

ЛЕКЦИЯ № 3

ТЕМА: ТЕОРЕТИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ИК-СПЕКТРОСКОПИИ И ПРИМЕНЕНИЕ В ФАРМАЦИИ

План лекции:

1. Теоретические основы метода.
2. ИК-спектр.
3. Аппаратура ИК–спектроскопии.
4. Применение в фармации.

Теоретические основы метода

Явление взаимодействия веществ с ИК-излучением было открыто У.Эбни и И.Фестингом в 1861 г.

В России впервые ИК-спектры адсорбированных молекул были получены в 1938г. А.Н. Терениным и К.Я. Каспаровым. Уже в 1948 г., за шесть лет до появления первой зарубежной публикации, Н.Г.Ярославским были обобщены результаты первых исследований поверхности пористого стекла с помощью ИК-спектроскопии.

Впервые метод стал фармакопейным с 1968г. (ГФ X), где он рекомендовался для контроля качества трех лекарственных веществ: *фторотана, оксациллина и метициллина натриевых солей.*

ИК-спектроскопия включена во все современные фармакопеи, в том числе и в ГФ XII (2007 г.).

ИК-спектроскопия - метод исследования веществ, основанный на поглощении ИК-излучения, в результате чего происходит усиление колебательных и вращательных движений молекул. Больше проявление имеют колебательные движения, поэтому ИК-спектры, называются ***колебательными***.

Энергия, необходимая для возбуждения колебаний атомов в молекуле, соответствует энергии квантов света с длиной волны 1-15 мкм или волновым числом 400-4000 см⁻¹, т.е. электромагнитному излучению *средней инфракрасной области*.

Области, примыкающие к ней, называются *ближней инфракрасной* от 10000-4000 см⁻¹ и *дальней инфракрасной* от 625-50 см⁻¹.

Слова «ближний и дальний» характеризуют близость к области видимого света.

В свою очередь средняя область подразделяется на *область «отпечатков пальцев»* (600-1500 см^{-1}) и *область характеристических полос* (1500-4000 см^{-1}).

В области *«отпечатков пальцев»* лежат полосы поглощения скелета органической молекулы, содержащей связи С-С, С-О, С-N (для этой области не характерны колебания, принадлежащие отдельным связям).

По ИК спектрам в области *«отпечатков пальцев»* можно идентифицировать изомерные алканы.

Поглощая квант света, молекула может переходить на более высокий колебательный уровень, обычно из основного колебательного состояния в возбужденное.

Поглощение ИК-излучения вызывают колебания связанные с изменением либо длин связи, либо углов между связями.

Таким образом, основными типами колебаний являются так называемые *валентные и деформационные* колебания.

Колебания, заключающиеся в изменении длины связи между связанными атомами и не сопровождающиеся отклонением от межъядерной оси, называются ***валентными***.

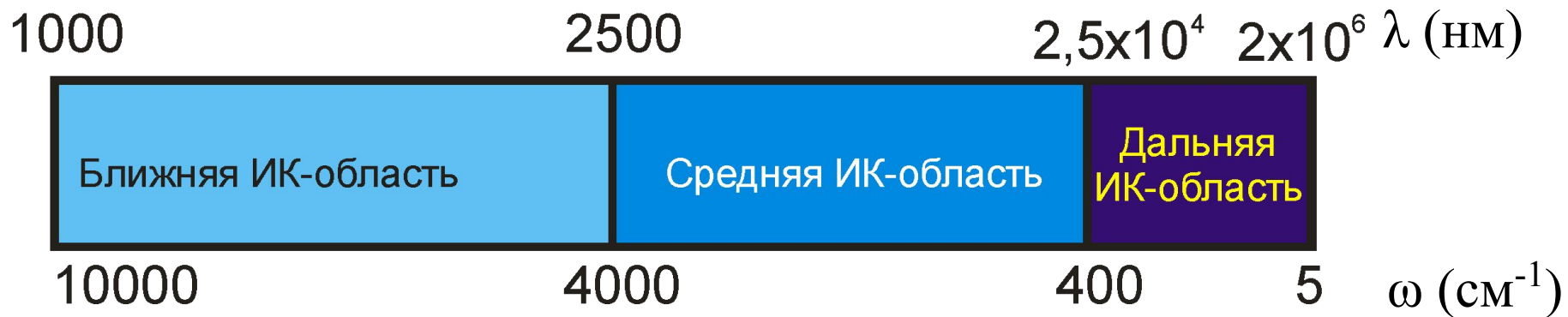
Валентные колебания располагаются в области больших частот 4000-1400 см^{-1} , деформационные - в области низких.

