

Hemolitički krug saponina i njihova primjena za kvantitativna određivanja

Petričić, Jovan

Source / Izvornik: **Farmaceutski glasnik, 1957, 13, 455 - 464**

Journal article, Published version

Rad u časopisu, Objavljena verzija rada (izdavačev PDF)

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:163:633607>

Rights / Prava: [In copyright](#)/[Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-08-16**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb](#)



FARMACEUTSKI GLASNIK

Glasilo Farmaceutskog društva Hrvatske

GOD. XIII.

ZAGREB, NOVEMBAR — DECEMBAR

BR. 11.—12.

NAUČNO-PRAKTIČNI DIO

Jovan Petričić:

Hemolitički krug saponina i njegova primjena za kvantitativna određivanja

(Natječajni rad nagrađen I. nagradom na XII. godišnjoj glavnoj skupštini FDH 16. i 17. III. 1957.)

Biološko svojstvo saponinskih heterozida izraženo u hemolitičkom djelovanju, koje je još g. 1887. otkrio R. K o b e r t (1), primjenjuje se i za kvantitativna i za kvantitativna određivanja. Kvantitativne metode, koje se zasnivaju na hemolizi, smatraju se danas jedinim prikladnim metodama za određivanje vrijednosti saponinskih droga. Te se metode sastoje većinom u pronalaženju najvećeg razređenja iscrpine droge, koje može uz stanovite uvjete izvršiti totalnu hemolizu. Samo W. A w e i H. H ä u s s e r m a n n (2) utvrđuju koncentraciju, koja upravo počinje hemolitički djelovati (Index haemolyticus initialis). Spomenuti autori smatraju, da je to podesniji način iskorištavanja ovog fenomena, jer je u nekih droga teško uočiti totalnu hemolizu zbog mutnih iscrpina, te se nakon stajanja neke čestice talože i mogu prikriti još nerazorene eritrocite.

Međutim velik broj radova s ovog područja dokazom je, da još nema potpuno prihvatljivog postupka, koji se temelji na hemolizi. Studirajući objavljenе radove, mogu se povući ovi zaključci: svi su ti postupci dugotrajni, nijedan od njih ne primjenjuje idealan standard, a osim toga dobiveni rezultati ne izražavaju se s granicama griješke, što bi bilo potrebno, jer se radi o vrsti biološkog postupka.

Dugotrajnost postupka očituje se u potrebi pripreme pretpokusa i glavnog pokusa, u velikom broju pipetiranja, čak i pri jednom određivanju, i u stalnoj brizi oko pokusa, jer se epruvete s iscrpinom droge i suspenzijom eritrocita moraju češće mučkati, da bi se eritrociti doveli u dodir sa saponinima iz droge.

Standard, koji se primjenjuje pri tim određivanjima, a to je većinom izoliranisaponin, ne udovoljava osnovnim zahtjevima bioloških određivanja: to nije tvar, koja ima kvalitativno ista svojstva kao tvar, koja se s njom uspoređuje. Primjena izoliranog saponina kao standardne tvari za sve saponinske droge, odnosno njihove preparate, istaknuta je kao nedostatak već više puta. Ipak još nije u tom pogledu nađeno rješenje, koje zadovoljava.

Činjenica da sa jednom saponinskom tvari, pa i na istoj krvi, ne dobivamo uvijek isti rezultat, odnosno rezultate, koji će se razlikovati u manjoj mjeri, zahtijevala bi veći broj pokusa i izražavanje srednje vrijednosti s granicama griješke. Međutim izvođenje većeg broja pokusa za jedan uzorak uvelike bi vremenski produžilo postupak određivanja.

U nastojanju, da se i za potrebe prakse, i za potrebe naučnih istraživanja, pronade prihvatljivija metoda za određivanje droga sa saponinskim heterozidima, studirali smo fenomen hemolize sa stajališta hemolitičkog kruga. L. Kofler i H. König (3) služili su se tim postupkom pri histokemijskom dokazivanju saponina: stavljali su presjeke droge u gelatinu sa suspendiranim eritrocitima i zaključivali na prisutnost, kao i na lokalizaciju saponina prema pojavi hemolize oko presjeka u krvnoj gelatini. R. Fischer (4) razradio je taj postupak dalje i predložio propise za izradu krvne gelatine različitih pH, kao i način izvođenja postupka.

Pojavu da saponini difundiraju u gelatinu i da vrše hemolizu u njoj suspendiranih eritrocita, povezali smo s načinom određivanja antibiotika pomoću kolutića filter-papira namočenih u otopini antibiotika i stavljanih na sloj kulture s bakterijama. Djelotvornost antibiotika zaključuje se po širini dijametra inhibicije. Ovaj su princip određivanja antibiotika predložili J. C. Vincent i H. W. Vincent (5). Došli smo na pomisao, da bi se tako mogla procjenjivati i hemolitička vrijednost saponina, s tim što bi se kolutić filter-papira namočio u otopini saponina odnosno u iscrpini saponinske droge i stavljao na podlogu s eritrocitima.

