрасной (ИК) области;

атомно-эмиссионная и атомно-абсорбционная спектроскопия (АЭС и ААС);

флуориметрия;

спектроскопия ядерного магнитного резонанса (ЯМР).

Ряд длин волн, для которых проводятся измерения методами абсорбционной спектрофотометрии, охватывает спектральную область от коротких длин волн в УФ-области до ИК-области. Для удобства отнесений этот спектральный ряд делится на следующие диапазоны длин волн: УФ (от 190 до 380 нм), видимый (от 380 до 780 нм), ИК (от 0,78 до 400 мкм). [1]

Принцип действия аппаратуры.

В спектрофотометрических методах применяют спектрофотометры - приборы, позволяющие проводить анализ как окрашенных, так и бесцветных соединений по избирательному поглощению монохроматического излучения в видимой, ультрафиолетовой и инфракрасной областях спектра. Природа полос поглощения в ультрафиолетовой и видимой областях спектра связана с различными электронными переходами в поглощающих молекулах и ионах (электронные спектры). В инфракрасной области она связана с колебательными переходами и изменением колебательных состояний ядер, входящих в молекулу поглощающего вещества (колебательные спектры).

Распространенная в настоящее время аппаратура позволяет измерять ультрафиолетовые спектры в области от 190 до 380 нм, видимые - от 380 до 780 нм, инфракрасные спектры - от 780 до 40 000 нм (40 мкм). [7]

**2. Теоретические основы метода**

При поглощении электромагнитной энергии света, она переходит в другие виды внутренней энергии. Это приводит к различным изменениям в системе: повышение теплового движения, возбуждение и ионизация молекул и их активация.

Был выявлен ряд закономерностей наблюдаемых при поглощении света, которые отображены в законе Бугера-Ламберта-Бера, а именно зависимость пропускания света от толщины поглощающего слоя, концентрации поглощающего компонента. Данная зависимость позволяет проводить как количественное определение веществ, так и установить их подлинность. Иными словами этот объединенный закон является основополагающим для спектрофотометрического анализа.

Закон поглощения в однородной среде для параллельного пучка монохроматического света был установлен Н. Бугером:

I = α I0 b

Где α-коэффициент пропорциональности, b-толщина слоя, I0 и I- интенсивность падающего и прошедшего излучения.

Уравнение можно представить также в виде:

I\I0 = -α b

А также в дифференцированном виде:

I = I0 e-αb

В каждом последующем слое среды одинаковой толщины поглощается одинаковая часть потока энергии, падающей на него, световой волны, независимо от его абсолютной величины.

При исследовании поглощения монохроматического света А. Бером было установлено, что α прямо пропорциональна концентрации вещества в растворе.



Где ᵪ - коэффициент поглощения раствора единичной концентрации, а С - концентрация

В итоге получается объединенное уравнение Бугера-Ламберта-Бера:

I = I0 e-ᵪСb

Или в системе десятичных логарифмов:

I = I0 10-ξСb(I\I0) = -ξС b

Где ξ=ᵪ\2.3

D= lg (I\I0)=lg (1\T)

T - пропускание, D - оптическая плотность. [2]

Теперь актуально рассмотреть процессы происходящие при поглощении электромагнитных волн в видимом диапазоне в молекулах.

Для всех явлений, при которых передвигаются электроны, имеет важное значение их энергетическое состояние (низкое и высокое). При поглощении волны электромагнитных колебаний наблюдается переход электронов на более высокий энергетический уровень. Каждому электронному переходу соответствует определенная полоса поглощения. То есть длины волн при которых происходит поглощение энергии. Интенсивность этой полосы зависит от вероятности перехода и количества частиц, способных такому переходу. энергия разрешенных переходов возрастает от n→ π\* > π→π\* > n→σ\* > σ→σ\*. В таком ряду наблюдается возрастание частоты и уменьшение длины волны.

Переход σ→σ\* наблюдать удается затруднительно и поэтому при фармакопейном анализе он не рассматривается. Эта энергия соответствует коротковолновому диапазону, что соответствует очень высокой энергии.