В зависимости от природы колебания подразделяются на ***скелетные*** (600-1500 см^{-1}) и ***колебания групп*** ($>1500 \text{ см}^{-1}$).

Наряду с указанными основными в спектре наблюдаются *обертон*ы, полосы резонансного взаимодействия, составные полосы, возникающие в результате взаимодействия полос поглощения отдельных атомов.

Колебательными спектрами обладают не все молекулы, а только те, у которых при колебании происходит изменение ее дипольного момента, т.е. вещества с полярной ковалентной связью.

Области ИК-излучения



Область обертона.
Водородная связь.
Составные частоты основных колебаний.

Область характеристических полос.
Область «отпечатков пальцев»

Связи М-Х
Вращательные переходы

Частоты колебаний

600 1300 1500 1800 2000 2300 2800 4000

Деформационные
колебания

Скелетн.
Валентн.
Колебания
C-C,
C-O,
C-N,...

Колебания
C=C,
C=O,
C=N,...

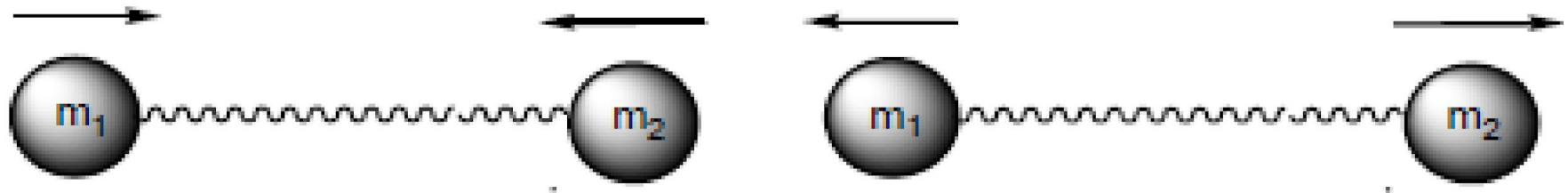
Колебания
C≡C,
C≡N,...

Колебания
C-H,
O-H,
N-H,...

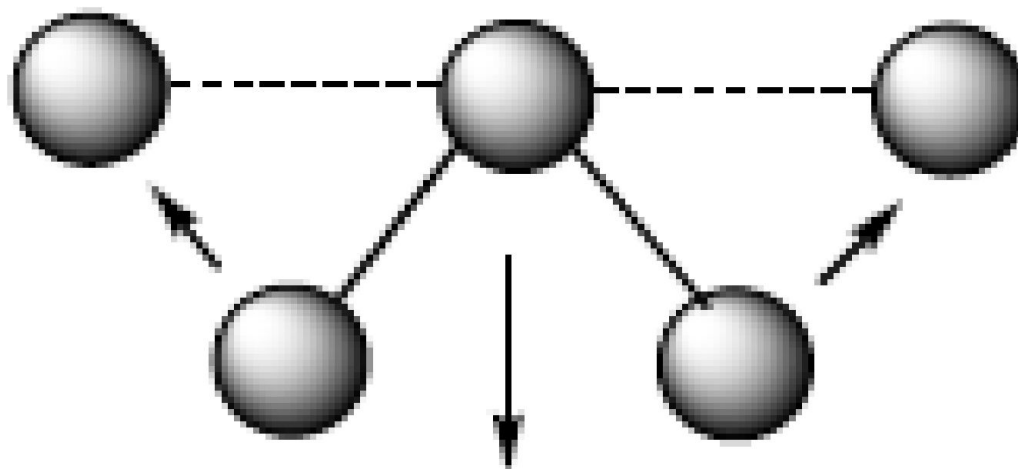
Отпечатки
пальцев

Область колебаний функциональных групп

Валентное симметричное колебание



Деформационное колебание



ИК-спектроскопия является:

- молекулярно – специфичной, что позволяет получать информацию о функциональных группах;
- селективной по отношению к изомерам, благодаря области «отпечатков пальцев»;
- методом количественного и неdestructивного анализа;
- методом, работающим в области концентраций от 0,1% до 100%, но также пригодным и для определения микроколичеств.

ИК-спектр

Инфракрасный спектр получают путем регистрации интенсивности прошедшего излучения в зависимости от волновых чисел.

Спектральные данные записываются как зависимость коэффициента поглощения от длины волны или частоты в обратных сантиметрах (см^{-1}) или в микрометрах (мкм).

