

ОБЩАЯ ФАРМАКОПЕЙНАЯ СТАТЬЯ

**Рентгеновская порошковая
дифрактометрия**

**ОФС.1.2.1.1.0011.15
Вводится впервые**

Рентгеновская порошковая дифрактометрия позволяет качественно и количественно определять различные фазы в их смеси на основе анализа дифракционной картины, создаваемой при облучении исследуемого образца рентгеновскими лучами.

Преимуществами данного метода являются высокая достоверность и экспрессность; метод – прямой, так как дает сведения непосредственно о структуре вещества; метод не требует большого количества вещества (не более 0,1 г); анализ можно проводить без разрушения образца; метод позволяет оценить количество фаз в смеси.

МЕТОД

К рентгеновским лучам относят излучение, занимающее участок электромагнитного спектра от нескольких сотен до десятых долей ангстрема (Å) ($1 \text{ Å} = 0,1 \text{ нм}$). Расстояние между атомами в кристаллической решетке твердых тел колеблется от единиц до полутора десятков ангстрем. Прохождение рентгеновских лучей через вещество сопровождается разными видами взаимодействия, одним из которых является рассеяние рентгеновских лучей. Вещество, которое подвергается действию рентгеновского излучения, испускает вторичное излучение, длина волны которого равна длине волны падающих лучей (когерентное рассеяние). Каждый изолированный атом рассеивает излучение равномерно во все стороны в виде концентрических сфер. Если падающая волна рентгеновского излучения перпендикулярна

атомному ряду, то все атомы ряда одновременно излучают электромагнитные колебания. Поскольку расстояние между атомами соизмеримо с длиной волны вторичного когерентного излучения, то кристалл может служить для него дифракционной решеткой. Энергия этого излучения рассеивается в разных направлениях с различной интенсивностью: по одним направлениям усиливается, по другим – ослабляется и даже полностью гасится. Усиление колебаний происходит по тем направлениям, где разность хода рентгеновских лучей равна целому числу волн или четному числу полуволн. Это правило (условие интерференции) справедливо для любого излучения. В результате образуется серия плоских волн, которые распространяются в особых направлениях. Дифрагированный луч можно рассматривать как результат отражения от одной из плоскостей атомной решетки. Любая трехмерная решетка рассматривается как совокупность бесконечного числа параллельных атомных плоскостей, расположенных на равном расстоянии друг от друга. Отражение лучей будет происходить не только от внешней поверхности, а от всех атомных плоскостей (их серий), так как рентгеновский луч, в отличие от оптического излучения, проникает вглубь кристалла.

Серия плоскостей характеризуется межплоскостным расстоянием d (рис. 1). Каждая плоскость отражает луч под одним и тем же углом, так как рентгеновские лучи распространяются в веществе практически без преломления. При отражении лучи могут интерферировать в том случае, если их разность хода (АОВ) будет равна целому числу волн Δ (АОВ) = $n\lambda$; $АОВ = 2d \cdot \sin \theta$.

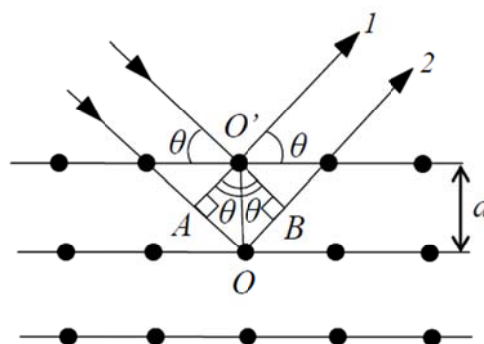


Рисунок 1 – Иллюстрация отражения лучей от серии плоскостей атомной решетки

Условие дифракции рентгеновских лучей (уравнение Вульфа – Брэгга) имеет вид:

$$2d \cdot \sin \theta = n\lambda,$$

где n – порядок отражения ($n = 1, 2, 3$).