EKSPERIMENTALNI DIO

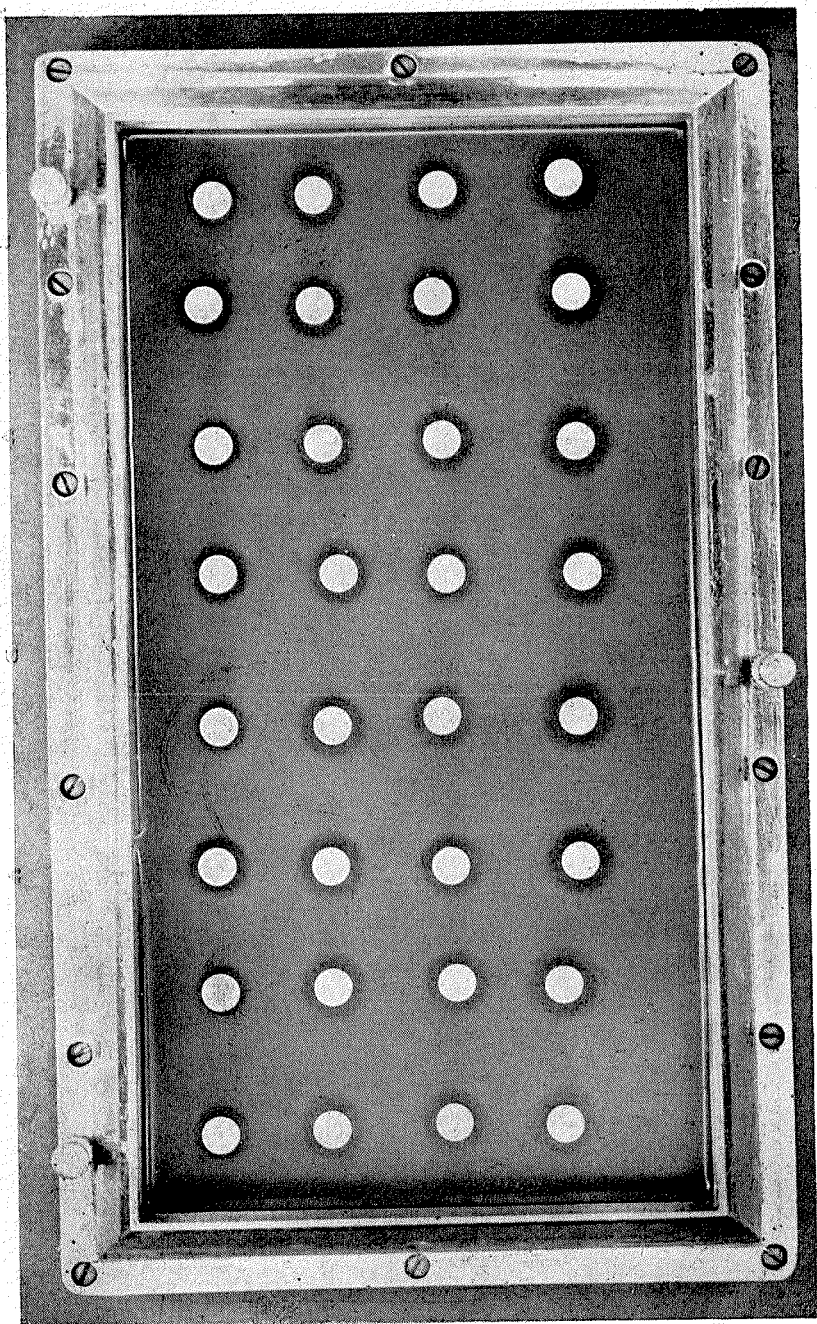
Da bi se spomenuta zamisao mogla ostvariti, bilo je potrebno utvrditi: prikladan način pripreme podloge s eritrocitima, vrstu posude za izvođenje pokusa i rok očitavanja rezultata, i

veličinu dijametra hemolitičkih krugova dviju koncentracija i mogućnost izražavanja vrijednosti na principu »four point assay«.

