

ФБГОУ ВО
«Волгоградский государственный медицинский университет»
Министерства здравоохранения Российской Федерации

МЕТОДЫ ФАРМАКОПЕЙНОГО АНАЛИЗА

Солодунова Г.Н.
Новиков М.С.

ФИЗИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ФАРМАКОПЕЙНОГО АНАЛИЗА ЛЕКАРСТВЕННЫХ ВЕЩЕСТВ

ОПРЕДЕЛЕНИЕ ОПТИЧЕСКОГО ВРАЩЕНИЯ (определение величины вращения плоскости поляризации)

Занятие 7
IV семестр

Волгоград, 2021

МЕТОДЫ ФАРМАКОПЕЙНОГО АНАЛИЗА

ЗАНЯТИЕ №7

IV семестр

Физические методы
фармакопейного анализа

Физические методы фармакопейного анализа –
поляриметрия.
Определение величины отклонения плоскости
поляризации растворов некоторых ЛВ.

ПОЛЯРИМЕТРИЯ

Поляриметрия – методы физических исследований, основанные на измерении степени поляризации света и угла поворота плоскости поляризации света при прохождении его через оптически активные вещества. Угол поворота в растворах зависит от их концентрации; поэтому поляриметрия широко применяется для измерения концентрации оптически активных веществ.

Свет представляет собой суммарное электромагнитное излучение множества атомов. Атомы же излучают световые волны независимо друг от друга, поэтому световая волна, излучаемая телом в целом, характеризуется всевозможными равновероятными колебаниями светового вектора (рис.1,а; луч перпендикулярен плоскости рисунка). В данном случае равномерное распределение векторов E объясняется большим числом атомарных излучателей, а равенство амплитудных значений векторов E - одинаковой (в среднем) интенсивностью излучения какого из атомов. Свет с всевозможными равновероятными ориентациями вектора E называется естественным.

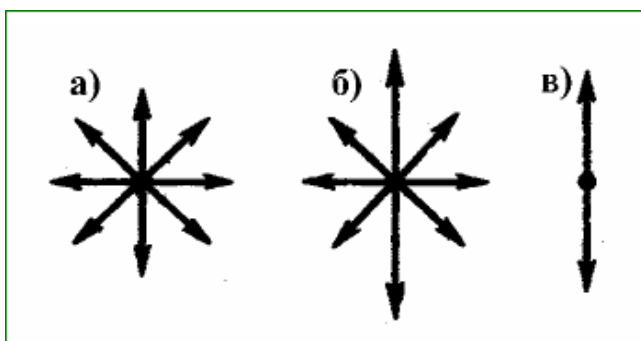


Рисунок 1.

Естественный (а), частично поляризованный (б) и плоско-поляризованный лучи.

Свет, в котором направления колебаний светового вектора каким-то образом упорядочены,

называется поляризованным.

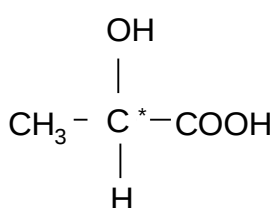
Так, если в результате каких-либо внешних воздействий появляется преимущественное направление колебаний вектора E то имеем дело с частично поляризованным светом. Свет, в котором вектор E колеблется только в одном направлении, перпендикулярном лучу, называется плоскополяризованным (линейно поляризованным). При частичной поляризации используется понятие степени поляризации.

Степенью поляризации называется величина «Р»:

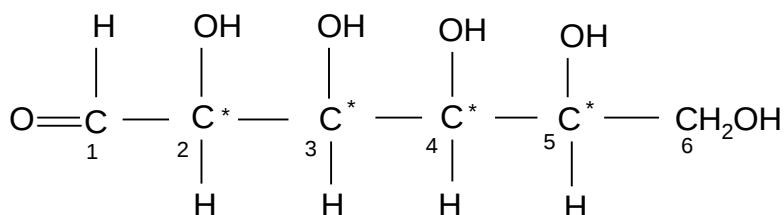
$$P = \frac{I_{\max} - I_{\min}}{I_{\max} + I_{\min}},$$

где $I_{\max}$ и $I_{\min}$ - соответственно максимальная и минимальная интенсивности частично поляризованного света, пропускаемого анализатором. Для естественного света $I_{\max} = I_{\min}$ и $P = 0$, для плоскополяризованного $I_{\min} = 0$ и $P = 1$.