При выполнении условия Вульфа – Брэгга рентгеновский луч регистрируется детектором или на фотопленке. Интенсивность максимума зарегистрированного луча зависит от количества и типов атомов, составляющих данное семейство плоскостей, то есть от "заселенности" атомной плоскости. Поэтому интенсивность отраженного луча также является характеристикой изучаемого объекта.

Широкое распространение из-за простоты и универсальности получил метод порошка (метод Дебая – Шеррера), когда монохроматический пучок рентгеновских лучей направляют на поликристаллический образец. Так как кристаллы, из которых состоит образец, очень малы (микрочристаллы), то в исследуемом объеме образца их оказываются десятки миллионов. Отраженные разными микрочристаллами лучи различной интенсивности фиксируются либо на специальной фотопленке, либо детектором. Рассчитав полученную таким путем рентгенограмму (дифрактограмму), получают сведения о межплоскостных расстояниях в кристалле. Значение межплоскостных расстояний для каждого вещества строго индивидуально, поэтому рентгенограмма (дифрактограмма) однозначно характеризует исследуемое вещество.

ОБОРУДОВАНИЕ

По способу регистрации рентгеновских лучей вся аппаратура делится на два типа. К первому типу относятся приборы с фотографическим методом регистрации рентгеновских лучей на специальной рентгеновской пленке (в данном случае дифракционная картина представляет собой ряд концентрических пар черных полос), ко второму — приборы с

ионизационным методом регистрации, при котором рентгеновское излучение регистрируется с помощью различного типа счетчиков (сцинтилляционных, пропорциональных, полупроводниковых). Усиленный сигнал записывается в файл, а совокупность сигналов затем обрабатывается специальной программой. Условия фокусировки при ионизационном методе регистрации рентгеновских лучей таковы, что максимальную светосилу получают при облучении рентгеновским пучком максимально большой поверхности образца.

Дифрактометрические методы съемки рентгенограмм отличаются от фотографических тем, что дифракционная картина регистрируется последовательно во времени. Используется счетчик отраженных рентгеновских лучей, который перемещается по окружности таким образом, что угол дифракции θ при этом непрерывно изменяется. Для получения интенсивных рефлексов на рентгенодифрактограмме необходимо использовать фокусирующие методы съемки, при которых в достаточно узкую щель счетчика попадает рентгеновское излучение, отраженное от образца с относительно большой поверхностью. В дифрактометрах применяется фокусировка лучей от плоского образца по методу Брэгга - Brentano, допускающая вращение образца в собственной плоскости.

Образец расположен в центре окружности постоянного радиуса, по которой движется счетчик и на которой находится рентгеновская трубка. При этом образец вращается одновременно со счетчиком таким образом, чтобы поверхность образца все время была касательной к окружности фокусировки, на которой в данный момент находятся фокус рентгеновской трубки, центр образца и входная щель счетчика. Это условие выполняется, если угловая скорость вращения счетчика в 2 раза превышает угловую скорость вращения образца. Следовательно, если образец поворачивается на угол θ , то угол поворота счетчика будет 2θ (рис. 2). Измерение углов поворота осуществляется с помощью гониометра.

