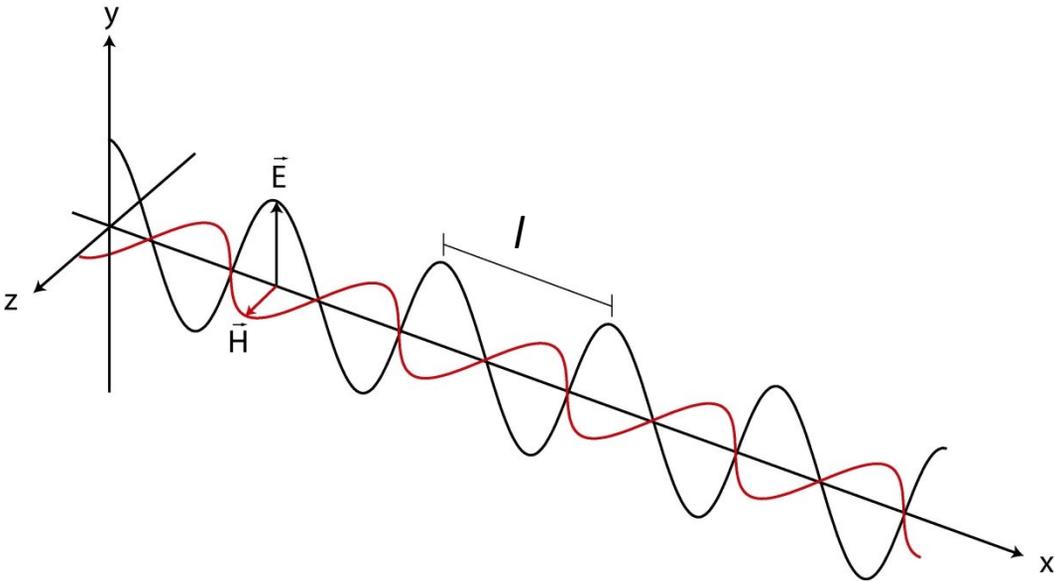


# **Tecniche Chirottiche per Composti Organici**

# Radiazione EM non Polarizzata

La radiazione EM è un'onda trasversa consistente in un campo elettrico e in uno magnetico oscillanti e mutuamente perpendicolari.

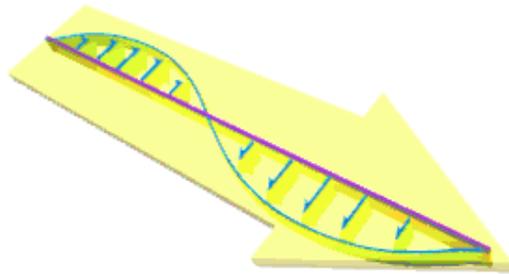


In generale l'oscillazione **non** ha luogo in un piano fisso.

La radiazione è **non polarizzata**.

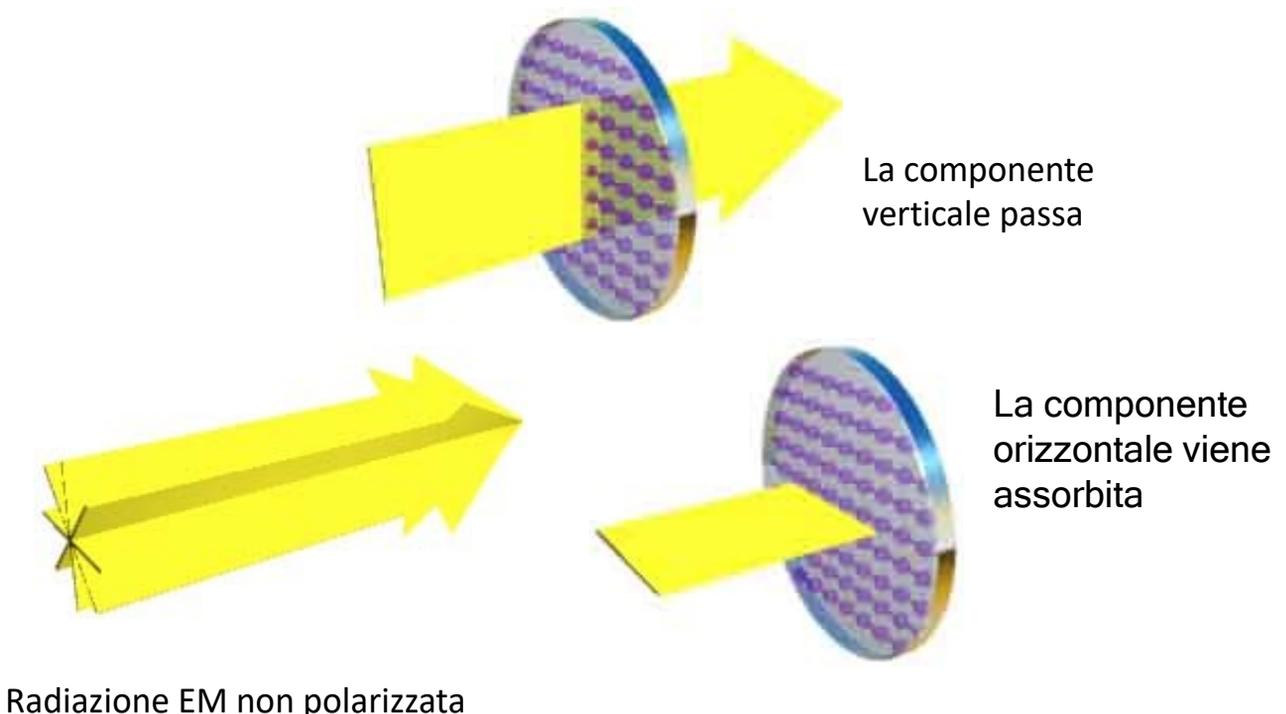
# Radiazione EM non Polarizzata

Quando la radiazione EM è **non** polarizzata, il piano di oscillazione varia nel tempo in modo casuale.