Важнейшим для анализа является π→π\*. Длина волны, которая поглощается этими веществами более 180 нм. К таким веществам относятся арены и ненасыщенные гетероциклические соединения.

Не менее важен для анализа переход n→ π\* характерен для альдегидов, кетонов. Он соответствует электронам непоселенной пары(300 нм). Так же есть и π→π\*, соответствующий кратной паре.

n→σ\* наблюдаются в спиртах, аминах. Алкил галогенидах (в УФ области ниже 250 нм)

σ - удерживается крайне прочно, по тому требуется значительное количество энергии. Энергия выделяемая при поглощении обратно пропорциональна дине волны, потому эти значения выходят за пределы шкалы используемого оборудования в близкой УФ области наблюдается возбуждение n и π электронов.

Наиболее важным являются n→ π\* и > π→π\*, в которых электрон с связывающей орбитами переходит на неустойчивую (разрыхляющую) орбиталь, согласно теории молекулярных орбиталей.

Особый интерес представляет изменение поглощения веществ, имеющих атомы с не поделенной парой электронов. При смене не полярного растворителя на полярный происходит гипсохромный сдвиг «синий сдиг», то есть требуется увеличение затраты энергии на возбуждение электрона. Смена растворителя на неполярный приводит к обратному эффекту (батмохронный сдвиг). Такой сдвиг (до 10 нм) наблюдают при переходе фенольного гидроксила из кислой среды в щелочную. Это связано с тем, что ранее электроны которые были не связывающими стали таковыми и образуют связь. Это лежит в основе метода определения наличия не поделенной пары электронов путем протонирования ее. Это в основном хорошо заметно в УФ области. В видимой области батмохронный и гипсохромные сдвиги можно наблюдать при смене лигандов в комплексных соединениях например, цианкобаломин имеет максимумы 278,361,550 нм, оксикобаломин 270-277, 352, 500,530 нм. В данном случаи происходит замена ционогруппы на гидроксигруппу.

Группы содержащие атомы с электронами способных к энергетическим переходам, называют хромофорами. Группы которые способные изменять поглощение других групп называют ауксохромами. Амино группа является типичным ауксохромом. [3]

В видимой области основными хромофорами являются нитро, нитрозо, диазогруппы. Имеют поглощение в видимой области азометиновые и индофеноловые красители, комплексные соединения металлов.

Спектрофотометрия в видимой области подразумевает проведение измерений в области от 360 до 780 нм.

Для проведения измерений применяются спектрофотометры, предназначенные для измерений в ультрафиолетовой и видимой областях спектра. Они состоят из оптической системы, выделяющей монохроматическое излучение в области от 190 до 780 нм и обеспечивающей его прохождение через образец, и устройства для измерения оптической плотности.

На сегодняшний день сконструированы различные спектрофотометры. Все эти варианты можно классифицировать по рабочим областям приборов, например, работающие только в УФ или ИК области, в УФ и видимом диапазоне, существуют приборы, проводящие измерения во всех диапазонах.

Основными частями этих приборов являются: источник излучения, диспергирующий прибор (призма или решетка), щель для выделения полосы длин волн, кюветы для образцов, детектор излучаемой энергии, встроенные усилители и измерительные приборы. Ниже приведена принципиальная схема спектрофотометра.



1) Источник излучения

) Призма

) Оптическая щель

) Кювета

) фотоэлемент с усилителем

) Детектор

В качестве источника излучения используются водородные, дейтериевые, ртутно-кварцевые, натриевые, а также ксеноновые лампы. Призма и оптическая щель требуются для получения монохроматического света. Они представляют светофильтр дающие монохроматический свет. Фотоэлемент служит для измерения интенсивности падающего света, а усилитель позволяет получить сигнал, который распознается детектором. Детектор преобразует сигнал в конкретные числовые значения.

Не маловажной деталью является кювета, к которой предъявляют требования:

Допустимые отклонения в толщине слоя используемых кювет должны быть не более +/ - 0,005 см.

Кюветы, предназначенные для испытуемого раствора и раствора сравнения, должны иметь одинаковое пропускание (или оптическую плотность) при заполнении одним и тем же растворителем. В противном случае это различие следует учитывать.

