



Mestrado Integrado em Ciências Farmacêuticas

Unidade Curricular: **Física Aplicada**

Aulas Laboratoriais

Trabalho laboratorial nº. 6

Polarimetria

CONTROLO DE ACTIVIDADE DE UMA DROGA FARMACÊUTICA OPTICAMENTE ACTIVA.

Utiliza-se um polarímetro para determinar o teor de glucose num produto farmacêutico.

6.1 - BREVE REFERÊNCIA A ALGUNS CONCEITOS FUNDAMENTAIS

A maioria dos parâmetros físicos dos compostos enantiómeros é idêntica, como por exemplo: pontos de fusão e ebulição, solubilidade em solventes comuns, densidades, índices de refração e seus espectros de absorção. Diferem, no entanto, no grau de interação que a luz polarizada experimenta com estas substâncias opticamente ativas.

As modificações experimentadas pela radiação eletromagnética (ou mais propriamente o vetor campo elétrico) resultante da sua interação com as moléculas, traduz-se numa rotação do seu plano de vibração. No caso da rotação, resultante da interação, se realizar no sentido dos ponteiros do relógio, considera-se o composto (+) ou dextrógiro, enquanto se o plano gira em sentido contrário o composto é (-) ou levógiro. As moléculas com carbonos tetraédricos, substituídos assimetricamente, formam as substâncias mais comuns que apresentam esta atividade ótica (ex.: glucose).

O ângulo de rotação que experimenta o plano de polarização da radiação, ao passar através de uma substância opticamente ativa, mede-se através de um polarímetro. Este deverá ser utilizado com uma radiação monocromática, geralmente luz de sódio.

A radiação monocromática de sódio, emitida por uma fonte adequada, não está polarizada, qualidade que adquire ao atravessar um prisma de Nicol (polarizador P). A radiação que emerge deste, (monocromática) e que vibra num só plano, atravessa a solução problema situada no tubo portador da amostra e, é aqui que tem lugar a rotação do plano de vibração da luz polarizada, como consequência da interação com os compostos opticamente ativos presentes. Finalmente, esta radiação passa através do prisma analisador, que por um sistema de compensação ótica, medirá o ângulo de rotação sobre uma escala graduada em graus sexagesimais.

Segundo Biot:

$$\alpha = [\alpha]_D \cdot l \cdot c$$

α = ângulo de rotação que a solução problema imprime ao plano de polarização da luz.

$[\alpha]_D$ = rotação específica ou poder rotatório específico a uma temperatura t e a um comprimento de onda λ , normalmente para a linha D do sódio.

l = comprimento do tubo de amostras, em decímetros.

c = concentração em gramas por mililitro.

A rotação específica é uma constante de proporcionalidade e é característica de cada substância, para um determinado solvente, para um determinado comprimento de onda e para uma determinada temperatura.

Se o solvente em que se prepara a solução é opticamente ativo, o valor final de α encontrado deverá ser deduzido ao valor de α correspondente ao desvio provocado pelo solvente; desta forma obtém-se o ângulo devido exclusivamente ao composto opticamente ativo presente em solução.

A medida do desvio do plano de polarização, por substâncias opticamente ativas e com atividade farmacológica específica, pode servir de critério de identidade e pureza para a realização de um controlo de qualidade das mesmas.

Diversas farmacopeias assinalam os limites permitidos, dentro dos quais deve oscilar o valor de rotação específica, para substâncias com aplicação terapêutica e opticamente ativas. Em muitos casos observa-se uma correlação entre a atividade biológica do medicamento e a sua rotação específica.

Nos medicamentos de origem natural, há predominância da forma levógira sobre a dextrógira; por isso, a determinação da rotação específica de um fármaco pode ser uma boa indicação da sua origem bem como do seu estado de pureza. Os fármacos de origem sintética são racémicos, quer dizer, não são capazes de, uma vez dissolvidos, desviar o plano da luz polarizada.