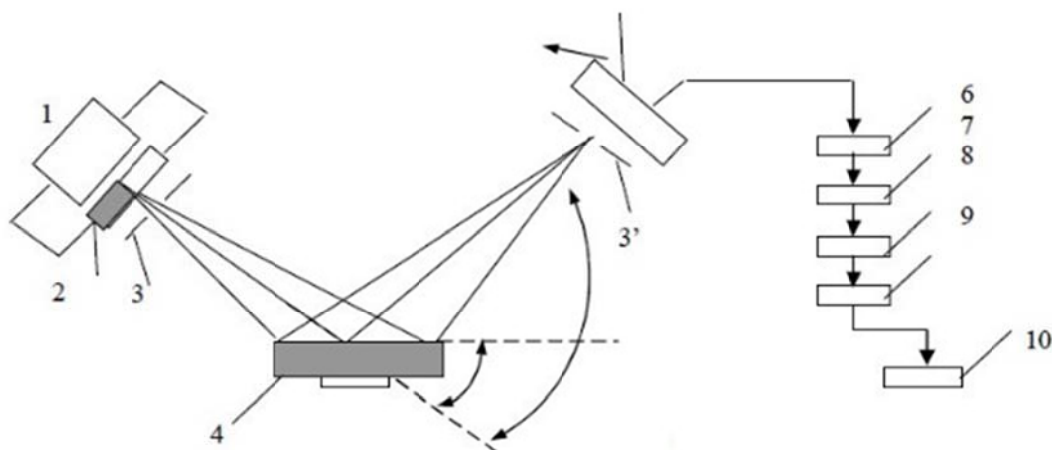


Рисунок 2 – Принципиальная схема дифрактометра. 1 – источник высокого напряжения; 2 – рентгеновская трубка; 3, 3' – диафрагмы; 4 – образец; 5 – счётчик квантов; 6 – фотоэлектронный умножитель; 7 – усилитель; 8 – дискриминатор; 9 – пересчётная схема; 10 – управляющий компьютер

Источником рентгеновского излучения в рентгеноструктурном анализе являются откачанные рентгеновские трубки (с вакуумом $10^{-5} - 10^{-6}$ мм рт. ст.), представляющие собой мощный диод, в котором поток ускоренных, обладающих высокой энергией, электронов бомбардирует материал анода. Зеркало анода изготавливают из металлов, для которых длины волн рентгеновского излучения лежат в пределах от 2,29 до 0,71 Å (W, Cr, Fe, Cu, Ni, Co, Mo, Ag).

Для дифракционных методов исследования органических веществ используют только характеристическое рентгеновское излучение, полученное на основе медных, молибденовых или кобальтовых анодов. Длины волн, используемые в дифракции методом порошка, соответствуют K_{α} -излучению анода. В качестве фильтра используют либо металлическую пластину (K_{β} -фильтр, имеющий край полосы поглощения между K_{α} и K_{β} длинами волн рентгеновского излучения), либо большой специальный кристалл-монокроматор, преломляющий K_{α} и K_{β} линии рентгеновского луча под различными углами.

Рентгеновское излучение является опасным для здоровья человека, поэтому необходимо соблюдать рекомендации по мерам предосторожности и

пределам уровней воздействия рентгеновского излучения, установленным национальным законодательством.

ПРОВЕРКА ПРИГОДНОСТИ ПРИБОРА (ЮСТИРОВКА)

Оптико-механическая система рентгеновского порошкового дифрактометра требует точной настройки (юстировки) и периодической проверки с использованием сертифицированных стандартных образцов. Минимизация систематических ошибок и оптимизация интенсивности дифрагируемых лучей, регистрируемых детектором, напрямую зависят от точности настройки и определяют качество результатов исследования методом порошковой дифрактометрии. Данную работу должен проводить только высококвалифицированный инженер-специалист.

ПРОБОПОДГОТОВКА

Для получения хороших рентгенограмм для съемки по методу «порошка» необходима тщательная подготовка образцов. Тонко измельченный порошок, который является поликристаллическим телом, набивают в капилляр диаметром 0,5 – 1 мм или насыпают и фиксируют в углублении специальной кюветы из кварцевого стекла (при съемке в дифрактометре).

Для фиксации образца в кювете достаточно простого придавливания: можно применять органические клеи (БФ, цапонлак и т.д.), а также обычные технические масла. Кроме того, порошок можно спрессовать и применить для съемки в виде таблетки диаметром до 25 мм.