Калибровка оборудования

Проверка шкалы длин волн в УФ и видимой области. Точность калибровки прибора по шкале длин волн в спектральном ряду проверяют по приведенным в табл. 1 спектральным линиям водородной (Hбета) или дейтериевой (Dбета) разрядной лампы, линиям паров ртути (Hg) кварцево-ртутной дуговой лампы, а также по максимумам поглощения раствора гольмия перхлората (Ho) (готовый реактив для калибровки спектрофотометра представляет собой 4% раствор гольмия оксида в 1,4 М растворе хлорной кислоты). Допустимое отклонение составляет +/- 1 нм для ультрафиолетовой и +/- 3 нм для видимой области.

Таблица 1. Спектральные линии для проверки шкалы длин волн

|  |  |
| --- | --- |
| 241,15 нм (Ho) | 404,66 нм (Hg) |
| 253,7 нм (Hg) | 435,83 нм (Hg) |
| 287,15 нм (Ho) | 486,0 нм (Dбета) |
| 302,25 нм (Hg) | 486,1 нм (Hбета) |
| 313,16 нм (Hg) | 536,3 нм (Ho) |
| 334,15 нм (Hg) | 546,07 нм (Hg) |
| 361,5 нм (Ho) | 576,96 нм (Hg) |
| 365,48 нм (Hg) | 579,07 нм (Hg) |

Шкала длин волн может быть калибрована также при помощи подходящих стеклянных фильтров, которые имеют фиксированные полосы поглощения в видимой и УФ-областях, а также стандартных стекол, содержащих дидим (смесь празеодима и неодима), и стекол, содержащих гольмий.

Проверка шкалы оптической плотности. Для проверки шкалы оптической плотности используют стандартные неорганические стеклянные фильтры или раствор калия дихромата при длинах волн, указанных в табл. 2, где для каждой длины волны приведено точное значение удельного показателя поглощения A и допустимые пределы. Раствор калия дихромата готовят следующим образом: от 57,0 до 63,0 мг (точная навеска) калия дихромата, предварительно высушенного до постоянной массы при температуре 130 град. C, растворяют в 0,005 М растворе серной кислоты и доводят объем раствора тем же растворителем до 1000 мл.

Предельный уровень рассеянного света. Рассеянный свет может быть обнаружен при данной длине волны с использованием соответствующих фильтров или растворов: например, оптическая плотность раствора 12 г./л калия хлорида в кювете с толщиной слоя 1 см при 200 нм при использовании воды в качестве раствора сравнения должна быть больше 2.

Разрешающая способность (для качественного анализа). Если есть указание в частной статье, определяют разрешающую способность спектрофотометра следующим образом. Записывают спектр 0,02% (об/об) раствора толуола в гексане. Минимально допустимое значение отношения оптической плотности в максимуме поглощения при 269 нм к оптической плотности в минимуме поглощения при 266 нм указывают в частной статье.

Ширина спектральной щели (для количественного анализа). В случае использования спектрофотометра с изменяемой шириной спектральной щели при выбранной длине волны возможны погрешности, связанные с шириной этой щели. Для их исключения ширина щели должна быть малой по сравнению с полушириной полосы поглощения (шириной на половине оптической плотности) и в то же время должна быть максимально велика для получения высокого значения интенсивности падающего монохроматического излучения (Io). Таким образом, ширина щели должна быть такой, чтобы дальнейшее ее уменьшение не изменяло величину измеряемой оптической плотности. [1]

Сегодня на рынке имеется большое разнообразие спектрофотометров, различных производителей. Они обладают большой универсальностью, потому как работают не только в ультрафиолетовом диапазоне, но и видимом и ближнем инфракрасном диапазоне. Все это позволяет проводить различные исследования на одном и том же оборудовании.

Примером современного оборудования является аппаратура фирмы Jasco, SHIMADZU, Cary и другие.

Спектрофотометр УФ-видимой области Agilent Cary-50 (США) используется для измерений с практически неограниченными возможностями по расширению за счет большого выбора различных приставок и аксессуаров для анализа как жидких, так и твердых образцов (в том числе сканирование тонких пленок, измерение диффузного и полного отражения, кинетические исследования с перемешиванием в термостатируемых кюветах, и т.п.).