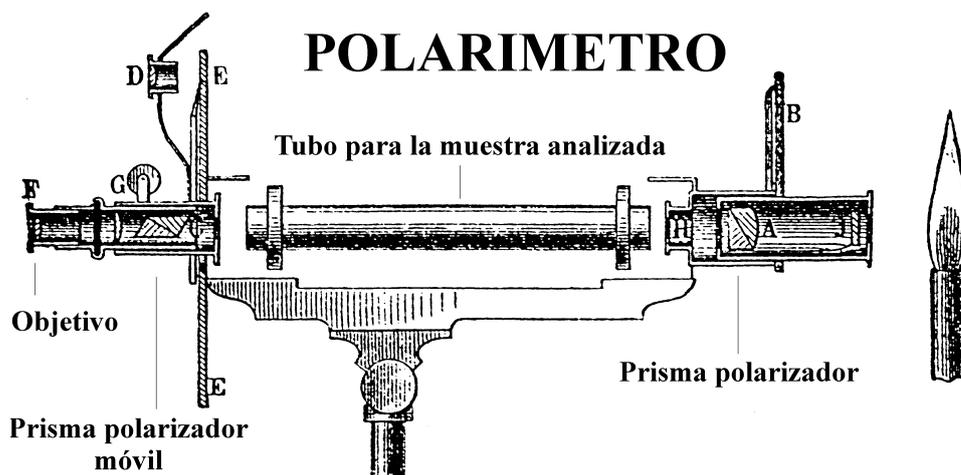
Para poder comparar os valores das rotações específicas, deve indicar-se ao mesmo tempo, a temperatura, o solvente, o comprimento de onda da radiação empregada, e, em alguns casos a concentração a que se realizou a medida. Na tabela seguinte indicam-se as rotações específicas de algumas substâncias medicamentosas:

Tabela – Rotações específicas para diferentes produtos com interesse farmacêutico.

Fármaco	$[\alpha]_{TD}$	°C	[Solvente]
cânfora	+43.8	20	7.5 etanol
ácido fólico	+23.0	25	0.5 metanol
cloranfenicol	+28.6	27	4.9 etanol
cloranfenicol	-25.5	25	1.0 acetato etilo
morfina	+132.0	25	1.0 metanol
eritromicina	-78.0	25	2.0 etanol
kanamicina	+121.0	23	1.0 água dest.
glucose	+112.2→+52.7	20	10 água dest.

Como se pode observar na Tabela anterior o valor da rotação específica depende também da natureza do solvente utilizado (ver cloranfenicol). Uma vez que α é função direta da concentração, a concentrações baixas pode realizar-se análises quantitativas de fármacos opticamente ativos, por polarimetria.

Desenho esquemático de um polarizador e analisador lineares



6.2 - EXECUÇÃO LABORATORIAL

6.2.1 – Material e Reagentes

Polarímetro com todos os acessórios; 4 balões volumétricos de 50,0 mL; papel vegetal; balança analítica; glucose; catalisador (solução de hidróxido de amónio); amostra problema a analisar (produto farmacêutico); funil de pós.



Polarímetro digital

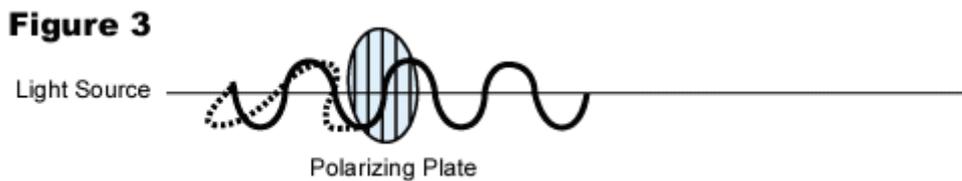
Funcionamento do polarímetro?

•Light waves as it travels. As shown in Figure 1, light may seem to travel unidirectionally. In actuality light travels in all directions as shown in Figure 2.