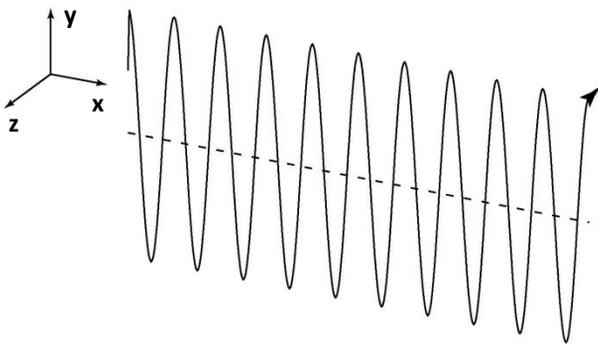
# Polarizzazione della Radiazione EM

- Un filtro polarizzatore trasforma la radiazione non polarizzata in radiazione polarizzata **in un piano**.
- Un esempio è un filtro Polaroid. Esso è costituito da filari paralleli di polimeri. Solo la luce polarizzata in una direzione passa, mentre le altre componenti vengono assorbite.

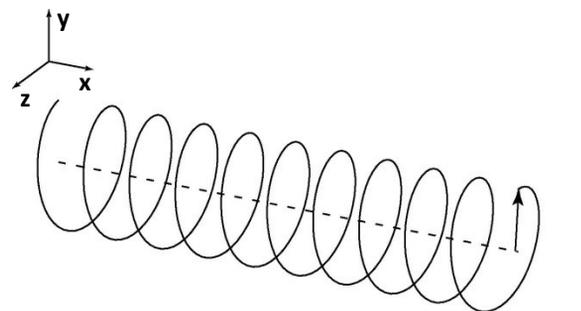
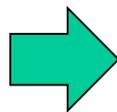


# Polarizzazione della Radiazione EM

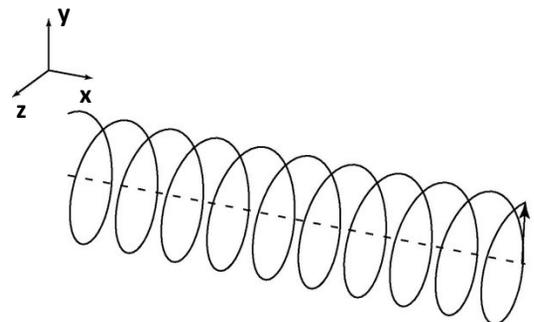
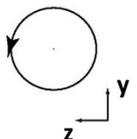
La radiazione polarizzata in un piano  
corrisponde alla sovrapposizione di  
onde polarizzate circolarmente a destra  
e a sinistra della stessa intensità.



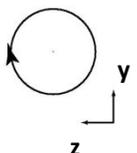
Radiazione EM polarizzata  
nel piano xy



