

Методы анализа лекарственных средств

Рефрактометрия и Поляриметрия

- **Рефракция** — изменение направления распространения волн электромагнитного излучения, возникающее на границе раздела двух прозрачных для этих волн сред или в толще среды с непрерывно изменяющимися свойствами (в частности, изменение показателя преломления)
- **Показатель преломления (абсолютный показатель преломления)** вещества — величина, равная отношению фазовых скоростей света в вакууме и в данной среде ($n=c/u$, где c — скорость света в вакууме, u — скорость света в данной среде).
- **Относительный показатель преломления** — отношение скоростей распространения света в различных средах ($n_{12}=u_1/u_2$, $n_{21}=1/n_{12}$)



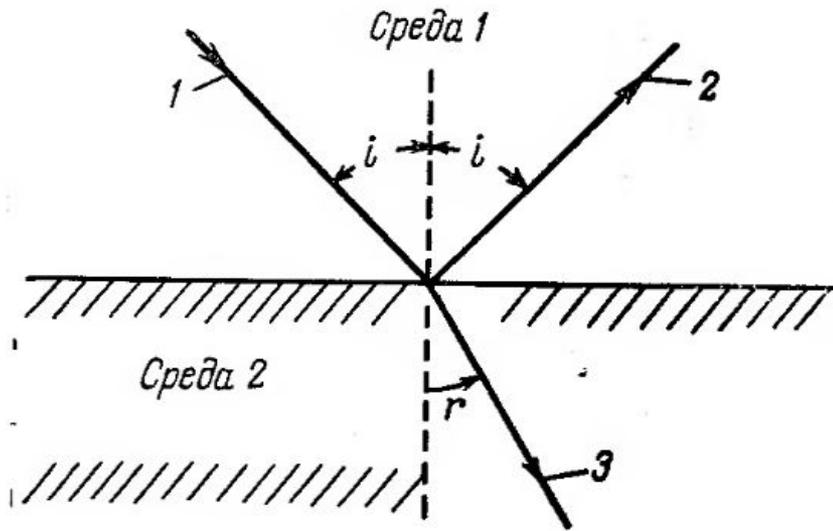


Рис. 8.2. Явления, происходящие на границе двух сред. Падающий (1), отраженный (2) и прошедший (3) через границу лучи света расположены в одной плоскости. Угол падения (i) равен углу отражения, но отличается от угла преломления (r)

Закон

Снеллиуса

$$\sin i / \sin r = v_1 / v_2 = n_2 / n_1$$

- Преломление лучей света на границе двух прозрачных сред наблюдали и изучали еще древние греки, однако верную его формулировку впервые дал Виллеброрд Снеллиус (ок. 1621). Независимо от Снеллиуса этот закон был выведен Рене Декартом и представлен в 1637 году в его трактате «Диоптрика».
- Показатель преломления зависит от температуры и длины волны света, при которой проводят определение. В растворах показатель преломления зависит также от концентрации вещества и природы растворителя.

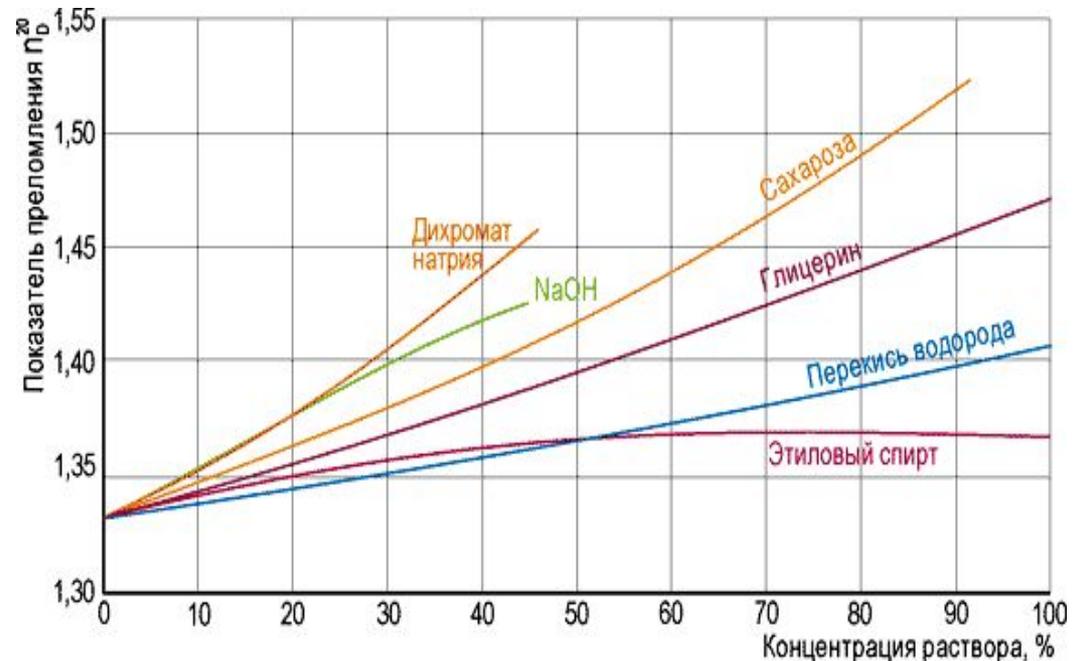
- **Рефрактометрия** – метод анализа лекарственных средств, основанный на определении показателя преломления испытуемого вещества.
- Рефрактометрию применяют для установления подлинности и чистоты вещества. Метод применяют также для определения концентрации вещества в растворе, которую находят по графику зависимости показателя преломления раствора от концентрации раствора.
- На графике выбирают интервал концентраций, в котором наблюдается линейная зависимость между показателем преломления и концентрацией. В этом интервале концентрацию испытуемого раствора (X , %) вычисляют по формуле:

$$X = (n - n_o) / F,$$

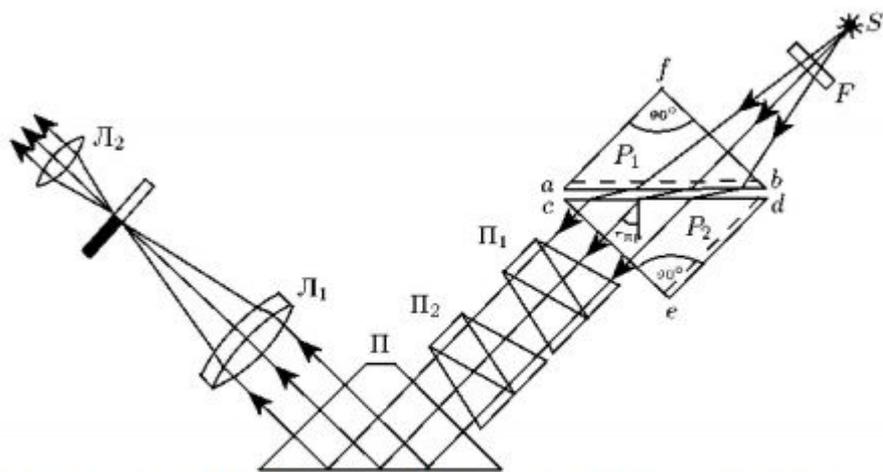
где n – показатель преломления раствора;

n_o – показатель преломления растворителя при той же температуре;

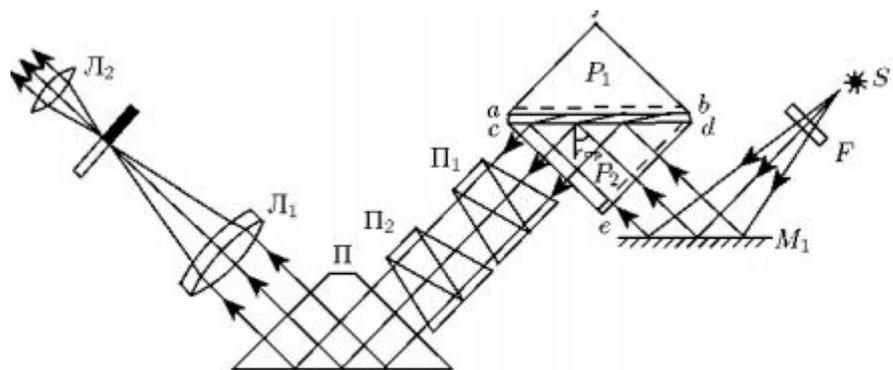
F – фактор, равный величине прироста показателя преломления при увеличении концентрации испытуемого раствора на 1 %