Вещества, отклоняющие плоскость поляризации вправо или влево, называются оптически активными. Некоторые вещества, имеющие одинаковый качественный и количественный состав, существуют в нескольких формах, неразличимых по химическим свойствам, но являющихся оптическими антиподами. Их существование объясняется тем, что молекулы этих веществ содержат ассиметрические (хиральные) атомы углерода и поэтому могут иметь оптические изомеры. Хиральность – свойство молекулы не совмещаться в пространстве со своим зеркальным отражением. Термин основан на древнегреческом названии наиболее узнаваемого хирального предмета — руки. Так, левая и правая руки являются зеркальными отражениями, но не могут быть совмещены друг с другом в пространстве. Примерами наличия изомеров могут быть:

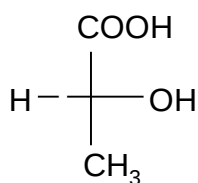


молочная кислота

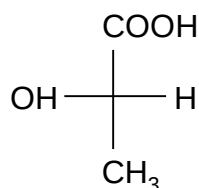


гексоза

(звездочкой обозначены ассиметрические атомы)



D - молочная кислота



L - молочная кислота

Гексоза имеет 4 хиральных атома и, следовательно, 16 оптических изомеров (2^n). Отнесение к D или L - ряду проводят по последнему (C_5) хиральному атому.

Оптические изомеры отличаются друг от друга только симметрией кристаллов и направлением вращения плоскости поляризации света.

Плоскостью поляризации называют плоскость колебания электромагнитного поля. Вещества, вращающие плоскость поляризации света, называют оптически активными веществами. В зависимости от

природы оптически активного вещества, от его концентрации, температуры и растворителя, вращение плоскости поляризации может иметь различное направление и величину. Таким образом, важным методом исследования хиральных соединений является поляриметрия.

Для определения угла вращения плоскости поляризации используют оптическую систему, называемую поляризатором, измеряемым узлом которого являются две *призмы Николя* и кювета с исследуемым раствором. При исследовании оптически активных веществ изучаемое вещество помещают между двумя призмами Николя. Если от наблюдателя, к которому направлен свет, проходящий через оптически активное вещество плоскость поляризации вращается по часовой стрелке, то вещество называют правовращающим и перед его названием ставят знак "+", если же плоскость поляризации вращается против часовой стрелки, то вещество называют левовращающим и перед его названием ставят знак "-".

Призма Николя – поляризационное устройство, в основе принципа действия которого лежат эффекты двойного лучепреломления и полного внутреннего отражения. Устройство изобрёл Уильям Николя в 1820 году.

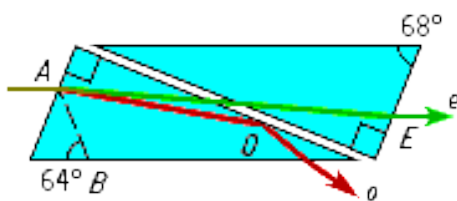


Рисунок 2. Призма Николя

Схема действия призмы Николя. Красным обозначен обыкновенный (o) луч (горизонтальная поляризация), зелёным — необыкновенный (e) луч (вертикальная поляризация).

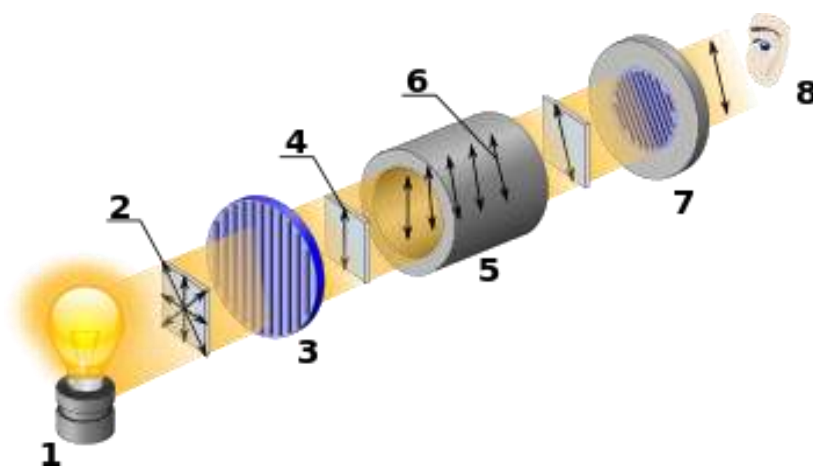
Призма Николя представляет собой две одинаковых треугольных призмы из исландского шпата, склеенных тонким слоем канадского бальзама. Призмы вытачиваются так, чтобы торец был скошен под углом 68° относительно направления проходящего света, а склеиваемые стороны составляли прямой угол с торцами. При этом оптическая ось кристалла (AB) находится под углом 64° с направлением света.

