

REFRACTOMETRIA. APLICAREA EI ÎN CERCETAREA ȘI PRACTICA FARMCEUTICĂ

B. Tőkés

Principiile de bază ale refractometriei (Introducere)

Refractometria este o metodă des utilizată în numeroase ramuri industriale și laboratoare ale institutelor de cercetare pentru rezolvarea celor mai variate probleme teoretice și practice. Cu ajutorul ei se pot analiza calitativ și cantitativ sisteme de substanțe cu diferite grade de complexitate și aduce un aport apreciabil la elucidarea structurii combinațiilor, la descoperirea și urmărirea în timp a reacțiilor chimice dintre componente. Problemele înșirate prezintă interes și din punct de vedere farmaceutic, fapt care explică răspindirea din ce în ce mai largă a acestei metode în domeniul farmaceutic. Există numeroase date literare care relatează aplicarea metodei refractometrice pentru controlul purității substanțelor de interes farmaceutic, sau în scopuri analitice. În ceea ce privește celelalte posibilități de aplicare, literatura este mai săracă. Posibilitățile refractometriei în domeniul farmaceutic nu le putem considera în prezent nici pe departe epuizate.

În cadrul acestei lucrări ne rezumăm numai la problemele majore, esența și posibilitățile de aplicare farmaceutică mai importante ale acestei metode simple și atât de eficace.

Valoarea indicelui de refracție este o mărime constantă și caracteristică, în cazul unui sistem dat în condiții determinate și se exprimă ca raportul dintre sinusurile unghiului de incidență (i) și ale unghiului de refracție (r) a razei de lumină:

$$n = \frac{\sin i}{\sin r}$$

În general n se numește indice de refracție relativ al celei de a doua substanțe în raport cu prima. Dacă mediul este vidul, n se numește indice de refracție absolut. În practică măsurătorile refractometrice se execută în astfel de condiții în care prima substanță este aerul, iar denumirea obișnuită de indice de refracție se referă tocmai la mărimile relative corespunzătoare. Aceste valori nu diferă semnificativ de cele absolute (raportate la vid.). În cele ce urmează, vom aplica și noi această simplificare.

Indicele de refracție al unei substanțe este determinat de natura ei, dar depinde și de condițiile exterioare (în special de temperatură, iar la gaze și de presiune) și de lungimea de undă a luminii. Este evident deci că aceste condiții ale măsurării trebuie indicate și ele în prezentarea valorii numerice a indicelui de re-

fracție al substanței date. Lungimea de undă se notează prin indice inferior, iar temperatura prin indice superior în dreapta. De exemplu, indicele de refracție al apei, măsurat la 20° C și pentru linia galbenă a sodiului (linia D: $\lambda = 5893 \text{ \AA}$) se va prezenta astfel:

$$n_{D}^{20} = 1,3330.$$

În afară de indicele de refracție se mai utilizează o serie de funcții mai complexe ale acestuia, fiecare dintre ele cu anumite caracteristici, fapt care determină domeniul de aplicabilitate bine delimitat. Redăm câteva funcții refractometrice mai importante:

a) *Refracția specifică și refracția molară* Aceste constante refractometrice respectiv formula fundamentată și teoretic de H. Á. Lorentz și L. Lorenz:

$$r = \frac{n-1}{d} \quad (1)$$

respectiv formula fundamentată și teoretic de H. Á. Lorentz și L. Lorenz:

$$r = \frac{n^2-1}{n^2+2} \cdot \frac{1}{d} \quad (2)$$

Refracția molară R se delințește prin produsul dintre refracția specifică și masa moleculară M :

$$R = r \cdot M \quad (3)$$

Spre deosebire de n și d , refracția specifică și cea molară nu depind într-o primă aproximație de condițiile exterioare (temperatură, presiune) și de starea de agregare a substanței. Din considerente teoretice urmează că refracția molară trebuie să aibă caracterul unei constante aditive. Aditivitatea refracției molare a combinațiilor din refracțiile atomice ($R = \sum R_A$) se folosește pe scară largă pentru determinarea compoziției și structurii lor.