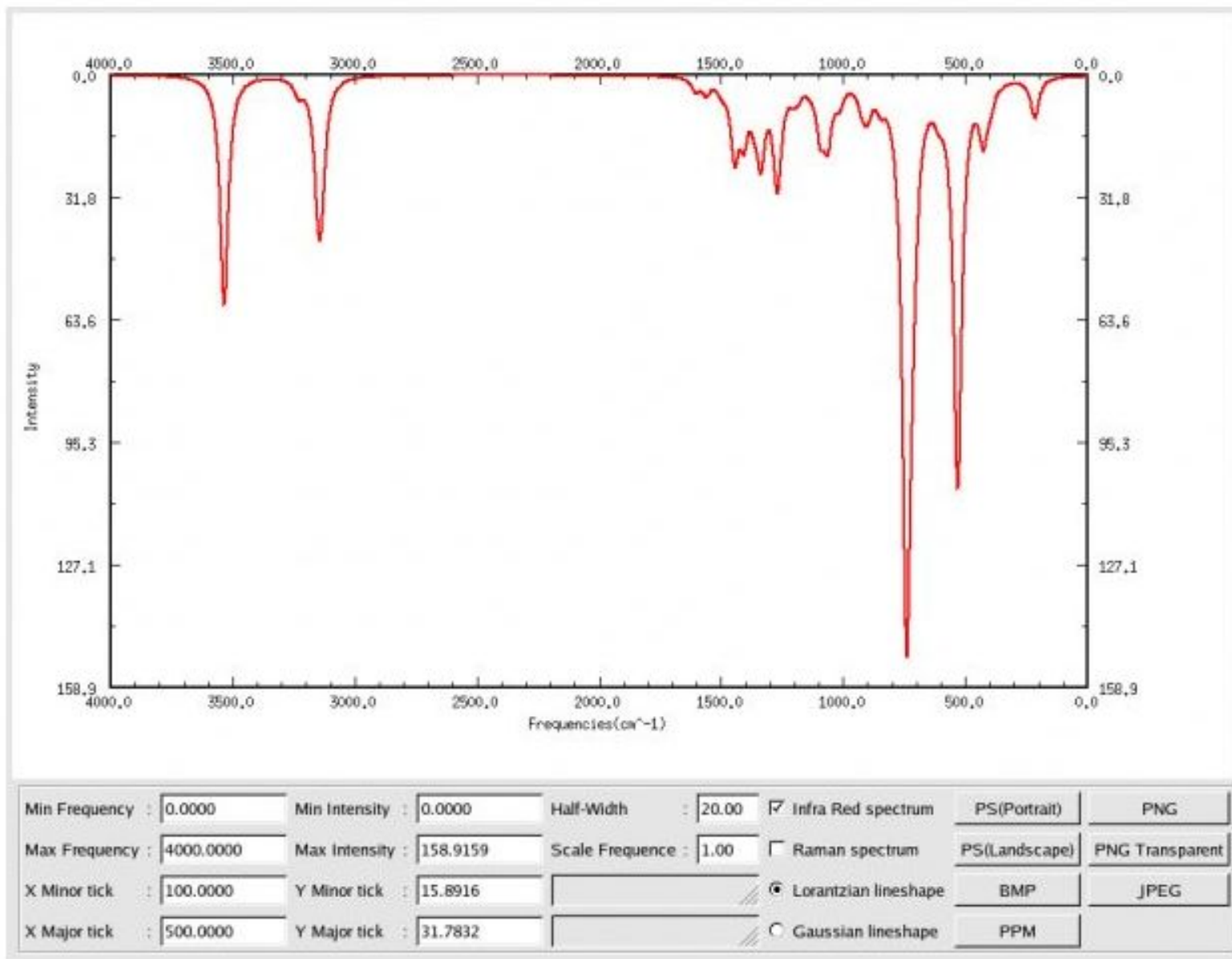
Фактор интенсивности для ИК-области спектра может быть выражен как пропускание в %:

$$T = \frac{(I_0 - I)}{I_0} \cdot 100$$

где I_0 - интенсивность падающего монохроматического излучения;

I - интенсивность прошедшего монохроматического излучения, или поглощение в %.

Общий вид ИК - спектра



Факторы, влияющие на частоту и интенсивность характеристических полос поглощения:

1. Внутренние факторы, влияющие на характеристические частоты

А) Геометрия молекулы оказывает заметное влияние на частоту и интенсивность колебательного спектра поглощения.

2. Влияние внешних воздействий

А) Агрегатное состояние. Величина смещения полос поглощения при переходе от газа к жидкости обычно меньше 25 см^{-1} .