Области применения двухлучевого спектрофотометра Agilent Cary-50 в фармакопейном анализе:

для испытаний на подлинность в УФ-области спектра;

для количественных определений в УФ-области спектра;

для количественных определений в видимой области спектра;

для количественных определений в резонансной области спектра.

**3. Подготовка образцов**

Растворители

При подборе растворителя необходимо учесть растворимость вещества в растворителе, а также возможность растворителя поглощать излучение в данной области (растворитель должен быть оптически прозрачным в используемой области длин волн). Они должны быть специальной марки (химически чистыми и химически чистыми для анализа), они не должны иметь поглощающих примесей, контаминатов. Такие примеси могут существенно повлиять на достоверность измерений. Для этих областей длин волн. Согласно ГФ 12, пригодны многие растворители, в том числе вода, спирты, хлороформ, низшие углеводороды, эфиры и разбавленные растворы сильных кислот и щелочей (хлороводородная кислота и натрия гидроксид). Самым наилучшим растворителям с точки зрения измерений является низшие углеводороды, потому как в их молекулах нет возможности перехода электронов при поглощении волны в ультрафиолетовой области. [1]

Коэффициенты поглощения

Коэффициент поглощения для большинства систем используемых в абсорбционной спектрофотомерии является константой для конкретной субстанции и не зависит от интенсивности падающего излучения, толщины слоя раствора в кювете и концентрации. Все это обуславливает возможность применения этой величины при количественном определении вещества.

Есть исключения при которых не возможно использовать эту величину, такие случи возникают при сильной ассоциации молекул в растворе с молекулами растворителя и ионизации. Это приводит к отклонению от закона Бугера-Ламберта-Бера. В таких случаях пользуются калибровочным графиком.

Эта величина представляет собой удельный показатель поглощения, т.е. оптическую плотность раствора вещества с концентрацией 10 г./л (1 г/100 мл) в кювете с толщиной слоя 1 см. Существует также молярный коэффициент поглощения, который отличается от первых двух случаев тем, что концентрация выражена в моль\л. Эти величины являются экспериментально полученными, путем приготовления стандартных растворов. Для приготовления стандартных растворов применяются растворители, отвечающие вышеуказанным требованиям. Особо важно обратить внимание, при приготовлении стандартного раствора, на то, что субстанция может содержаться вода, потому берется навеска высушенного вещества. Если вещество термолабильно (при нагреве разрушается). Делается перерасчет с учетом навески. [5]

Выбор толщины слоя и концентрации раствора

Как было указано выше согласно закону Бугера-Ламберта-Бера, поглощение зависит от таких величин, как толщина слоя, концентрация и молярный коэффициент поглощения.

Расчеты показывают, что минимальные ошибки возникают при оптической плотности равной 0.44. На практике получают хорошие значения при оптической плотности от 0.2 до 0.8.

Для расчета «аналитической» концентрации и толщины кюветы исходят из того что оптическая плотность должна быть в пределах от 0.2 до 1, например, 0.5

Используют формулу, приравнивая толщину кюветы к 1 см, при расчете аналитической концентрации:

,

где D-оптическая плотность, ξ коэффициент поглощения

Аналогичным образом можно подбирать толщину кюветы, исходя из известной концентрации. Это особо значимо в тех случаях, когда растворимость ограничена.

**Установление подлинности**

Абсорбционную спектрофотометрию в видимой области спектра применяют для определения подлинности лекарственных средств путем сравнения спектров поглощения испытуемого раствора и раствора стандартного образца. В указанной области спектра должно наблюдаться совпадение положений максимумов, минимумов, плеч и точек перегиба, оговоренных в частных фармакопейных статьях. Расхождение между наблюдаемыми и указанными длинами волн в максимумах и минимумах поглощения не должно обычно превышать +/- 2 нм от обозначенных в частой статье. [1]

Возможны и другие варианты применения, оговоренные в частных фармакопейных статьях.

Теоретические аспекты поглощения определенной длины волны были рассмотрены ниже.