Refracția specifică și cea molară a soluțiilor trebuie să fie de asemenea aditive, dacă la dizolvare polarizabilitatea componentilor nu se modifică:

$$r = \sum_i x_i \cdot r_i, \text{ respectiv } R = \sum_i x_i \cdot R_i \quad (4)$$

unde x_i este fracția molară a componentului i .

b) *Dispersia refracției*. Prin această noțiune se înțelege variația indicilor de refracție sau a refracției specifice și a celei molare cu lungimea de undă. Ca măsură a dispersiei în cazul cel mai simplu se folosește diferența indicilor de refracție la două lungimi de undă, cel mai des la lungimile de undă corespunzătoare liniilor spectrale C și F ale hidrogenului ($\lambda_C = 6563 \text{ \AA}$, $\lambda_F = 4861 \text{ \AA}$), care cuprind partea centrală a spectrului vizibil (*dispersia medie*). Pentru comoditate această diferență se înmulțește adeseori cu 10^4 și se notează cu Δ_{FC} :

$$\Delta_{FC} = (n_F - n_C) \cdot 10^4 \quad (5)$$

Alte formulări răspindite ale dispersiei sînt:

numărul lui Abbé:
$$v = \frac{n_D - 1}{n_F - n_C} \quad (6)$$

dispersia relativă:
$$\omega_{FC} = \frac{n_F - n_C}{n_C - 1} \cdot 10^4 \quad (7)$$

$$\text{sau} \quad \omega_{\text{FCD}} = \frac{n_{\text{F}} - n_{\text{C}}}{n_{\text{D}} - 1} \cdot 10^3, \quad (8)$$

$$\text{dispersia specifică:} \quad \delta_{\text{FC}} = \frac{n_{\text{F}} - n_{\text{C}}}{d} \cdot 10^4 \quad (9)$$

dispersia molară:

$$R_{\text{F}} - R_{\text{C}} = \left[\frac{n_{\text{F}}^2 - 1}{n_{\text{F}}^2 + 2} - \frac{n_{\text{C}}^2 - 1}{n_{\text{C}}^2 + 2} \right] \cdot \frac{M}{d} \quad (10)$$

Ultimele trei forme ale dispersiei sînt mărimi aditive, ceea ce în cazul dispersiei specifice și a celei molare este evident, din moment ce se acceptă aditivitatea refracțiilor corespunzătoare. Aceste constante refractometrice se folosesc în analiza sistemelor mai complexe, respectiv în cercetarea structurii combinațiilor anorganice și organice.

c) *Izotermele indice de refracție — compoziție.* Indicele de refracție al sistemelor bi- sau policomponente trebuie să fie în mod evident determinat și de compoziția acestor sisteme. În sisteme ideale (care se formează fără variație de volum și de polarizabilitate a componentilor) variația indicelui de refracție cu compoziția este aproape lineară, dacă compoziția este exprimată în fracții (procente) de volum. În cazul unui sistem binar:

$$n = n_1 V_1 + n_2 V_2, \quad (11)$$

unde n_1 , n_2 și n sînt indicii de refracție ai sistemului și componentilor; V_1 și V_2 — fracțiile de volum corespunzătoare ($V_1 + V_2 = 1$). Este ușor de demonstrat că modul de exprimare a concentrației are o influență determinantă asupra caracterului relației dintre indicele de refracție și compoziție. În cazul soluțiilor diluate diferitele unități de concentrație sînt proporționale între ele, deci pentru formularea izotermei ele pot fi utilizate în egală măsură:

$$n = n_0 + k C \quad (12)$$

Aici n este indicele de refracție al soluției; n_0 — indicele de refracție al solventului pur; C — concentrația soluției, iar k reprezintă variația indicelui de refracție a soluției, cînd concentrația variază cu unitatea (*incrementul indicelui de refracție*). Pentru calcule precise, în întregul domeniu de concentrații, cînd ecuațiile lineare sînt insuficiente, se recurge la ecuații empirice de ordin superior, de tipul:

$$n = n_0 + a C + b C^2 - \dots \quad (13)$$

În sistemele reale forma izotermei $n(V)$ se abate de la cea lineară, prezentînd curburi mai mari sau mai mici (1), maxime sau minime (2, 3), puncte singulare (4) sau puncte de inflexiune (5) (fig. nr. 1). Forma curbelor depinde de natura componentilor și de interacțiunile lor în sistem. De aceea analiza izotermelor n -compoziție oferă o largă posibilitate nu numai pentru analiza cantitativă, dar și pentru cercetarea reacțiilor chimice, ce au loc în diferite sisteme mai mult sau mai puțin complexe.

În cele ce urmează, ne vom opri asupra posibilităților de aplicare mai importante ale refractometriei în domeniul farmaciei.

Controlul identității și purității substanțelor.

Analiza cantitativă a sistemelor binare și ternare.