Radiazione EM  
polarizzata circolarmente  
a sinistra

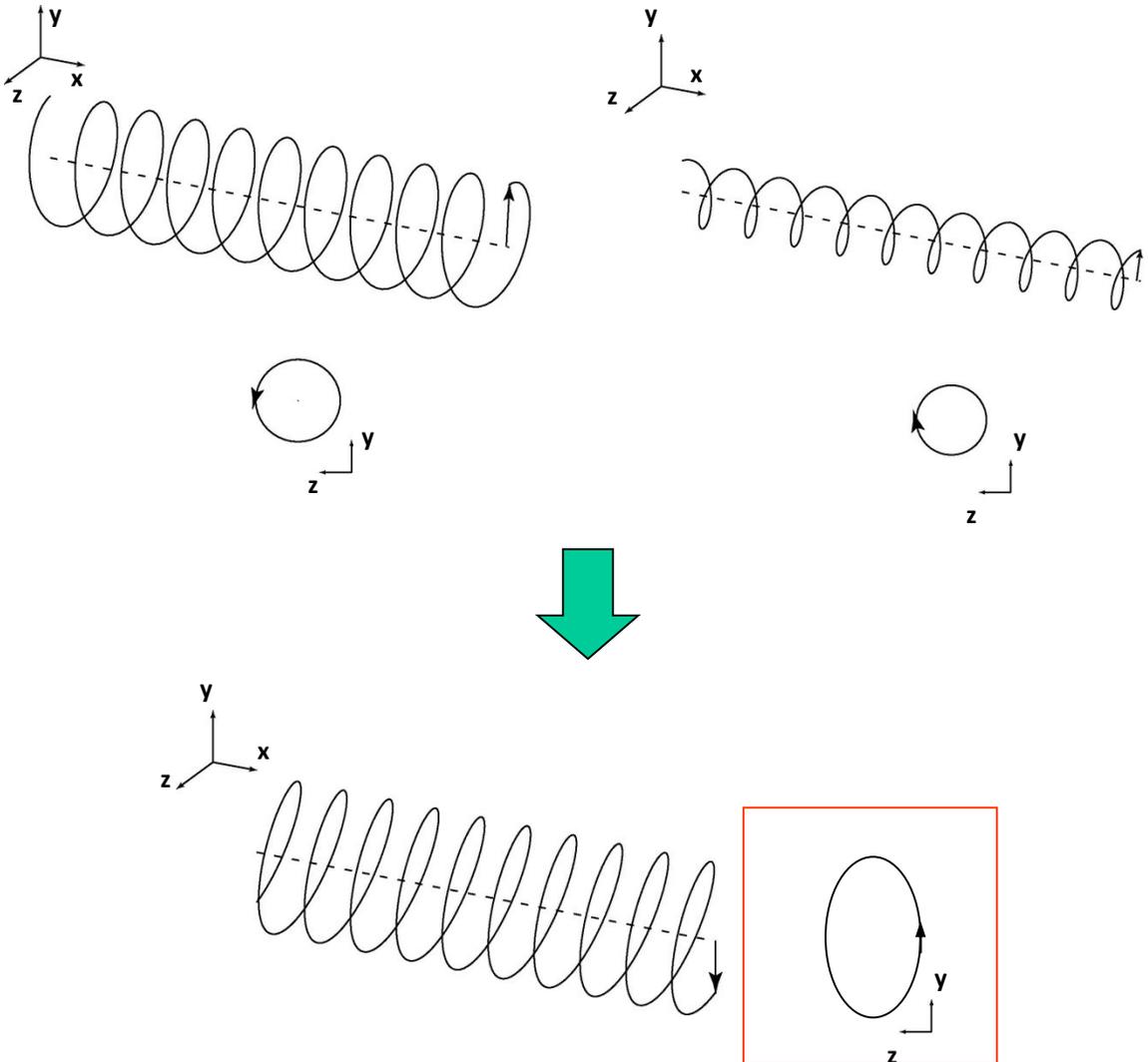


Radiazione EM  
polarizzata circolarmente  
a destra



# Radiazione EM Polarizzata Ellitticamente

Se le due onde polarizzate circolarmente a destra e a sinistra hanno **intensità diversa**, la radiazione derivante dalla loro somma è polarizzata **ellitticamente**.



# Caratteristiche della materia che presenta attività ottica

## 1. Presenta **Birifrangenza**

**Circolare:** l'indice di rifrazione è diverso per le due componenti circolari della radiazione polarizzata nel piano:  $n_L \neq n_R$

## 2. Può presentare **Dicroismo**

**circolare:** le due componenti destra e sinistra della radiazione piano polarizzata vengono assorbite dal mezzo in modo diverso:  $\varepsilon_L \neq \varepsilon_R$

# Birifrangenza Circolare

Le due componenti destra e sinistra viaggiano con velocità diversa all'interno del mezzo

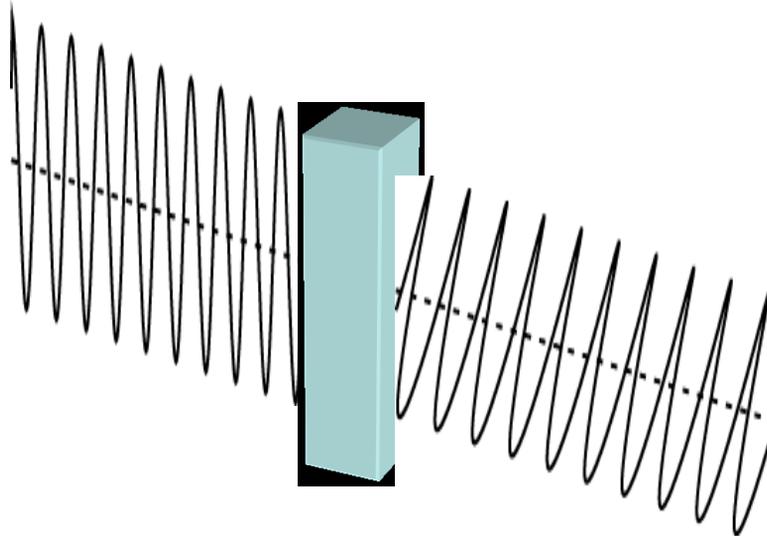


Il piano di vibrazione della radiazione ruota di un angolo  $\alpha$  proporzionale a  $n_L - n_R$ :

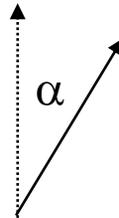
**Rotazione Ottica**

$$\alpha = \frac{180 \cdot (n_L - n_R)}{\lambda} l$$

# Rotazione Ottica



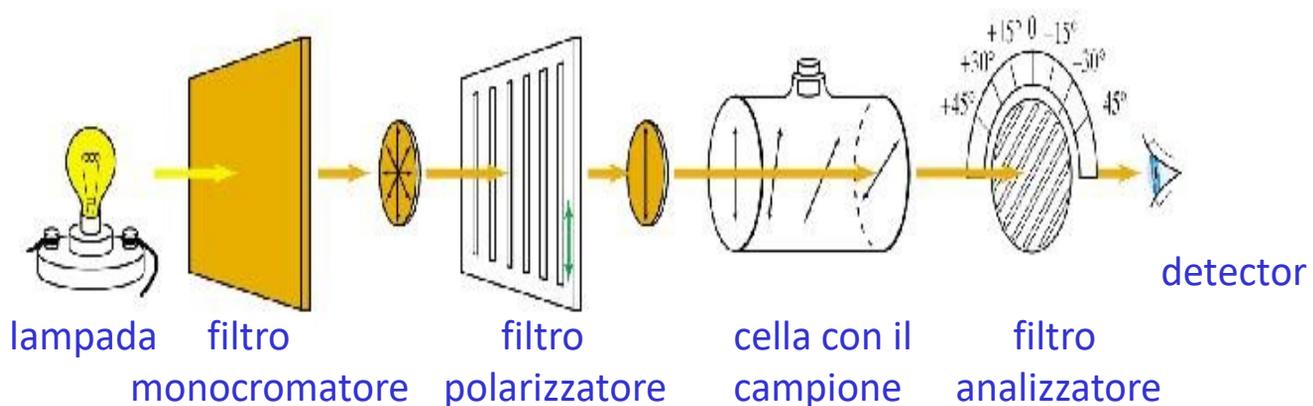
Direzione del piano  
della luce  
polarizzata  
**incidente**



Direzione del piano  
della luce  
polarizzata  
**trasmessa**

# Misura sperimentale della Rotazione Ottica

La misura della rotazione ottica richiede uno strumento detto **polarimetro**. Un moderno polarimetro rileva rotazioni ottiche fino a  $0.002^\circ$ .