Принцип действия призмы Николя:

Свет с произвольной поляризацией, проходя через торец призмы испытывает двойное лучепреломление, расщепляясь на два луча — обыкновенный, имеющий горизонтальную плоскость поляризации (AO) и необыкновенный, с вертикальной плоскостью поляризации (OE). После чего обыкновенный луч испытывает полное внутреннее отражение о плоскость склеивания и выходит через боковую поверхность. Необыкновенный беспрепятственно выходит через противоположный торец призмы.

Рисунок 3.

Измерение оптической активности при помощи поляриметра:



- 1 – источник света,
- 2 – неполяризованный свет,
- 3 – поляризатор,
- 4 – поляризованный свет,
- 5 – кювета с раствором вещества,
- 6 – оптическое вращение 30° ,
- 7 – анализатор,
- 8 – наблюдатель

С помощью оптических поляриметров определяют величину вращения плоскости поляризации света при прохождении его через оптически-активные среды (твёрдые вещества или растворы).

Вращение плоскости поляризации можно наблюдать на рисунке 3. Если между скрещенными поляризатором 3 и анализатором 7, дающими темное поле зрения, поместить оптически активное вещество (например, кювету с раствором сахара), то поле зрения анализатора просветляется. При повороте анализатора на некоторый угол α можно вновь получить темное поле зрения. Угол α и есть угол, на который оптически активное вещество поворачивает плоскость поляризации света, прошедшего через поляризатор. Так как поворотом анализатора можно получить темное поле зрения, то свет, прошедший через оптически активное вещество, является плоскополяризованным.

Величина угла вращения зависит от *природы* оптически активного вещества, *длины пути* поляризованного света в оптически активной среде (чистом веществе или растворе) и *длины волны* света. Для растворов величина угла вращения зависит от *природы* растворителя и *концентрации* оптически активного вещества. Величина угла вращения прямо пропорциональна длине пути света в оптически активной среде, т.е. толщине оптически активного вещества или его раствора. Влияние температуры в большинстве случаев незначительно.

Для сравнительной оценки способности различных веществ вращать плоскость поляризации света вычисляют величину удельного вращения $[\alpha]$. Удельное вращение - это константа оптически активного вещества.

Удельное вращение $[\alpha]$ определяют расчетным путем как угол поворота плоскости поляризации монохроматического света на пути длиной в 1 дм в среде, содержащей оптически активное вещество при условном приведении концентрации этого вещества к значению, равному 1 г/мл.

Если нет специальных указаний, определение оптического вращения проводят при 20 °С и при длине волны линии D спектра натрия (589,3 нм). Соответствующую удельного вращения обозначают $[\alpha]$. Иногда для измерения используют зеленую линию спектра ртути с длиной волны 546,1 нм.

При определении $[\alpha]$ в растворах необходимо иметь в виду, что найденная величина может зависеть от природы растворителя и концентрации оптически активного вещества. Замена растворителя может привести к изменению $[\alpha]$ не только по величине, но и по знаку. Поэтому, приводя величину удельного вращения, необходимо указывать и выбранную для измерения концентрацию раствора.

Величину удельного вращения рассчитывают по одной из следующих формул. Для веществ, находящихся в растворе:

$$[\alpha] = \frac{\alpha \cdot 100}{l \cdot c}, \quad (1)$$

где: α – измеренный угол вращения в градусах ;

l – толщина слоя в дециметрах ;

c – концентрация раствора, выраженная в граммах вещества на 100 мл раствора.

Для жидких веществ:

$$[\alpha] = \frac{\alpha}{l \cdot \rho}, \quad (2)$$

где: α – измеренный угол вращения в градусах ;

l – толщина слоя в дециметрах ;

ρ – плотность жидкого вещества в граммах на 1 мл .

Удельное вращение определяют либо в пересчете на сухое вещество, либо из высушенной навески, о чем в частных статьях должно быть соответствующе указание.

Измерение угла вращения проводят либо **для оценки чистоты** оптически активного вещества, либо **для определения его концентрации** в растворе. Для оценки чистоты оптически активного вещества по уравнению (1) или (2) рассчитывают величину его удельного вращения $[\alpha]$. Концентрацию вещества в растворе находят по формуле:

$$c = \frac{\alpha \cdot 100}{[\alpha] \cdot l}, \quad (3)$$

Поскольку величина $[\alpha]$ постоянна в определенном интервале концентраций, возможность использования формулы (3) ограничивается этим интервалом.

Измерение угла вращения проводят на поляриметре, позволяющем определить величину угла вращения с точностью $\pm 0,02^\circ$. Предназначенные для измерения угла вращения растворы или жидкие вещества должны быть прозрачными.