La o temperatură și lungime de undă dată, indicele de refracție constituie o constantă importantă caracteristică unei substanțe date. El face parte în prezent, alături de densitate, temperatură de topire și tem-

peratură de fierbere dintre proprietățile a căror determinare este considerată obligatorie pentru caracterizarea combinațiilor lichide. Farmacopeea Română. Ed. VIII-a. prescrie de asemenea utilizarea acestei constante pentru controlul unei serii de lichide (uleiuri vegetale și animale), precum și pentru analiza cantitativă a unor soluții și amestecuri.

Considerînd un preparat impur drept o soluție diluată a impurității în substanță pură, se poate determina conținutul impurităților cu ajutorul relației (12), transcrisă în forma:

$$C = \frac{n - n_{\text{pur}}}{k} \quad (14)$$

Coeficientul k se stabilește experimental cu ajutorul preparatelor cu conținut de impuritate cunoscut.

Trebuie să amintim că pentru caracterizarea purității unei substanțe nu este suficient să se determine numai indicele de refracție, deoarece concluzii sigure pot fi trase numai pe baza verificării mai multor proprietăți; indicele de refracție este doar unul din criterii. Cînd indicele de refracție servește la identificarea unei substanțe, atunci se consideră de obicei satisfăcătoare o concordanță a indicilor pînă la 0.001—0.002.

În cazul controlului uleiurilor farmaceutice, Farmacopeea Română prescrie de asemenea o concordanță a indicilor pînă la cîteva unități în a treia zecimală. Controlul uleiurilor și grăsimilor farmaceutice prin metoda refractometrică a fost propus de mai mulți autori. *Lüdde*, prezentînd o mulțime de date experimentale asupra uleiurilor, arată că alterarea (rîncezirea) acestora, exprimată cu ajutorul indicelui de peroxid, este însoțită de o variație paralelă a indicelui de refracție sau a numărului lui *Abbé*, care la rîndul lui se află în corelație cu indicele de iod. O corelație similară a fost descoperită de alții și de alți autori. S-a propus de asemenea aplicarea refractometrului pentru controlul siropurilor, respectiv al unei serii de preparate galenice, indicînd în majoritatea cazurilor valoarea medie a indicelui de refracție, precum și limita inferioară și superioară a intervalului de toleranță permisă.

Dependența indicelui de refracție de compoziția sistemului se folosește din ce în ce mai larg și în farmacie pentru dozarea substanțelor din soluții binare sau ternare. Deși o analiză cantitativă completă a unor amestecuri mai complexe decît cele ternare nu poate fi efectuată exclusiv prin metoda refractometrică, totuși în majoritatea cazurilor se pot determina unul sau doi componenți și dintr-un astfel de amestec.

1. *Dozarea sistemelor binare.* Analiza cantitativă refractometrică a soluțiilor presupune cunoașterea variației indicelui de refracție cu compoziția. Pentru o serie de substanțe de importanță farmaceutică, variația indicilor de refracție cu compoziția a fost studiată de mai mulți autori care au întocmit tabele amănunțite despre aceste date. Aceste tabele conțin de obicei și incrementele calculate. Calculul concentrației pe baza relațiilor empirice dintre indicele de refracție și compoziție a fost introdus în farmacie pentru prima oară de *Fialkov* și *L. M. Solț*, fiind apoi dezvoltat de *L. M. Solț* și *F. M. Solț*. Forma relației aplicată pentru aceste calcule este identică cu formula (12), valoarea numerică a coeficientului k variază însă în funcție de unitatea de măsură alcasă a concentrației. Cel mai des se lucrează în unități de masă/volum, sau în

procente de masă. În cazul din urmă incrementul k este și el funcție de concentrație și se compune din suma a doi termeni:

$$k = k_0 + K \cdot C \quad (15)$$

unde k_0 este factorul inițial (prima derivată a indicelui de refracție în funcție de concentrație); K — derivata a doua a indicelui de refracție în funcție de concentrație (media diferențelor variației indicelui de refracție la 1%). De exemplu, pentru soluția apoasă de bromură de potasiu 10% ($k_0 = 0,00122$; $K = 0,0000047$):

$$k = 0,00122 + 0,0000047 \times 10 = 0,00127$$

Precizia analizei este determinată de raportul dintre precizia măsurării indicilor și diferența indicilor de refracție a componentilor. Ea depinde totodată și de forma curbei indice de refracție — compoziție. Cu cât precizia măsurărilor refractometrice este mai mare și cu cât indicii de refracție ai componentilor sînt mai diferiți, cu atât va fi mai mare și precizia dozării.