↑  
Direzione del piano di polarizzazione della luce incidente

$a < 0$        $a > 0$   
↙      ↘  
↑  
Direzione del piano di polarizzazione della luce trasmessa

# Rotazione Specifica $[\alpha]_D^t$

Per rendere il valore indipendente da variazioni di concentrazione e di lunghezza della cella, si usa la Rotazione Specifica  $[\alpha]_D^t$ .

$$[\alpha]_D^t = \frac{\alpha}{cl}$$

$\alpha$  = rotazione osservata in gradi

$c$  = concentrazione (g/mL)

$l$  = lunghezza della cella (dm)

$D$  = 589.3 nm (riga gialla del Na)

$t$  = temperatura (gradi Celsius)

La rotazione specifica calcolata in questo modo è sempre uguale per lo stesso composto ed è una proprietà fisica caratteristica di ogni composto otticamente attivo.

# Rotazione Specifica $[\alpha]_D$ di composti bioattivi

COMPOSTO	$[\alpha]_D$
colesterolo	-31.5
cocaina	- 16
morfina	- 132
codeina	- 136
eroina	- 107
epinefrina	- 5.0
progesterone	+172
testosterone	+109
saccarosio	+66.5
$\beta$ -D-glucosio	+18.7
$\alpha$ -D-glucosio	+112

Poichè la maggior parte dei composti naturali è otticamente attiva, la rotazione specifica è usata per caratterizzare la **purezza ottica** di prodotti dell'industria farmaceutica, alimentare, degli aromatizzanti, ecc.

# Attività ottica - definizioni

Eqn. 1.1 Angle of rotation  $\alpha$  (in deg cm<sup>-1</sup>)

$$\alpha = \frac{180}{\lambda} (n_L - n_R)$$

$n_L$  &  $n_R$  = refractive indices of the left- and right-polarized beams  
 $\lambda$  = wavelength

Eqn. 1.2 Specific rotation (in deg dm<sup>-1</sup> g<sup>-1</sup> cm<sup>3</sup>)

$$[\alpha]_{\lambda}^T = \frac{a_{\lambda}^T \cdot 100}{L \cdot c}$$

$T$  = temperature  
 $L$  = path length in dm  
 $c$  = solute concentration in g/100 ml

Eqn. 1.4 Optical purity (OP)

$$\% \text{ OP} = \frac{[\alpha]_{\text{observed}} \cdot 100}{[\alpha]_{\text{maximal}}} = \% \text{ ee}$$

Eqn. 1.5 Enantiomeric purity (EP)  
Enantiomeric excess (ee)

$$\% \text{ EP} = \frac{((R) - (S)) \cdot 100}{((R) + (S))}$$

where  $(R) + (S) = 1$ ;  
and here  $(R) > (S)$

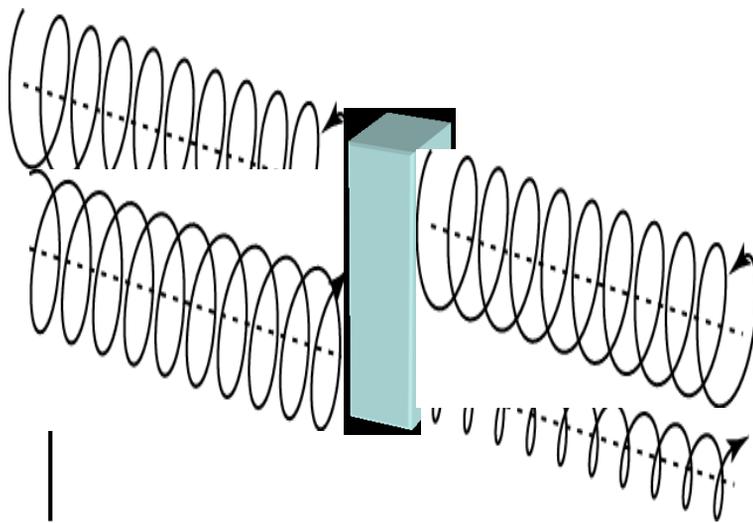
Eqn. 1.6 Enantiomeric %

$$\% (R)\text{-Enantiomer} = \frac{(R) \cdot 100}{((R) + (S))}$$

here for  $(R)$

# Dicroismo Circolare

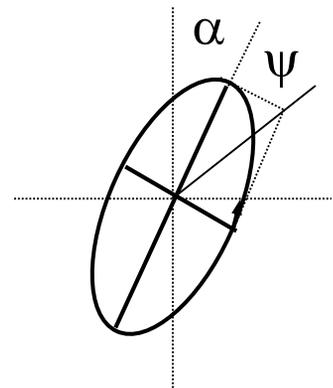
Entrando in un materiale che assorbe  
differentemente la radiazione circolarmente  
polarizzata a destra e quella circolarmente  
polarizzata a sinistra, la luce incidente,  
polarizzata nel piano, esce polarizzata  
**ellitticamente**



Radiazione  
**linearmente**  
polarizzata

Radiazione  
**ellitticamente**  
polarizzata

$$\psi \text{ ellitticità}$$
$$\operatorname{tg} \psi = \frac{\text{asse} <}{\text{asse} >}$$