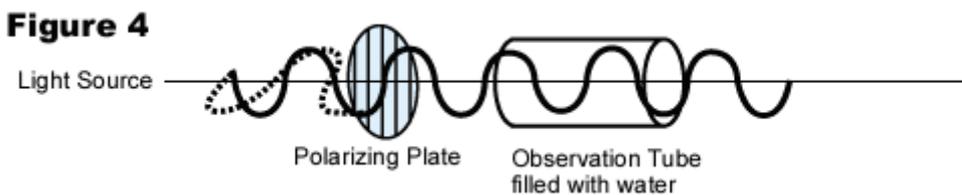


•When light, which waves in all directions, goes through a grating placed in its course of travel, only the light wave that oscillates in the direction parallel to the bars of the grating passes through, Light waves that oscillate in other directions get blocked by the bars of the grating. (Figure 3)

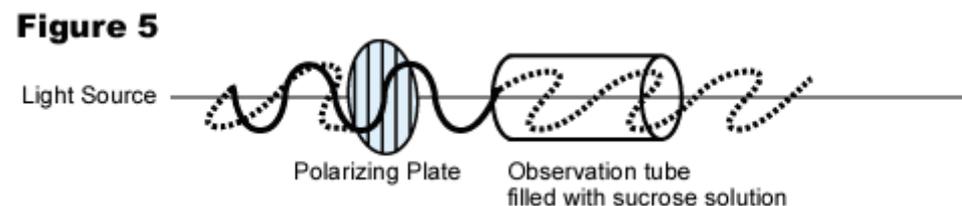
Such light, which waves in one particular direction, is called polarized light, and the grating is called a polarizing plate.



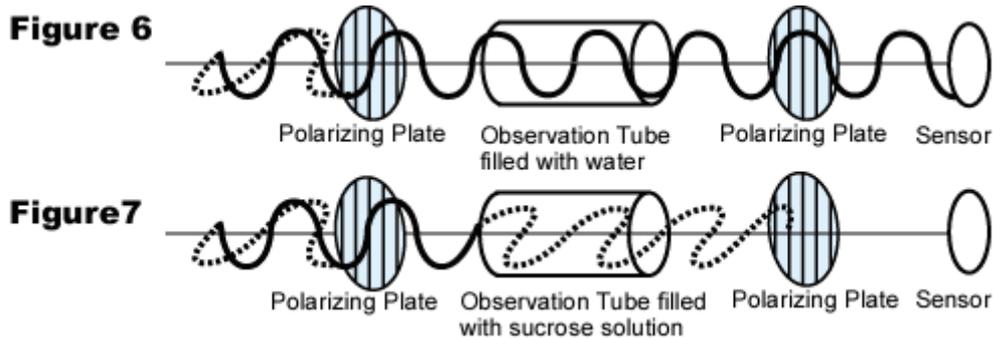
•When polarized light travels through an observation tube filled with a sample solution that does not make light rotate (water, for example) , the light continues to wave in the same direction even after passing through the solution. (Figure 4)



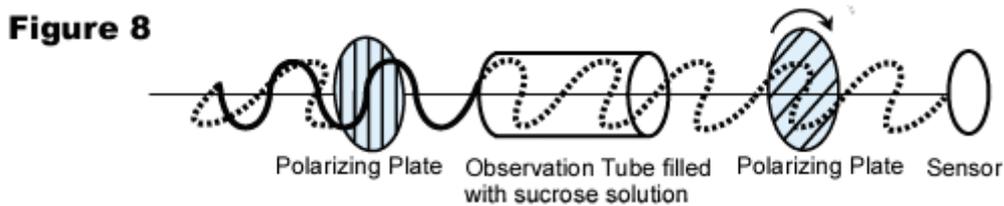
•In contrast, when it travels through an observation tube filled with a sample solution that makes light rotate (sucrose solution, for example) , the light wave begins to rotate as it passes through the solution. (Figure 5) This is called optical rotation.