Dacă pentru sistemul de analizat nu există date în literatură, atunci se măsoară indicii de refracție pentru o serie de soluții cu concentrații precis cunoscute și se construiește diagrama n -compoziție. Graficul obținut dă o informație despre caracterul izotermei, pe de altă parte cu ajutorul lui se pot descoperi imediat segmentele corespunzătoare corelației lineare. Pe baza datelor se calculează apoi incrementul indicelui de refracție k pentru intervalul studiat. Graficul poate servi în scopuri analitice și direct, drept curbă de calibrare.

2. *Dozarea sistemelor ternare.* Pentru determinarea compoziției unui sistem ternar sînt necesari doi parametri independenți, deoarece și numărul concentrațiilor independente este egal cu doi. Fiind vorba de refractometrie, unul din acești parametri îl constituie indicele de refracție. Al doilea parametru poate fi o proprietate fizică oarecare (densitatea, conductibilitatea, constanta dielectrică, tensiunea superficială etc.), sau una chimică (concentrația unuia din componente, aciditatea, alcalinitatea etc.) ușor determinabilă.

Concentrațiile se pot determina fie prin calcul, fie printr-o metodă grafică adecvată. Calculele se bazează pe faptul că indicele de refracție în cazul sistemelor ternare este funcția a celor două concentrații independente:

$$n = n_0 + k_1 C_1 + k_2 C_2 \quad (16)$$

unde k_1 și k_2 sînt incrementele indicelui de refracție ale soluțiilor, care conțin primul, respectiv al doilea component; C_1 și C_2 sînt concentrațiile corespunzătoare. În cazul unei relații nelinere între indicele de refracție și compoziție, incrementele sînt și ele funcții ale concentrației (v. formula 15). Dacă una din concentrații este determinată printr-o metodă chimică adecvată, iar incrementele sînt cunoscute, măsurarea indicelui de refracție al soluției face posibilă calcularea concentrației de determinat:

$$C_2 = \frac{n - n_0 - k_1 C_1}{k_2} \quad (17)$$

Incrementele folosite la aceste calcule sînt identice cu cele de la sistemele binare. Relațiile de mai sus au fost introduse în farmacie de asemenea de *Fialkov*, *L. M. Solt* și *F. M. Solt*. Ele au fost aplicate de numeroși cercetători pentru studierea diferitelor sisteme ternare de importanță farmaceutică.

O altă posibilitate a evaluării datelor experimentale o constituie metoda grafică. Dacă la amestecurile binare izotermele indice de refracție-compoziție au fost reprezentate în sistem de coordonate rectangular (avînd doar perechi de valori), în cazul sistemelor ternare se recurge de obicei la folosirea diagramei triunghiulare. Axele sistemului de coordonate în astfel de cazuri sînt identice cu laturile unui triunghi echilateral. Laturile se calibrează pentru cele trei concentrații, iar două în plus și pentru cei doi parametri independenți (fig. nr. 2). Ca al doilea parametru independent se folosește cel mai des densitatea (metoda refractodensimetrică), adică analiza cantitativă constă din măsurarea indicelui de refracție n și a densității d a amestecului ternar. La început se prepară amestecuri ternare de o compoziție precis cunoscută, distribuite în mod rațional în diagrama triunghiulară a compozițiilor (de exemplu, concentrații corespunzătoare punctelor de intersecție ale dreptelor auxiliare din fig. nr. 2). Apoi se măsoară indicii de refracție și densitățile acestor amestecuri etalon. Punctele cu aceleași valori ale lui n și d se leagă prin curbe (izorefracte, respectiv izodense), obținîndu-se astfel o rețea de curbe (fig. nr. 3) Pentru determinarea compoziției unei probe de cercetat se găsește punctul de intersecție al curbelor corespunzătoare la n și d ale amestecului de analizat. Coordonatele acestui punct pe cele trei axe indică direct concentrația componentilor. Precizia determinărilor este cu atît mai mare cu cît izoliniile se intersectează pe diagramă sub unghiuri mai apropiate de unghiul drept. Această metodă este destul de laborioasă și se aplică numai la analize în serie.

Diagramele pot fi trase și în coordonate dreptunghiulare obișnuite, dacă pe axe se reprezintă proprietățile măsurate și pe baza datelor experimentale se trasează atîtea curbe cîte concentrații etalon au fost preparate.