Например в ГФ Х11 таким методом устанавливается подлинность фуразолидона. Так согласно ФС в ГФ Х11, в области от 230 до 400 нм должны совпадать все максимумы и минимумы раствора субстанции с максимумами и минимумами стандартного образца. [1]

**Количественное определение**

Согласно государственной фармакопеи как одиннадцатой, так и двенадцатой определение концентрации веществ спектрофотометрическим методом основано на использовании закона Бугера-Ламберта-Бера в форме:



где:- концентрация вещества в г/100 мл;- оптическая плотность испытуемого раствора;

ξ - удельный показатель поглощения вещества;

l - толщина поглощающего слоя, в сантиметрах.

В ряде случаев даже при использовании монохроматического излучения могут наблюдаться отклонения от закона Бугера-Ламберта-Бера, обусловленные процессами диссоциации, ассоциации и комплексообразования. Поэтому предварительно следует проверить линейность зависимости оптической плотности раствора от концентрации в аналитической области. При наличии отклонений от линейной зависимости следует пользоваться не формулой закона Бугера-Ламберта-Бера, а экспериментально найденной зависимостью (калибровочным графиком).

Согласно ГФ США калибровочный график рекомендуется использовать только при наличии постоянных измерений подтверждающих его достоверность. Кроме того проверка производится при поступлении новых серий реагентов. [5]

Вначале измеряют оптическую плотность раствора стандартного образца, приготовленного, как указано в частной фармакопейной статье, затем проводят измерение оптической плотности испытуемого раствора. Второе измерение проводят сразу после первого, с использованием той же кюветы, в тех же экспериментальных условиях.

Метод с использованием стандартного образца является более точным и надежным. Возможность применения значения удельного показателя поглощения в каждом конкретном случае следует обосновывать. Обычно метод с использованием значения удельного показателя поглощения применим при допусках содержания анализируемого вещества не менее +/ - 10% от номинального содержания. [1]

Многокомпонентный спектрофотометрический анализ

Многокомпонентный спектрофотометрический анализ (анализ смесей) применяют для одновременного количественного определения нескольких компонентов лекарственных средств, каждое из которых подчиняется закону Бугера-Ламберта-Бера.

Количественное определение в многокомпонентном спектрофотометрическом анализе основывается обычно на использовании уравнения:



где:

А - оптическая плотность испытуемого раствора при i-ой длине волны;

 - показатели поглощения (зависящие от способа выражения

концентрации) j-го компонента образца при i-ой аналитической длине волны;- концентрация j-го компонента образца.

Соответствующие методики проведения анализа и расчетные формулы указываются в частных фармакопейных статьях. [1]

Таким способом проводят количественное определение фуразолидона при длине волны 367 нм, согласно ГФ Х11 и фуродонина при лине волны 360 нм согласно ГФ Х

Производная спектрофотометрия

Производная спектрофотометрия может быть использована как для целей идентификации веществ, так и их количественного определения в многокомпонентных смесях, а также в тех случаях, когда имеется фоновое поглощение, вызванное присутствием веществ, содержание которых не регламентируется.

Спектр первой производной представляет собой график зависимости градиента кривой поглощения (скорость изменения оптической плотности с длиной волны,) от длины волны.

Спектр второй производной представляет собой график зависимости кривизны спектра поглощения (d А2/ λ2) от длины волны. Вторая производная при любой длине волны связана с концентрацией следующим соотношением:



где:- оптическая плотность при длине волны лямбда;

ξ - удельный показатель поглощения при длине волны лямбда- концентрация вещества в растворе, в граммах/100 мл;- толщина слоя, в сантиметрах.

В данных измерениях используют спектрофотометры, отвечающие указанным выше требованиям и оснащенные аналоговым резистентно-емкостным дифференцирующим модулем или цифровым дифференциатором, или другими средствами получения производных спектров, в соответствии с инструкцией к прибору. Некоторые методы получения спектров второй производной приводят к смещению длин волн относительно исходного спектра, что следует учитывать там, где это необходимо.