- Those samples that make light rotate have a molecular formula that contains asymmetric carbon (indicated by "C"). Sugar is the most common. The explanation of the asymmetric carbon can be highly technical. Discussion on asymmetric carbon will be discussed in a later section.
- Imagine making a light path by placing a polarizing plate, an observation tube, another polarizing plate, and a sensor one after another. (Figure 6 and 7)
- The path in Figure 6 has an observation tube filled with water, in Figure 7 a sample solution, such as sucrose solution, that makes light rotate.



- In Figure 6 a certain amount of light reaches the sensor.
- In Figure 7 the light does not reach the sensor. (Technically speaking, in terms of a vector an imperceptible amount of light does reach the sensor, but let's assume that the light does not reach the sensor here.)
- When the second polarizing plate is rotated as shown in Figure 8, the same amount of light as in Figure 6 now reaches the sensor.



< Conducting Zero-Setting on a Polarimeter >

- Conduct zero-setting in the step shown in Figure 6. In the actual adjustment procedure, the observation tube filled with water is not necessary and zero-setting is conducted by letting light travel through the air.
- Next, place an observation tube filled with a sample solution that makes light rotate as shown in Figure 8.
- Rotate the second polarizing plate so that the equal amount of light reaches the sensor as it did when zero-setting was conducted.
- The measured angle of the rotated polarizing plate is the angle of rotation of the sample solution.

6.2.2 – Modo de proceder

1 – Para realizar as medidas no polarímetro deve seguir o manual de instruções (manual do equipamento disponível em versão pdf) que acompanha o equipamento.

2- Para o fármaco que lhe foi fornecido durante a aula prática, prepare em primeiro lugar diferentes padrões. Para a preparação desses padrões pese rigorosamente cerca de 100, 200, 300, e 400 mg de glucose dissolvendo-o, com água desionizada, em balões volumétricos de 50,0 mL. Deixe repousar durante cerca de 10 minutos à temperatura ambiente para que ocorra a sua estabilização, após a adição do catalisador (2-3 gotas de uma base, como por exemplo, hidróxido de amónio).

3 – Para encher o tubo portador das amostras com água desionizada, desarrolhe uma das tampas e encha-o de água, até transbordar. Seguidamente, evitando a formação de bolhas de ar, corte o menisco formado ao tapá-lo com o disco de vidro. Atarraxe a tampa e coloque o tubo no correspondente suporte do polarímetro. Proceda à sua calibração conforme as instruções do fabricante.

4 – Retire do tubo das amostras a água nele contida e, em sua substituição, coloque uma das soluções padrão de glucose realizando a medida do ângulo de rotação. Proceda do mesmo modo para as restantes soluções padrão.

Para proceder à análise quantitativa do fármaco a analisar proceda da seguinte forma:

5 – Determine a rotação ótica de uma solução problema fornecida durante a aula, seguindo igualmente os procedimentos descritos para as medições dos ângulos de rotação das soluções padrão de glucose.

Uma vez realizadas as determinações indicadas, desligue a fonte de radiação e limpe com água desionizada o material utilizado. Deixe o tubo das amostras cheio com álcool.

6.3- TRATAMENTO DOS DADOS EXPERIMENTAIS

1 - Com os diferentes resultados construa inicialmente um gráfico de calibração, representando em ordenadas os ângulos de rotação medidos e em abcissas as concentrações dos diferentes padrões.

2 - Deduza a concentração da solução problema que lhe foi fornecida.

3 - Com os diferentes valores de ângulo de rotação determinados para os padrões, calcule, para cada uma deles, o correspondente poder rotatório específico. Com os quatro valores obtidos, calcule o valor médio que corresponderá ao poder rotatório específico do fármaco em estudo.

4 - Confronte o resultado obtido com o que vem indicado em tabelas e deduza a pureza ótica do fármaco.