- **Ellitticità (psi)**

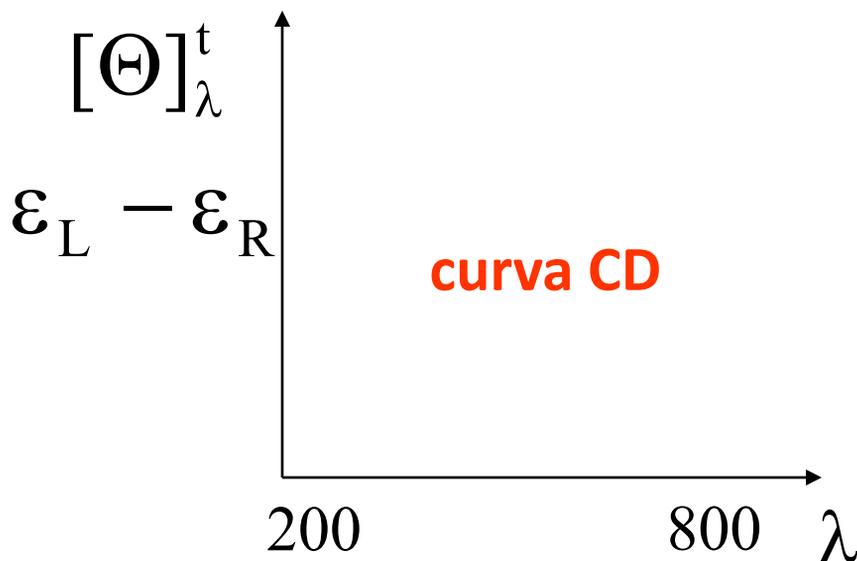
$$\psi = \frac{180 \cdot (\varepsilon_L - \varepsilon_R)}{\lambda}$$

$\varepsilon$  = coefficiente di assorbimento

- **Ellitticità molare (Theta)**

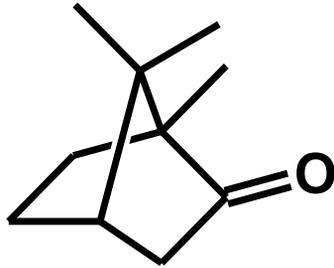
$$[\Theta]_{\lambda}^t = \frac{100\psi}{cl}$$