Б) Растворитель. Положение и интенсивность полос поглощения, обусловленных характеристическими частотами, изменяются при переходе от одного растворителя к другому.

В) Концентрация вещества. Большое влияние на ИК-спектр оказывает концентрация вещества, поэтому для таких образцов рекомендуют принимать стандартные условия (растворитель, концентрацию и толщину поглощающего слоя).

Г) Температура.

Снятие ИК-спектров

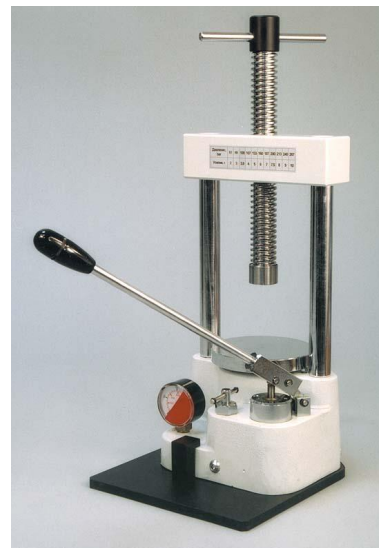
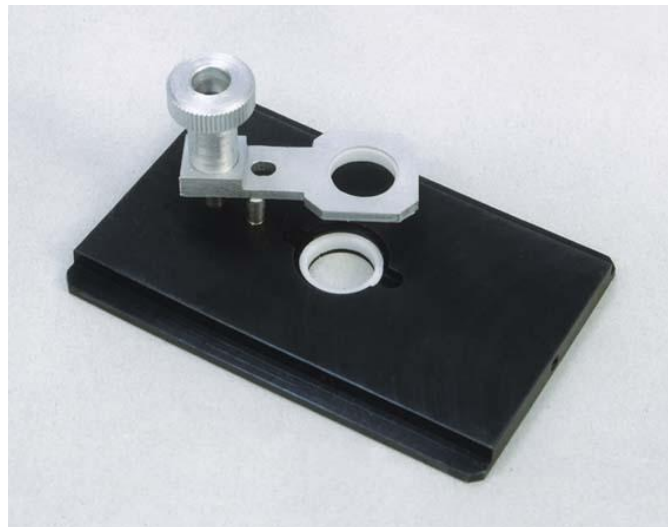
Объекты исследования ИК-спектроскопии могут быть жидкими, твердыми, газообразными, могут быть как органическими, так и неорганическими.

1. Спектры *газов* или *низкокипящих жидкостей* получают введением образца в вакуумированные кюветы.

2. *Жидкости* можно исследовать чистыми или *в растворах*. Чистые помещают между двумя солевыми пластинками, получают пленку толщиной 0,01 мм и меньше. Пластины удерживаются вместе капиллярными силами. Необходимо от 1 до 10 мг пробы. Летучие жидкости исследуют в герметических кюветах с очень тонкими стенками. Растворы помещают в кюветы толщиной 0,1 - 1 мм.

3. *Твердые вещества* применяют в виде паст, прессованных дисков (таблеток) или в виде осажденных стекловидных пленок.

Держатель таблеток



Приставка для измерения пропускания пластин

Кювета газовая

Кювета жидкостная разборная

Для снятия ИК-спектров, как правило, используют *двухлучевые спектрометры* с оптическим нулем следующего типа: «Specord 75 IR», «Specord M-80», «Unicam SP-200», «Beckman IR-11», «Perkin-Elmer», «Bruker», «Shimadzu FTIR-8900», «MTIFS 01» и др.