- Для определения показателя преломления применяют **рефрактометры**. Определение проводят при температуре $(20 \pm 0,5) \text{ }^\circ\text{C}$ и длине волны линии дублета спектра натрия (589,3 нм). Показатель преломления, определенный при таких условиях, обозначается индексом n_D^{20} (если используют белый свет, то рефрактометр снабжен компенсирующей системой)
- Обычно измерения показателя преломления проводят на **рефрактометрах Аббе**, в основу которых положено явление полного внутреннего отражения при прохождении светом границы раздела двух сред с разными показателями преломления. Диапазон измеряемых показателей преломления при измерении в проходящем свете 1,3 – 1,7. Точность измерения показателя преломления должна быть не ниже $\pm (2 \cdot 10^{-4})$ (могут быть использованы рефрактометры других типов с такой же или большей точностью).
- Рефрактометры юстируют по эталонным жидкостям, значения показателей преломления которых обозначены на этикетке, или по дистиллированной воде, для которой $n_D^{20} = 1,3330$ и $n_D^{25} = 1,3325$ ($\Delta n/\Delta = -0,000085$).



Ход лучей в рефрактометре при измерении показателя преломления жидкости методом скользящего луча



Ход лучей в рефрактометре при измерении показателя преломления жидкости методом полного внутреннего отражения

Показатели преломления спирто-водных растворов, концентрация которых выражена в об. %

Концентрация спирта	n при 20 °С	Поправка на 1 % спирта	Температурный коэф.	Концентрация спирта	n при 20 °С	Поправка на 1 % спирта	Температурный коэф.
0	1,33300		$1 \cdot 10^{-4}$	18	1,34270	$6,1 \cdot 10^{-4}$	$1,5 \cdot 10^{-4}$
1	1,33345	$4,5 \cdot 10^{-4}$	$1 \cdot 10^{-4}$	19	1,34330	$6,0 \cdot 10^{-4}$	$1,5 \cdot 10^{-4}$
2	1,33400	$5,5 \cdot 10^{-4}$	$1 \cdot 10^{-4}$	20	1,34390	$6,0 \cdot 10^{-4}$	$1,6 \cdot 10^{-4}$
3	1,33444	$4,4 \cdot 10^{-4}$	$1,1 \cdot 10^{-4}$	21	1,34452	$6,2 \cdot 10^{-4}$	$1,6 \cdot 10^{-4}$
4	1,33493	$4,9 \cdot 10^{-4}$	$1,1 \cdot 10^{-4}$	22	1,34512	$6,0 \cdot 10^{-4}$	$1,7 \cdot 10^{-4}$
5	1,33535	$4,2 \cdot 10^{-4}$	$1,2 \cdot 10^{-4}$	23	1,34573	$6,1 \cdot 10^{-4}$	$1,8 \cdot 10^{-4}$
6	1,33587	$5,2 \cdot 10^{-4}$	$1,2 \cdot 10^{-4}$	24	1,34635	$6,2 \cdot 10^{-4}$	$1,9 \cdot 10^{-4}$
7	1,33541	$5,4 \cdot 10^{-4}$	$1,3 \cdot 10^{-4}$	25	1,34697	$6,2 \cdot 10^{-4}$	$2,0 \cdot 10^{-4}$
8	1,33700	$5,9 \cdot 10^{-4}$	$1,3 \cdot 10^{-4}$	30	1,35000	$6,0 \cdot 10^{-4}$	$2,0 \cdot 10^{-4}$
9	1,33760	$6,0 \cdot 10^{-4}$	$1,3 \cdot 10^{-4}$	35	1,35320	$6,4 \cdot 10^{-4}$	$2,1 \cdot 10^{-4}$
10	1,33808	$4,8 \cdot 10^{-4}$	$1,4 \cdot 10^{-4}$	40	1,35500	$4,0 \cdot 10^{-4}$	$2,4 \cdot 10^{-4}$
11	1,33870	$6,2 \cdot 10^{-4}$	$1,4 \cdot 10^{-4}$	45	1,35700	$4,0 \cdot 10^{-4}$	$2,4 \cdot 10^{-4}$
12	1,33924	$5,4 \cdot 10^{-4}$	$1,4 \cdot 10^{-4}$	50	1,35900	$4,0 \cdot 10^{-4}$	$2,6 \cdot 10^{-4}$
13	1,33977	$5,3 \cdot 10^{-4}$	$1,4 \cdot 10^{-4}$	55	1,36060	$3,2 \cdot 10^{-4}$	$2,6 \cdot 10^{-4}$
14	1,34043	$6,6 \cdot 10^{-4}$	$1,4 \cdot 10^{-4}$	60	1,36180	$2,4 \cdot 10^{-4}$	$3,4 \cdot 10^{-4}$
15	1,34096	$5,3 \cdot 10^{-4}$	$1,5 \cdot 10^{-4}$	65	1,36300	$2,4 \cdot 10^{-4}$	$3,6 \cdot 10^{-4}$
16	1,34158	$6,2 \cdot 10^{-4}$	$1,5 \cdot 10^{-4}$	70	1,36380	$1,6 \cdot 10^{-4}$	$3,8 \cdot 10^{-4}$
17	1,34204	$5,1 \cdot 10^{-4}$	$1,5 \cdot 10^{-4}$	75	1,36450	$1,4 \cdot 10^{-4}$	$4,0 \cdot 10^{-4}$