$\psi$  in gradi  
 $c$  in moli/L  
 $l$  in cm

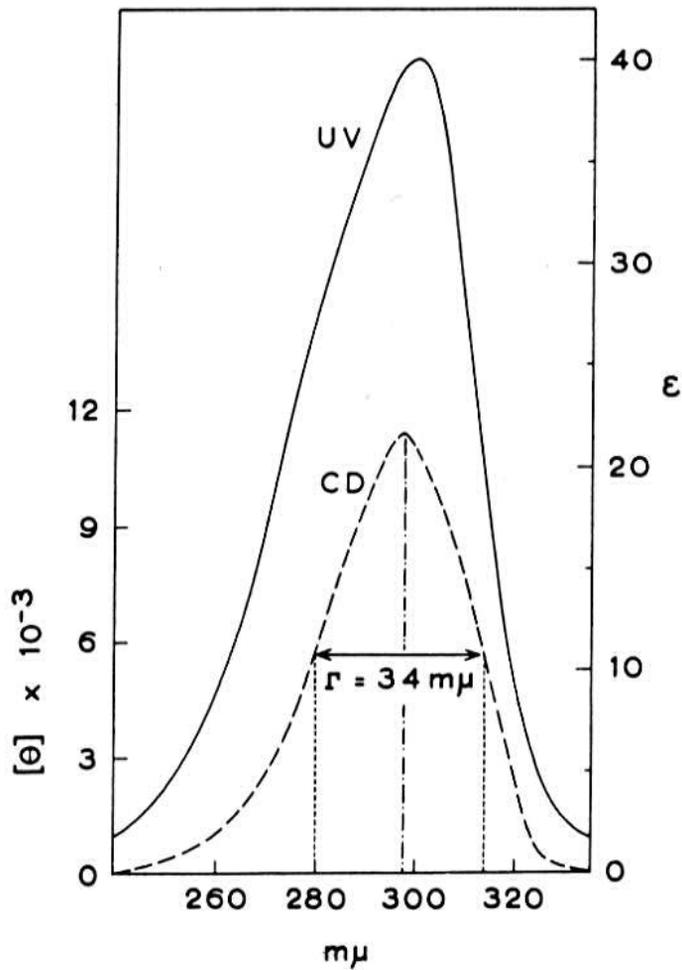


$$[\Theta]_{\lambda}^t = 3300 (\varepsilon_L - \varepsilon_R)$$

# UV vs CD



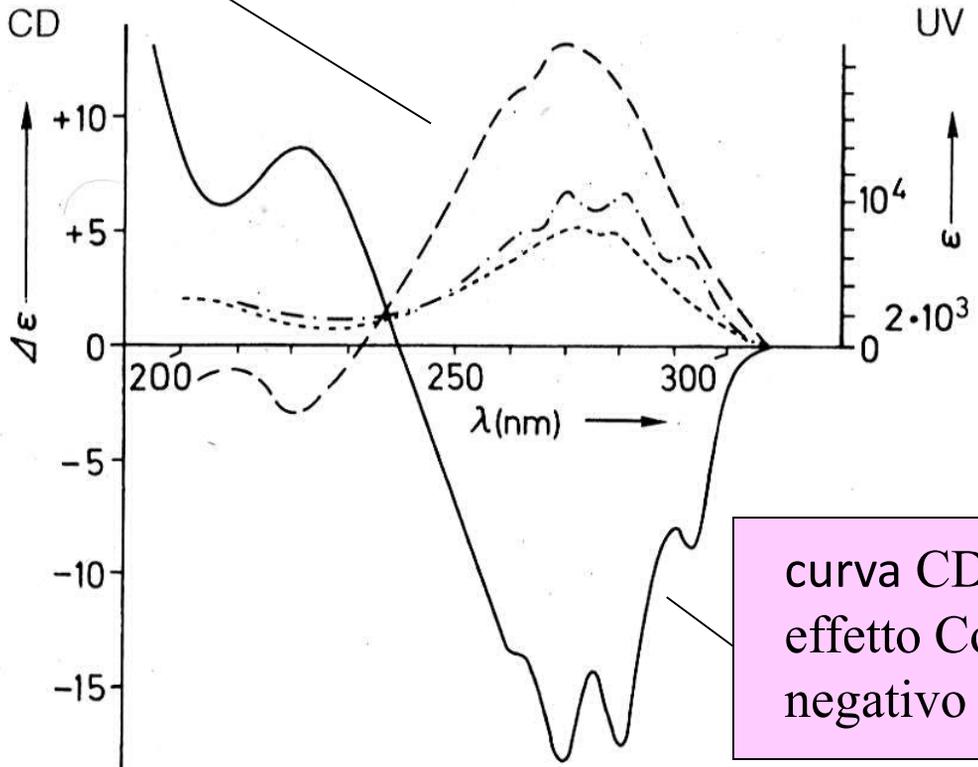
canfora



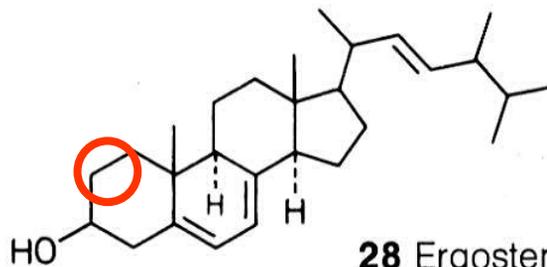
curva CD a effetto Cotton positivo