Важным фактором, определяющим чувствительность метода, является размер кристаллов исследуемого вещества. Поэтому следует обратить внимание на тщательность растирания порошка, так как порошок, состоящий из крупных кристаллов, дает нечеткие, малоинтенсивные рентгенограммы. Растирать порошок следует в агатовой ступке агатовым пестиком (для исключения загрязнения пробы). Оптимальный размер кристаллов составляет около 5 – 10 мкм. Вместе с тем в некоторых случаях нельзя сильно перетирать пробу, так как сильное воздействие (особенно с

давлением) приводит к нарушению кристаллической структуры препарата, появлению напряжений в кристаллах (а значит, к ухудшению качества рентгенограммы). Следует учесть, что в случае, если размер кристаллов менее 0,1 мкм, то интерференционные линии могут быть размыты (уширение полос спектра), и при малом количестве фазы её линии могут сливаться с фоном.

КАЧЕСТВЕННЫЙ ФАЗОВЫЙ АНАЛИЗ

Качественным фазовым анализом называется установление числа фаз в данной системе и их идентификация. Рентгеновский метод фазового анализа основан на том, что каждое кристаллическое вещество дает специфическую интерференционную картину с определенным количеством, расположением и интенсивностью интерференционных линий, которые определяются природой и расположением атомов в данном веществе. Так как практически не существует двух кристаллических веществ, которые обладали бы одинаковой во всех отношениях кристаллической структурой, то рентгенограмма однозначно характеризует данное вещество. В смеси нескольких веществ каждое из них дает свою картину рентгеновской дифракции независимо от других. Полученная рентгенограмма смеси представляет собой сумму (наложение) ряда рентгенограмм индивидуальных веществ. Идентификация фазового состава образца обычно основана на визуальном или компьютерном сопоставлении его дифрактограммы с экспериментальной или рассчитанной дифрактограммой стандартного образца (сравнивают значения углов 2θ и относительные интенсивности пиков).

При съемке дифрактограмм с органических веществ обычно используют излучение $\text{Cu-}K_{\alpha}$ (интервал значений углов 2θ от 4° до 40°). При этом сходимость углов 2θ для одной кристаллической формы исследуемого вещества и стандартного образца находится в пределах $\pm 0,2^{\circ}$, тогда как относительные интенсивности пиков могут значительно различаться из-за эффектов преимущественной ориентации массы микрокристаллов.

КОЛИЧЕСТВЕННЫЙ ФАЗОВЫЙ АНАЛИЗ

Количественный рентгеновский фазовый анализ основан на зависимости интенсивности дифракционных отражений от содержания фазы в исследуемом многофазном поликристаллическом образце – интенсивность линии пропорциональна объемной доле данного компонента. Однако даже при одинаковом содержании определяемой фазы интенсивность дифракционного отражения будет меняться в зависимости от величины среднего коэффициента поглощения рентгеновских лучей в образце. Поэтому необходимо либо найти эту зависимость и определить коэффициент поглощения образца, либо использовать методы, позволяющие устранить влияние фактора поглощения. Известно несколько методов количественного фазового анализа:

- метод подмешивания (метод стандартных добавок) основан на сравнении интенсивностей линий на дифрактограмме, принадлежащих определяемой фазе, с интенсивностями линий для стандартного образца, количество которого в смеси заранее задано;
- метод независимого стандартного образца, при котором последовательно проводят съемку испытуемого вещества и стандартного образца – «метод внешнего стандарта» (наиболее распространенный метод);
- метод гомологических пар – получение серии рентгенограмм смесей и нахождение на них линий различных фаз одинаковой интенсивности;
- метод наложения состоит в сравнении рентгенограмм исследуемого образца и рентгенограмм отдельных составляющих в чистом виде;
- метод съемки без стандартного образца основан на том, что интенсивность линий на рентгенограммах фаз пропорциональна объемному содержанию фазы, и измеряя абсолютную интенсивность линий каждой фазы на рентгенограмме или отношение интенсивностей линий различных фаз, можно определить концентрацию каждой фазы.