Разрешающая способность. Если указано в частных фармакопейных статьях, записывают спектр второй производной для раствора 0,2 г/л толуола в метаноле, используя метанол в качестве раствора сравнения. На спектре должен присутствовать небольшой отрицательный экстремум, расположенный между двумя большими отрицательными экстремумами при 261 нм и 268 нм, в соответствии с рис. 1. (не приводится). Если нет других указаний в частных фармакопейных статьях, отношение A/B должно быть не менее 0,2.

Методика. Процедура анализа аналогична применяемой в обычной спектрофотометрии, но вместо оптических плотностей используют производные. Готовят раствор испытуемого образца, настраивают прибор в соответствии с инструкцией производителя и рассчитывают количество определяемого вещества, как указано в частной фармакопейной статье. [1]

**Экспериментальная часть**

Количественное определение фуразолидона

Испытуемый раствор. Около 0,1 г субстанции (точная навеска) помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в диметилформамиде и доводят объем раствора диметилформамидом до метки. 0,5 мл полученного раствора переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводят объем раствора водой до метки.

Стандартный раствор. Около 0,1 г субстанции (точная навеска) стандартного образца фуразолидона помещают в мерную колбу вместимостью 50 мл, растворяют в диметилформамиде и доводят объем раствора диметилформамидом до метки. 0,5 мл полученного раствора переносят в мерную колбу вместимостью 100 мл и доводят объем раствора водой до метки.

Измеряют оптическую плотность испытуемого раствора и стандартного раствора на спектрофотометре в максимуме поглощения при 367 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм.

Содержание фуразолидона в субстанции в процентах (X) вычисляют по формуле:



где A 0 - оптическая плотность стандартного раствора;1 - оптическая плотность испытуемого раствора;0 - навеска стандартного образца фуразолидона, в граммах1 - навеска субстанции, в граммах;- потеря в массе при высушивании, в процентах;

P - содержание основного вещества в стандартном образце фуразолидона, в процентах[1] количественное определение фурадонина.

Около 0,1 г препарата (точная навеска) помещают в мерную колбу емкостью 100 мл, прибавляют около 50 м воды и 2,5 мл I н. раствора едкого натра, растворяют при взбалтывании, доводят объем раствора водой до метки и хорошо перемешивают. 0,6 мл раствора помещают в мерную колбу емкостью 100 мл, доводят объем раствора водой до метки и точно через 20 минут, считая с момента прибавления 1 н. раствора едкого натра, определяют оптическую плотность полученного раствора на фотоэлектроколориметре в кювете с толщиной слоя 1 см и фиолетовым светофильтром с длиной волны около 360 нм. Во вторую кювету наливают воду. Во время проведения опытов температура растворов должна быть 20± 1°. Место приготовления растворов не должно быть ярко освещено. Содержание фурадонииа в процентах (X) вычисляют по формуле:



D-оптическая плотность

ξ-молярный коэффициент поглощения стандарта

а - навеска[5]

**Список литературы**

спектроскопия резонанс магнитный оборудование

1. Государственная фармакопея Российской Федерации. - ХII изд.-М.: Изд-во «Научный центр экспертизы средств медицинского применения», 2008.-Ч. 1.-704 с.

2. Ливинцев Н.М. курс физики: Учебник для вузов. - 6-е изд., доп.-М.: Высшая школа, 1978.-336 с.

. Спектрофотометрия ультрафиолетовой и инфракрасной области при анализе лекарственных средств / сост. Н.А. Платонова; ГОУ ВПО РязГМУ Минздравсоцразвития России.-Рязань: РИО РязГМУ, 2010.-48 с.

. Высокоэффективная жидкостная хроматография: чебное пособие для студентов фармацевтического факультета/Г.Ю. Чекулаева, З.Ф. Громова; ГОУ ВПО РязГМУ Минздравсоцразвития России.-Рязань: РИО РязГМУ, 2012.-138 с.

5. Государственная фармакопея СССР. - 10-е изд. - М.: Медицина, 1968.-1081 с.

6. http://www.pribory-si.ru/catalog/3704-02/11990/ спектрофотометр УФ-видимой области Agilent Cary-50

7. Государственная фармакопея СССР. - ХI изд.-М.: Изд-во «медицина», 1987.-Ч. 1.-335 с.