- **Рефрактометрия** – быстрый и простой метод анализа. В контроле качества ЛС применяется, например, для определения содержания спирта в лекарственных формах промышленного и аптечного производства.

- **Пример:**

Анализу подвергается 40% раствор спирта. Температура окружающей среды 23 °С. Показания рефрактометра – 1,3541. При поправке на 1 °С (для близкого к этой величине показания 1,35500), равной 0,00024, получаем:

$$1,3541 + 0,00024 * 3 = 1,35482 \text{ (т.к. } 20 \text{ °С} < 23 \text{ °С, то прибавляем)}$$

Такому показателю преломления нет соответствия в таблице. Пересчитываем концентрацию по поправкам на 1% спирта:

ближайшее значение – 1,35500, которому соответствует поправка 0,0004, тогда по разности показателей преломления:

$$1,35500 - 1,35482 = 0,00018$$

Находим, что

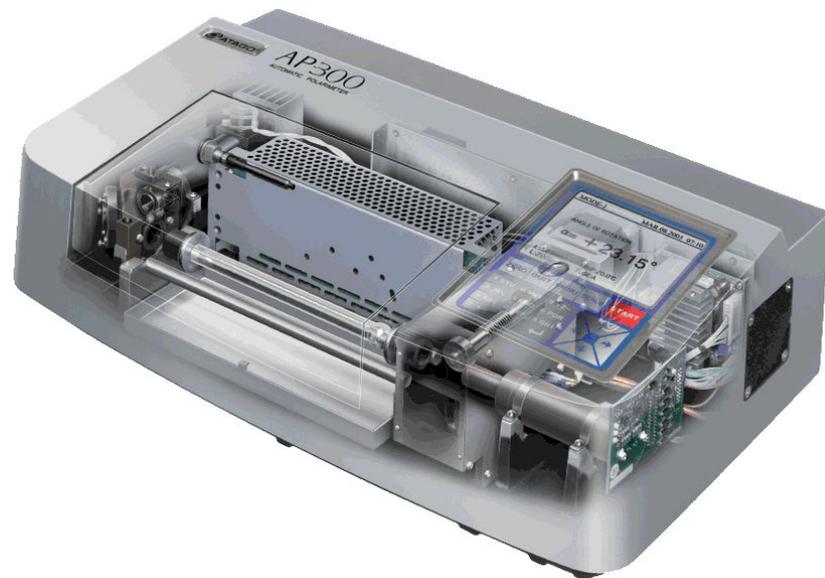
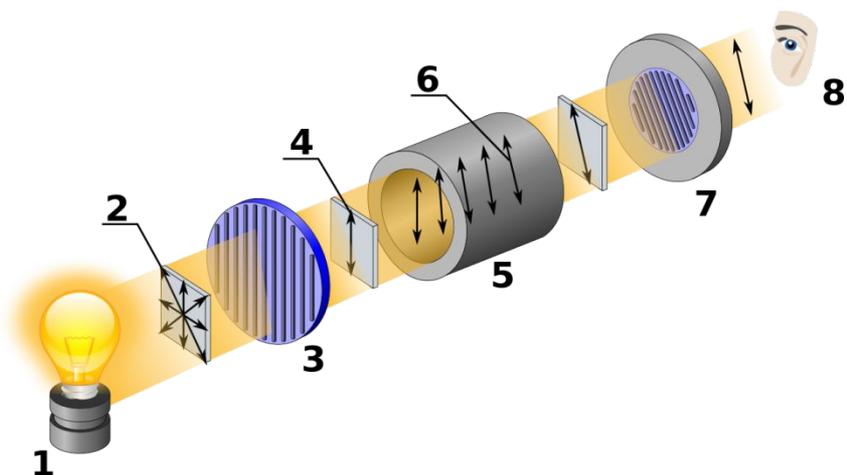
$$40\% - 0,00018 / 0,0004 = 39,55 \% \text{ (т.к. } 1,35500 > 1,35482, \text{ то вычитаем).}$$

- Так как линейная зависимость показателя преломления от концентрации для спирта лежит в интервале 50-60%, то более концентрированные растворы предварительно разбавляют и при расчете учесть разведение.