ПОЛИМОРФНЫЕ ОБРАЗЦЫ

В качестве стандартного образца (метод стандартных добавок) применяют вещество, коэффициент поглощения которого должен быть близким к коэффициенту поглощения определяемой фазы; исследуемая фаза и стандартный образец должны быть достаточно измельчены и тщательно перемешаны. Вещество, выбираемое в качестве стандартного, должно удовлетворять следующему требованию: давать интенсивные и резкие линии на рентгенограмме, в том числе интенсивную линию вблизи самой интенсивной линии определяемого компонента. Расчет количества фазы (F_a) в случае смеси двух полиморфных фаз (a, b) проводят по уравнению:

$$F_a = \frac{1}{1+K(I_b/I_a)},$$

где K – отношение абсолютных интенсивностей двух чистых полиморфных фаз I_b/I_a , которое определяется измерением интенсивностей стандартных образцов.

Рентгенографический метод позволяет определить не только содержание кристаллической, но и аморфной фазы.

Содержание аморфной фазы определяют либо по разности единицы и всех кристаллических фаз (в долях), либо независимым способом. При втором способе учитывают, что интенсивность когерентного рассеяния рентгеновского излучения аморфной фазы пропорциональна ее содержанию. Кривая рассеяния на рентгенограмме образца имеет один или несколько пологих максимумов, обычно в области небольших углов рассеяния. При определении содержания аморфной фазы (C_a) с помощью эталонов используют соотношение:

$$C_a = I - \frac{I_a^0 - I_a}{I_a^0 - I_b},$$

где I_a^0, I_a – интенсивности рассеяния полностью аморфным (эталон) и исследуемым образцами под некоторым фиксированным углом 2θ ;

I_b – интенсивность рассеяния смесью кристаллических фаз, имеющей аналогичный полностью аморфному образцу химический состав.

Более точной мерой интенсивности рассеяния аморфной фазой служит интегральная интенсивность одного или нескольких максимумов.

Безэталонный метод основан на выделении средней интенсивности рассеяния рентгеновского излучения аморфной фазой I_a из средней интенсивности рассеяния образца I_n . Содержание аморфной фазы определяют по формуле:

$$C_a = \frac{I_a}{I_n} .$$

Оба метода используют только для сравнительной оценки доли аморфной фазы (C_a). Основным недостатком является влияние изменений состава образца на результат определения.

ПРИМЕНЕНИЕ РЕНТГЕНОВСКОЙ ПОРОШКОВОЙ ДИФРАКТОМЕТРИИ В ФАРМАЦЕВТИЧЕСКОМ АНАЛИЗЕ

Метод дифракции рентгеновских лучей на порошковом образце является инструментом для исследования поликристаллических субстанций лекарственных веществ.

Несмотря на то что рентгеноструктурный анализ монокристалла обеспечивает реальное понимание кристаллической структуры, использование такого метода для рутинных исследований кристалличности фармацевтических субстанций затруднено вследствие длительности (необходимость вырастить монокристалл) процедуры и трудоёмкости. Для общей оценки качества и структуры вещества обычно достаточно установить его полиморфную форму и идентичность.

Типичным применением метода рентгеновской порошковой дифрактометрии является оценка полиморфизма, сольватоморфизма, изучение переходов состояний «кристаллическое – аморфное» и оценка степени кристалличности, которую определяют с помощью калибровки. В

этом случае необходимо иметь в качестве эталонов чистые вещества: 100 % кристаллическое и 100 % аморфное.

Техника рентгеновской порошковой дифрактометрии – быстрый метод получения фундаментальной информации о кристаллической решетке вещества, поэтому его часто применяют для определения подлинности фармацевтических субстанций лекарственных препаратов, полученных в виде кристаллических порошков.

Вследствие простоты и информативности метод рентгеновской порошковой дифрактометрии используют также для контроля степени кристалличности отдельных партий субстанций лекарственных веществ.