# UV vs CD

curve CD a  
effetto Cotton  
positivo

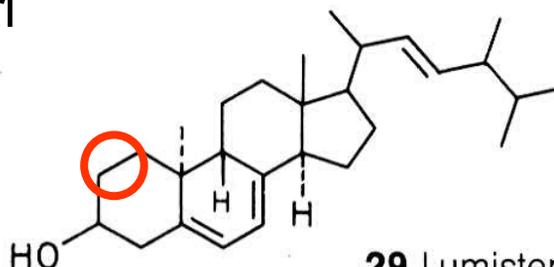


curva CD a  
effetto Cotton  
negativo



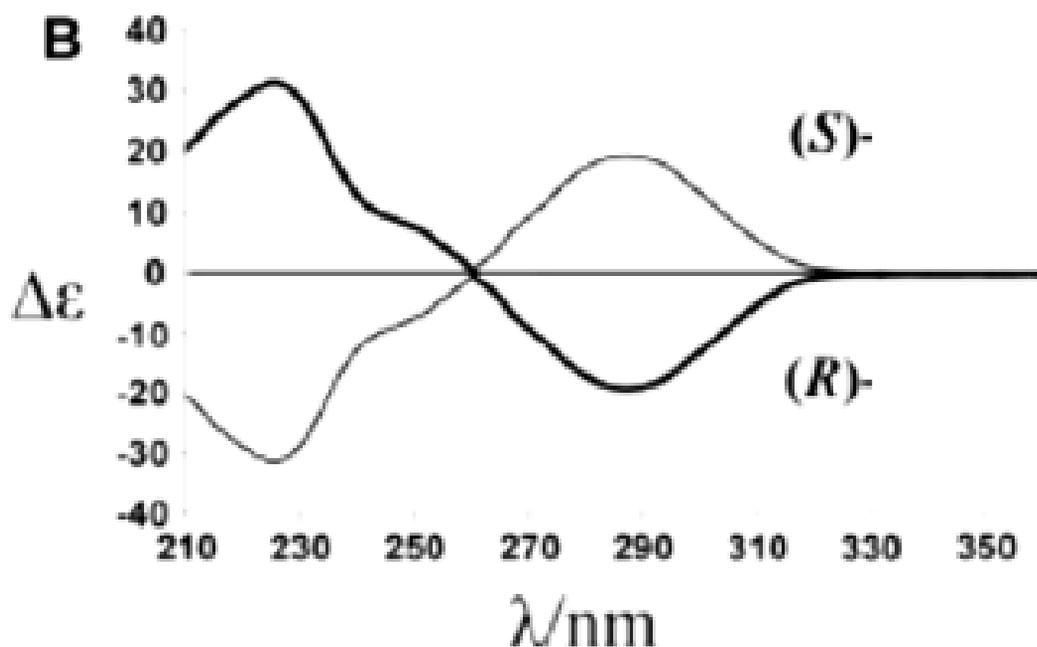
CD —  
UV - - -

diastereoisomeri



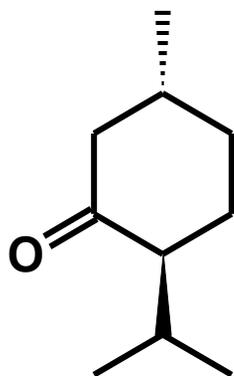
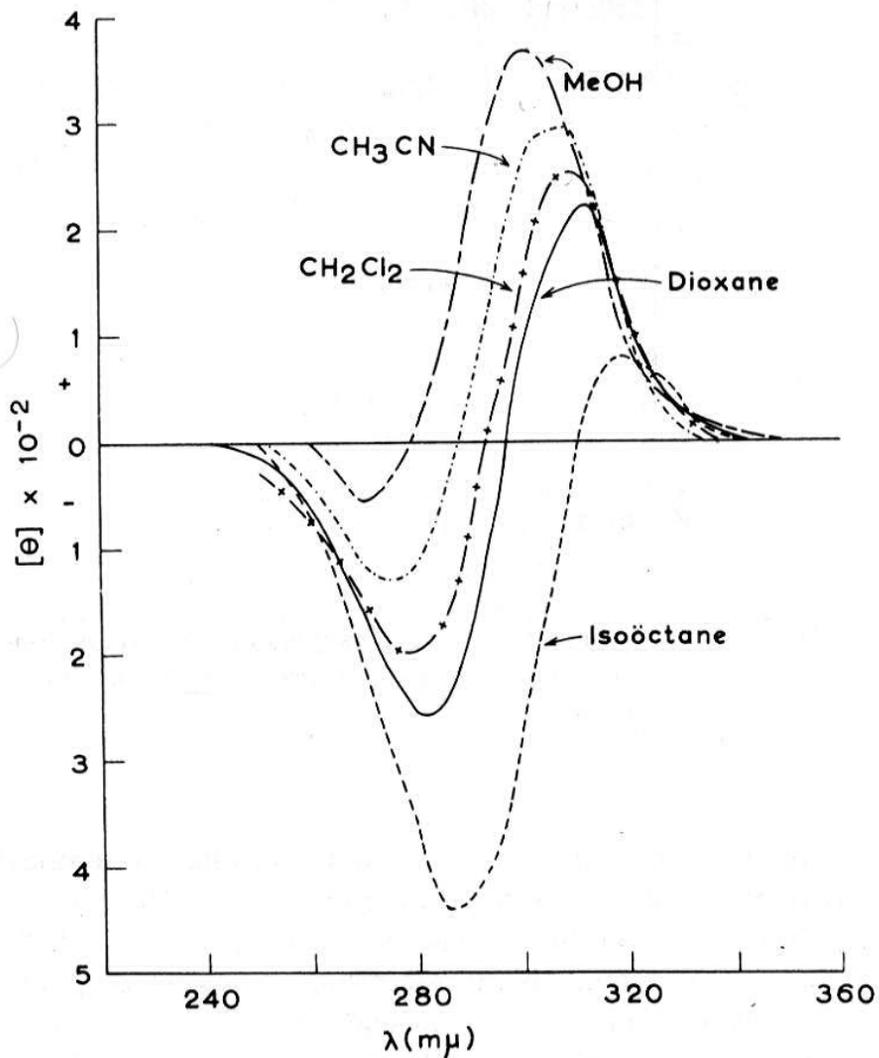
CD - - -  
UV - - -