- **Оптическое вращение** – свойство вещества вращать плоскость поляризации при прохождении через него поляризованного света.
- В зависимости от природы оптически активного вещества вращение плоскости поляризации может иметь различное направление и величину. Если плоскость поляризации вращается по часовой стрелке относительно наблюдателя, то вещество называют *правовращающим* и перед его названием ставят знак (+); если вращается против часовой стрелки, то вещество называют *левовращающим* и перед его названием ставят знак (–).
- Величину отклонения плоскости поляризации от начального положения, выраженную в угловых градусах, называют **углом вращения** и обозначают греческой буквой α .
- **Удельное оптическое вращение** (для сравнительной характеристики угла вращения) представляет собой угол вращения α плоскости поляризации монохроматического света при длине волны линии дублета спектра натрия (589,3 нм), выраженный в градусах, измеренный при температуре 20 °С, рассчитанный для толщины слоя испытуемого вещества:

Направление	Вещество	Удельное вращение $[\alpha_0]_{D}^{20}$ и 1 г/мл
Правовращающее	d-глюкоза	52,5
	Сахароза	66,5
Левовращающее	d-фруктоза	–92,2

- Измерение угла вращения проводят на поляриметре, позволяющем определить величину угла вращения с точностью $\pm 0,02^\circ$ при температуре $(20 \pm 0,5)^\circ\text{C}$. Измерения оптического вращения могут проводиться и при других значениях температуры, но в таких случаях в фармакопейной статье должен быть указан способ учета температуры.



- 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

- 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. Влияние температуры в большинстве случаев незначительно.
- Замена растворителя может привести к изменению $[\alpha]$ не только по величине, но и по знаку. Поэтому, приводя величину удельного вращения, необходимо указывать растворитель и выбранную для измерения концентрацию раствора. Удельное вращение определяют в пересчете на сухое вещество или из высушенной навески, что должно быть указано в фармакопейной статье.
- Оптическое вращение растворов должно быть измерено в течение 30 мин с момента их приготовления; растворы или жидкие вещества должны быть прозрачными.

- Величину удельного вращения $[\alpha]$ рассчитывают по одной из следующих формул:

Для веществ, находящихся в растворе:

$$[\alpha] = \alpha \cdot 100 / l \cdot c, \quad (1)$$

где α – измеренный угол вращения, градусы;

l – толщина слоя, дм;

c – концентрация раствора, г вещества на 100 мл раствора.

Для жидких веществ:

$$[\alpha] = \alpha / l \cdot \rho, \quad (2)$$

где α – измеренный угол вращения, градусы;

l – толщина слоя, дм;

ρ – плотность жидкого вещества, г/мл.

- Измерение величины угла вращения проводят для оценки чистоты оптически активного вещества или для определения его концентрации в растворе. Для оценки чистоты вещества по уравнению (1) или (2) рассчитывают величину его удельного вращения $[\alpha]$.
- Концентрацию оптически активного вещества в растворе находят по формуле:
$$c = \alpha \cdot 100 / [\alpha] \cdot l, \quad (3)$$
- Поскольку величина $[\alpha]$ постоянна только в определенном интервале концентраций, возможность использования формулы (3) ограничивается этим интервалом.

Литература

- Государственная Фармакопея Российской Федерации (XIII издание), том 1, ОФС.1.2.1.0017.15, ОФС.1.2.1.0017.15
- А. И. Сливкин, В. Ф. Селеменев, «Физико-химические и биологические методы оценки качества лекарственных средств», изд. Воронежского государственного университета, 1999. – 368с.
- У. Ф. Пиккеринг, «Современные аналитическая химия» пер. с англ., М.: «Химия», 1977. – 560с.
- Н. В. Никоноров, В. А. Асеев, С. Н. Жуков, «Волноводная фотоника» учебное пособие. СПб: СПбГУ ИТМО, 2008 – 82с.