În multe cazuri se pune problema analizei cantitative rapide a sistemelor policomponente complexe. Așa cum s-a amintit mai înainte, analiza completă a acestor sisteme, mai complexe decît cele ternare, nu poate fi realizată exclusiv prin metoda refractometrică. Problema se simplifică și devine rezolvabilă atunci, cînd se poate considera drept variabilă independentă, concentrația unui singur, eventual a doi componenți. În astfel de cazuri amestecurile studiate se pot considera ca binare, respectiv ternare și determinarea concentrațiilor variabile se efectuează prin procedeele descrise.

Dozarea refractometrică a substanțelor de importanță farmaceutică s-a utilizat și pentru determinarea solubilității lor. *Mincsev Ralcseva*, studiind în special derivații barbiturici, a propus o tehnică de lucru simplă pentru măsurările de acest tip. *Kaufmann* a determinat prin metoda polifazică punctul de anilină a unor grăsimi. Metoda refractometrică poate fi aplicată și pentru cercetarea procesului de difuziune în diferite sisteme.

B. TÖKES: REFRACTIONEIRIA. APLICAREA EI
 IN CERCETAREA SI PRACTICA FARMACEUTICA

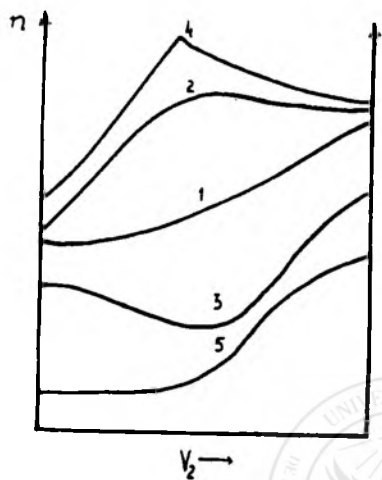


Fig nr 1.



Fig nr. 2.

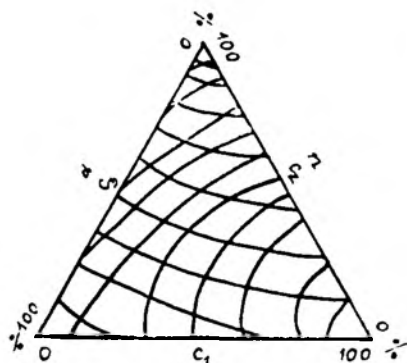
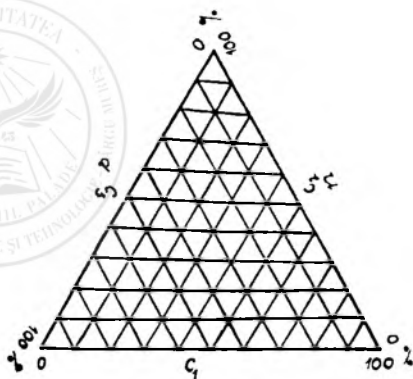


Fig nr 3.

Studiul structurii și reacțiilor combinațiilor chimice de importanță farmaceutică

Elucidarea structurii combinațiilor chimice, care fac parte din preparatele medicamentoase, precum și urmărirea în timp a desfășurării reacțiilor chimice dintre ele, studiul mecanismului acestor transformări — reprezintă probleme complexe de mare importanță din punct de vedere teoretic și practic. Refractometria s-a dovedit a fi în multe cazuri o metodă eficientă și pentru rezolvarea acestor probleme. Ca și celelalte metode fizice, are avantajul față de metodele chimice că nu influențează decursul procesului chimic studiat. Pe cînd metoda refractometrică este de mult aplicată în chimie pentru cercetarea și rezolvarea problemelor similare, și concluziile trase sînt fundamentate mai mult sau mai puțin riguros și din punct de vedere teoretic, în domeniul farmaciei cercetările de acest gen sînt destul de rare. Au fost studiate și interpretate cu ajutorul refractometriei probleme din domeniul chimiei combinațiilor complexe, cum ar fi formarea unor astfel de combinații, respectiv caracterizarea cantitativă a efectului trans; a fost descoperită formarea unei combinații moleculare de ordin superior; s-a urmărit decurgerea diferitelor reacții chimice. S-au obținut rezultate de seamă în elucidarea structurii unor combinații organice și anorganice, în special pe baza corelației dintre structură și refracție molară, respectiv dispersie molară. Unii autori au stabilit corelații între anumite funcții sau parametri structurali și datele refractometrice, de exemplu între temperatura de topire și indicele de refracție, între gradul de polaritate a legăturilor și refracția molară a unor substanțe solide și lichide etc. Considerentele și concluziile teoretice generale se pot extinde, bineînțeles, și asupra combinațiilor din preparatele farmaceutice.