# Curve CD e configurazione assoluta



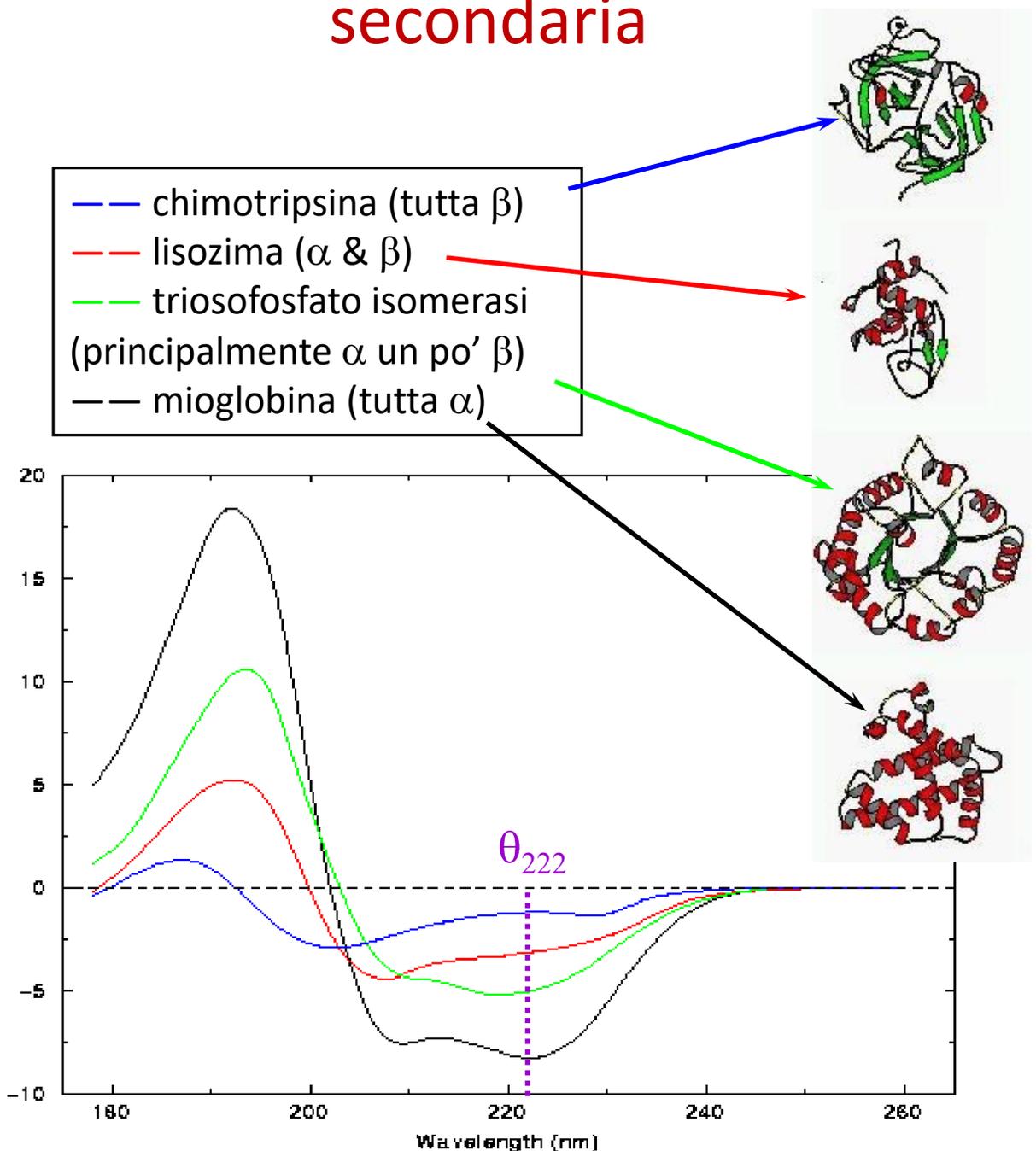
Due enantiomeri hanno curve CD opposte

# Solvente e curva CD



(-)-menthone

# Il segnale CD di una proteina dipende dalla sua struttura secondaria

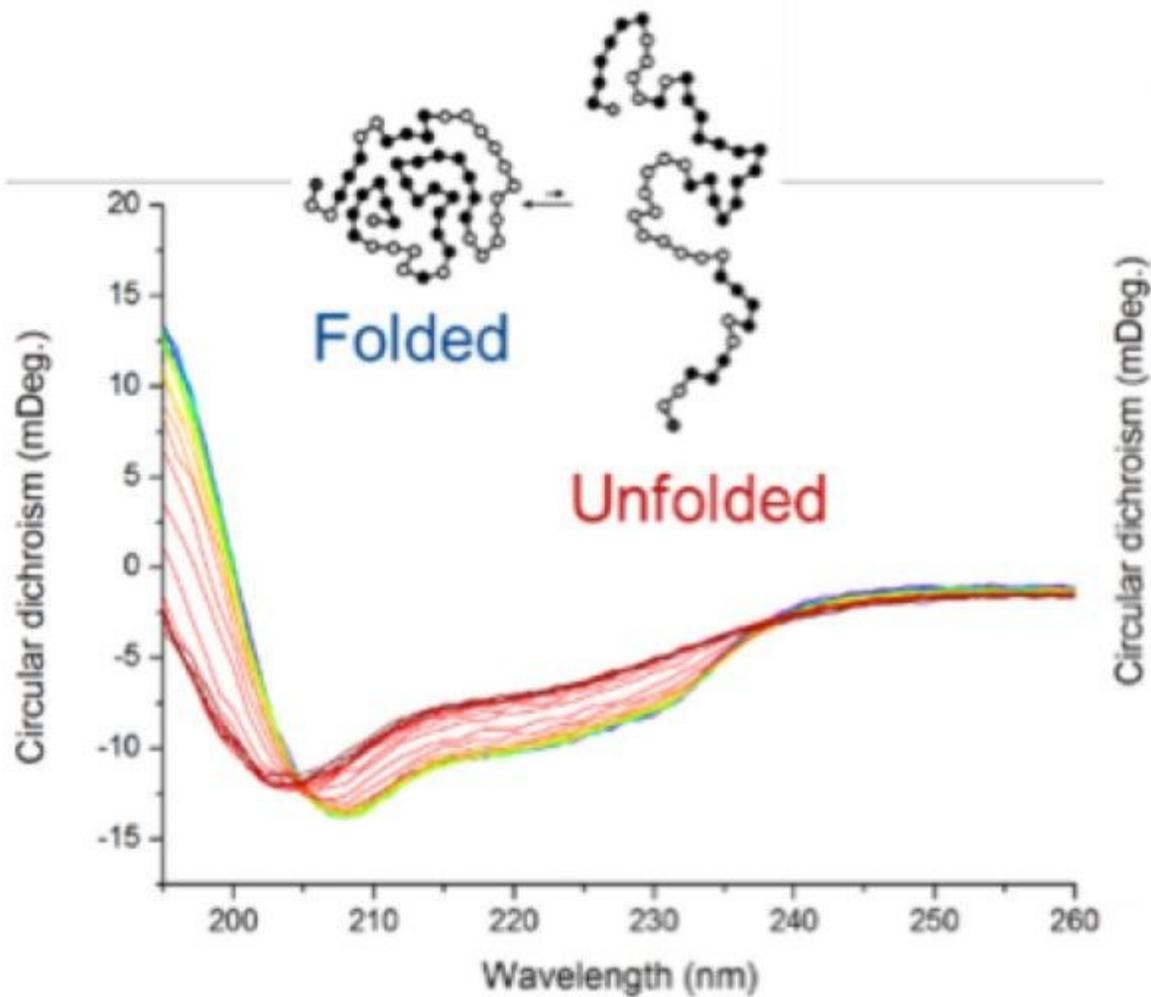


Misurando il segnale CD per una proteina di struttura sconosciuta si può trovare la proporzione della struttura secondaria

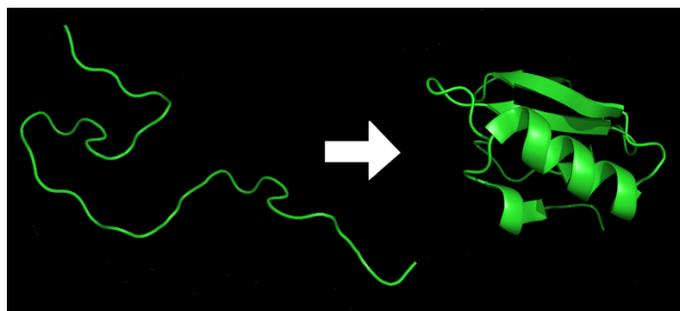
# Applicazioni del CD nella biologia strutturale

- Determinazione della struttura secondaria delle proteine che non possono essere cristallizzate
- Studio dell'effetto del legame ad es. di farmaci sulla struttura secondaria delle proteine
- Processi dinamici, es. folding delle proteine
- Studio dell'effetto dell'intorno sulla struttura delle proteine
- Studio delle variazioni conformazionali indotte da leganti
- Conformazione dei carboidrati
- Studio delle interazioni proteina-proteina e proteina-acido nucleico

# Applicazioni del CD nella biologia strutturale



Folding di proteine





# Radiazione piano polarizzata

- La luce piano polarizzata può considerarsi come derivata da due componenti di uguale intensità polarizzate **circolarmente**.
- Due componenti polarizzate circolarmente sono come due molle destra e sinistra.
- Guardando la radiazione proveniente dalla sorgente, la luce circolarmente polarizzata a destra ruota in senso orario.
- La frequenza della rotazione è la frequenza della luce.