ЛАБОРАТОРНАЯ РАБОТА

Определение оптического вращения

ЦЕЛЬ РАБОТЫ:

Научиться определить углы поворота плоскости поляризации поляризованного света растворов оптически активного вещества известных концентраций. Определить неизвестную концентрацию вещества.

ОБЪЕКТ ИССЛЕДОВАНИЯ:

Растворы D- и L- аспарагиновой кислоты.

Методика проведения исследования

1. В кювету поляриметра налить воду. Если в кювете оказался пузырек воздуха, поймать его с помощью ловушки (утолщение на кювете).
2. Поставить кювету в поляриметр. Закрыть крышку.
3. Включить поляриметр в сеть.
4. Добиться светлого поля зрения анализатора.
5. По шкале барабана определить угол поворота плоскости поляризации света α_0 .
6. Вылить из кюветы воду и налить раствор оптически активного вещества с известной концентрацией C_1 . Поле зрения анализатора изменится. Поворотом рукоятки барабана добиться светлого поля зрения. Показание шкалы барабана α' занести в таблицу.
7. Рассчитать значение угла поворота плоскости поляризованного света раствором оптически активного вещества по формуле: $\alpha = \alpha' - \alpha_0$. Полученный результат занести в таблицу.
8. Прodelать п.6-7 для остальных известных концентраций и для раствора с неизвестной концентрацией. Измерение провести 4 раза для всех растворов. Рассчитать ошибку измерения.
9. Построить график зависимости $\alpha = f(C)$. Нанести на график для каждого значения доверительные интервалы.

10. По графику отыскать неизвестную концентрацию с учетом ошибки измерения.
11. Для растворов всех концентраций определить постоянную удельного вращения данного вещества. Найти среднее значение константы.
12. Закончив исследование, сделать выводы о проделанной работе и сдать отчет преподавателю.

Таблица

№	Концентрация вещества, С%	α_0 , град.	Показан шкалы поляриметра, α' , град.	Угол поворота плоскости поляризации $\alpha = \alpha' - \alpha_0$	Ошибка измерения	Постоян. Вращ, α , град/(%см)	Среднее знач постоянной вращ, $\alpha_{\text{ср}}$.
1							

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

Вывод:

Сделать вывод о концентрации D- и L- изомера аспарагиновой кислоты.

КОНТРОЛЬНЫЕ ВОПРОСЫ

1. Поляриметрия – определение, понятие. Естественные и поляризованные лучи света. Степень поляризации.
2. Оптически активные вещества. Хиральность.
3. Принцип работы поляриметра. Призма Николя.
4. Плоскость поляризации. Угол вращения, зависимость от различных факторов. Удельное вращение. Определение чистоты или концентрации оптически активного вещества.

СИТУАЦИОННЫЕ ЗАДАЧИ

1. Растворы глюкозы применяются как плазмозамещающие и перфузионные растворы. При количественном определении глюкозы в растворе для инъекций 40% методом поляриметрии получены значения угла оптического вращения $\alpha = 5,1; 4,9; 5,3$. Для определения использовали кювету длиной 20 см; 6,25 мл препарата разводили в колбе объемом 50 мл. Удельное вращение $[\alpha_0]$ глюкозы – 52,8 град. Дайте заключение о соответствии концентрации раствора требованиям НД.
2. Какова концентрация глюкозы в растворе, если при поляриметрическом определении получены значения угла оптического вращения $\alpha = 5,28; 5,24; 5,30$. Для определения использовали кювету длиной 20 см; 25 мл препарата разводили в колбе объемом 50 мл. Удельное вращение $[\alpha_0]$ глюкозы – 52,8 град.
3. При количественном определении глюкозы в изотоническом растворе для инфузий 5% методом поляриметрии получены значения угла оптического вращения $\alpha = 2,51; 2,61; 2,58$. Для определения использовали кювету длиной 20 см; 25 мл препарата разводили в колбе объемом 50 мл. Удельное вращение $[\alpha_0]$ глюкозы – 52,8 град. Дайте заключение о соответствии концентрации раствора требованиям НД.
4. Раствор сахара, налитый в кювету длиной 20 см, поворачивает плоскость поляризации света на угол $\alpha=30^\circ$. Найти концентрацию сахара в растворе, если удельное вращение сахара на этой длине волны $[\alpha_0] = 6,67$ град см² /г.
5. Определить удельное вращение $[\alpha_0]$ для раствора сахара, если при прохождении света через кювету с раствором угол поворота плоскости поляризации равен $\alpha=32^\circ$. Длина кюветы – 10 см. Концентрация раствора $C=0,25$ г/см³.