Cercetările efectuate în vederea urmăririi reacțiilor chimice, resp. a determinării compoziției combinațiilor formate în aceste reacții, se bazează pe analiza formei izotermelor indice de refracție-concentrație, (fig. nr. 1). Indicele de refracție, ca funcție de concentrație, se consideră o mărime aditivă, prin urmare forma izotermelor pentru sisteme ideale trebuie să coincidă cu o dreaptă. Abaterile de la forma lineară sînt semne ale interacțiunii componentilor din sistem, iar proiecția maximelor respectiv punctelor singulare pe axa concentrației dă un răspuns și la compoziția produsului format. Corectitudinea concluziilor depinde de modul de exprimare a concentrației. După cum arată *Joffe* curbura izotermelor la exprimarea compoziției în fracții molare sau de masă, nu trebuie atribuită numai unor interacțiuni chimice sau disociației componentilor, deoarece forma acestor curbe este legată de relația numerică dintre volumele molare și densitățile componentilor. Mult mai corectă, fără a fi însă pe deplin riguroasă, este ipoteza că în sisteme ideale indicii de refracție sînt aditivi ca funcții de volum ale componentilor. Mai recent *Bednar* a propus folosirea metodei amestecurilor continue a lui *Job*, lucrînd cu soluții izorefractibile.

În ultimii ani ne întîlnim din ce în ce mai des și în literatura farmaceutică cu lucrări efectuate cu ajutorul metodei refractometrice spre a elucidă unele interacțiuni în sistemele bi- și policomponente. *Constantinescu* și *Dijmărescu* au aplicat această metodă pentru studiul soluțiilor. Autorii au constatat că numeroase

soluții se pot caracteriza cu izoterme drepte, în special în domeniul concentrațiilor mici. Abaterea de la aditivitate, ce apare în soluții concentrate, autorii au atribuit-o interacțiunii componentelor, în special formării legăturii de hidrogen

Pe baza a 10 preparate magistrale solide și soluții, *Deák* și *Tőkés* au arătat că refractometria poate fi utilizată pentru studiul stabilității preparatelor, permițând să se tragă concluzii asupra limitei lor de conservabilitate

În ceea ce privește studiul structurii combinațiilor, acesta se bazează cel mai des pe refracția și dispersia molară, ca mărimi practic independente de temperatură, presiune și stare de agregare. Determinarea acestor parametri servește deseori la verificarea ipotezelor privitoare la compoziția și structura combinațiilor cercetate și a rezultatelor analizei chimice. În acest scop valoarea experimentală a refracției, resp. a dispersiei molare se compară cu suma constantelor aditive (refracțiile atomice și de legătură, incrementele etc.) calculată, pornind de la formula chimică presupusă

Abaterile de la valorile calculate (exaltațiile):

$$ER = R_{exp} - R_{ad} \quad (18)$$

$$\text{resp} \quad E\omega = \omega_{exp} - \omega_{ad} \quad (19)$$

constituie o indicație asupra prezenței unor particularități structurale, neluate în considerare în substanța de cercetare (de exemplu: legături duble conjugate).

Cercetări de structură, bazate pe metoda refractometrică ale substanțelor de importanță farmaceutică au fost efectuate în special de *Mincser Ralcseva* în domeniul derivaților acidului barbituric, precum și de *Oliveros-Belardo* și *Janneke* în seria terpenelor.

Recapitulare. Concluzii.

Metoda refractometrică este o metodă simplă, rapidă și precisă care se poate aplica chiar și singură pentru rezolvarea numeroaselor probleme practice și teoretice în farmacie. Astfel de probleme sînt: controlul purității, analiza calitativă și cantitativă a diferitelor preparate medicamentoase simple sau complexe. Refractometria aduce un aport real în elucidarea particularităților structurale ale substanțelor de importanță farmaceutică. În acest scop cercetările s-au bazat pînă în prezent în special pe refracția molară a combinațiilor. Studiul formei izotermelor indice de refracție-compoziție, sau indice de refracție-timp, permite descoperirea interacțiunilor dintre componentii sistemelor complexe (incompatibilități), stabilirea compoziției produșilor formați, urmărirea în timp a acestor reacții (limita de conservabilitate a preparatelor).

Posibilitățile oferite de refractometrie sînt mult mai numeroase, decît cele amintite, fiind astăzi încă departe de a fi exploatate.

Sosit la redacție: 9 iunie 1966.

Bibliografia la autor.