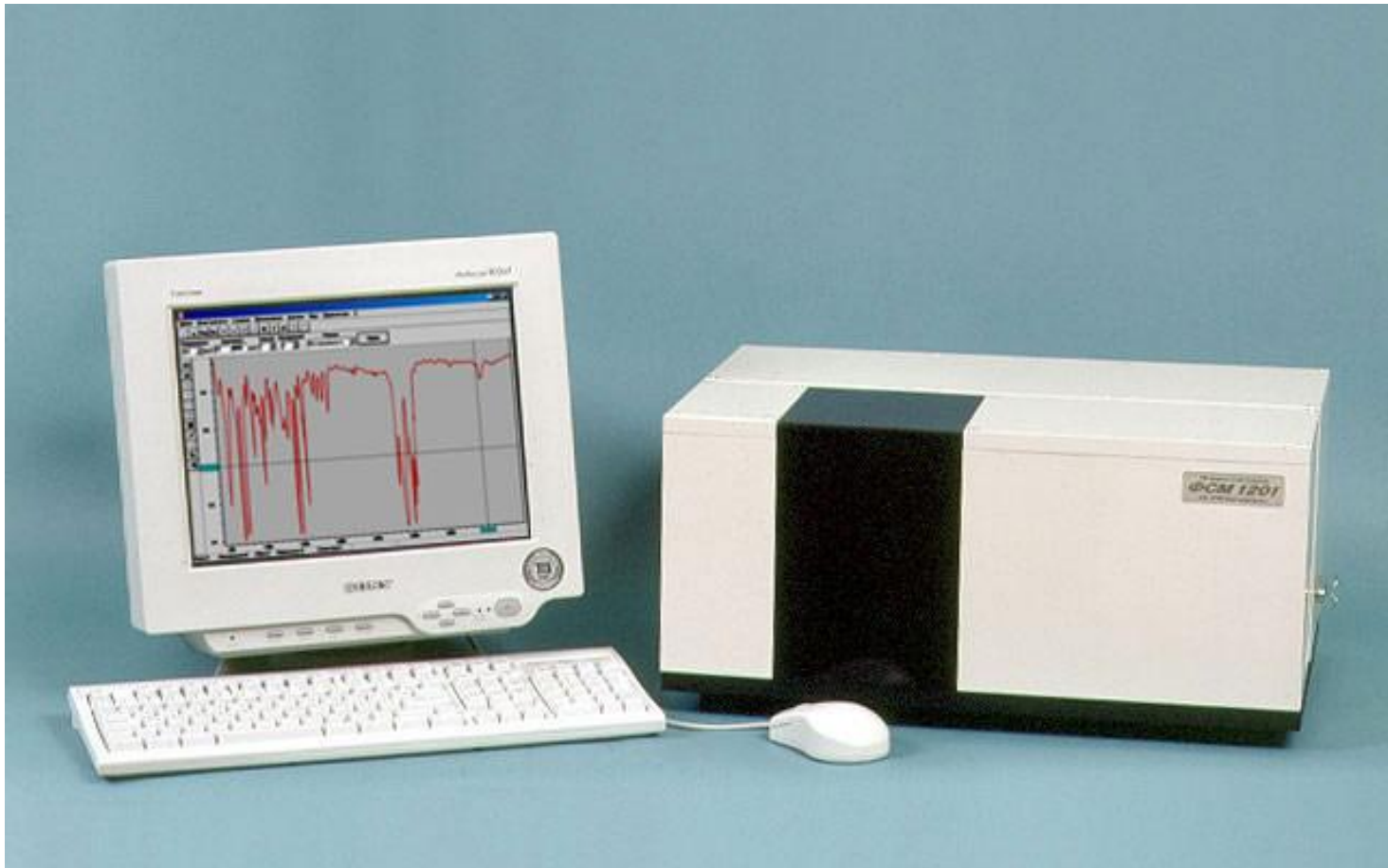
В качестве источника инфракрасного излучения используют штифты Нернста и Глобара, нагреваемые электрическим током до 1000 - 1800 °С.

ИК-спектроскопия. Приборы



Первый серийный ИК-спектрометр
Perkin Elmer Model 12. 1944 г.

Внешний вид ИК-спектрометра



Принципиальная схема прибора состоит:

- источник излучения;
- кювета с образцом;
- монохроматор;
- входная и выходная щели монохроматора;
- фокусирующая оптика;
- призма или дифракционная решетка;
- приемник излучения;
- регистрирующее устройство

Приемник (детектор) - устройство, которое измеряет энергию излучения по его тепловому эффекту. Приемники подразделяются:

Термические детекторы, действие которых основано на измерении тепловых эффектов.

Фотонные детекторы - полупроводниковые устройства, в которых электрон может поглотить квант инфракрасного излучения и перейти в зону проводимости, внося свой вклад в электропроводность.

Пироэлектрические детекторы реагируют не на саму температуру, а на изменение ее во времени и не нуждаются в дублирующей системе, защищающей от излучения.

Применение в фармации

- при установлении структуры новых БАВ (синтетических и природных);
- изучении строения метаболитов;
- при испытании на подлинность лекарственных веществ;
- определении доброкачественности лекарственных соединений;
- количественном анализе;
- контроле технологического процесса в промышленном производстве фармпрепаратов;
- для доказательства отличия лекарственных веществ близкого химического строения (одного ряда).

Например, ИК-спектр субстанции аминокислоты *цистеина (Cysteine)*