1. Priprema podloge s eritrocitima, vrsta posude za izvođenje pokusa i rok očitavanja rezultata

Kao otapalo gelatine primijenili smo pufer-izotoničnu otopinu sa pH 7,4. Ovim pH služe se svi autori pri određivanju vrijednosti saponinskih droga. Za pripremu pufer-izotonične otopine koristili smo se propisom W. Butza (6), koji otapa stanovite količine primarnog i sekundarnog natrijeva fosfata. Gelatinu smo otapali na temperaturi od 60° C, a radi konzerviranja dodavali smo, kao i R. Fischer (4), 0,05% nipakombina i 0,02% kalijeva cijanida. Pri iskorištavanju svih gelatina, kojima smo raspolagali, pH ovako pripremljenih otopina neznatno se pomicao k lužnatom (7,42—7,45). Dodatkom izvjesne količine fosforne kiseline otopini uskladi se pH na 7,4. Ovakva se gelatina čuva u posudama, koje po veličini otprilike odgovaraju potrebi jednog pokusa.

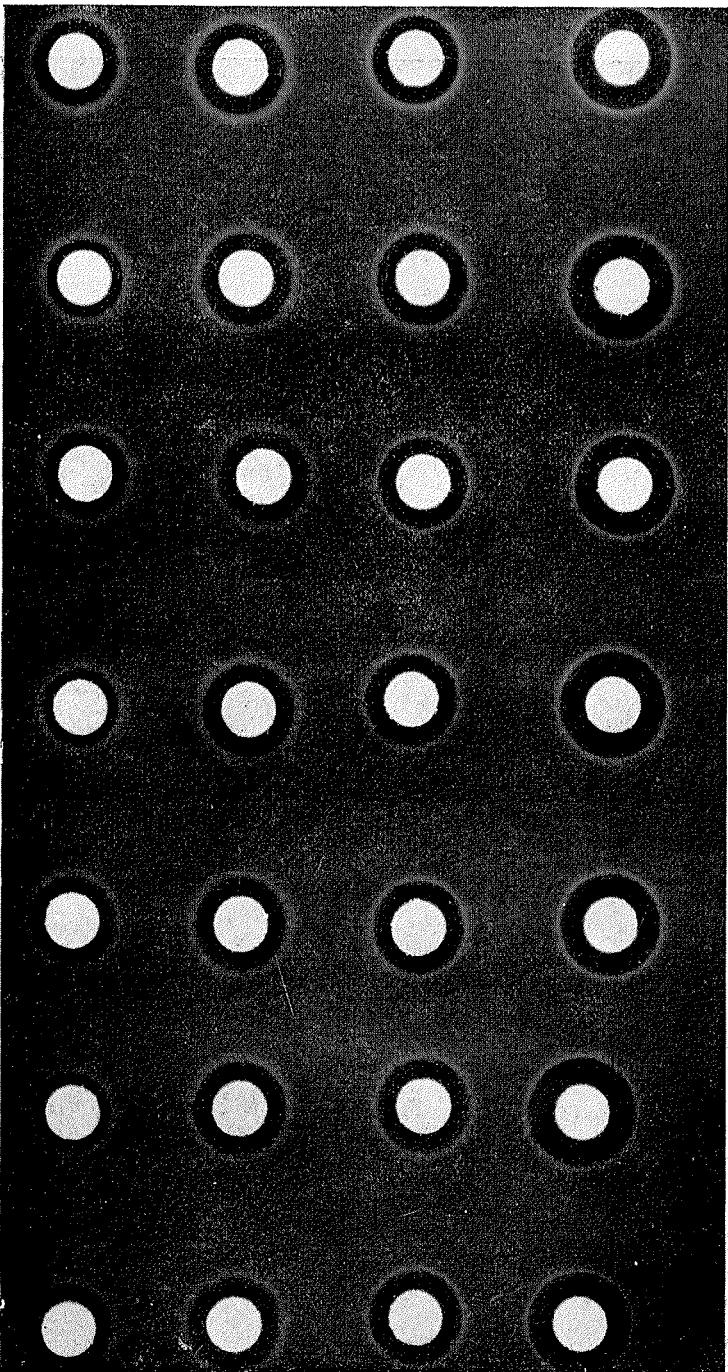
Za pripremu krvne gelatine rastali se spomenuta gelatina na temperaturi do 45°C, a kad se ohladi na 35°C, doda se 2 ml citratne krvi na 100 ml otopine gelatine. Pažljivo se izmiješa izbjegavajući stvaranje pjene i izlije se na vodoravno stakleno dno plitke pravokutne posude prikazane na sl. 1. Na 1 cm²



Okvir za pokuse

The frame for the assays

A B A B A B A



A Saponinum purum album «Merck»
B Primulae radix

C Senegae radix
D Herniariae herba

C D C D C D C C

dolazi 0,15 ml krvne gelatine. Posuda se drži na sobnoj temperaturi (15—22°C), da dođe do geliranja (što se dešava nakon 1—1,5 sata), i tada je podloga pogodna za pokus.

Posuda za podlogu s krvnom gelatinom sastoji se od što ravnijega staklenog dna i metalnog okvira s tri nožice na vijak, pomoću kojih se uz upotrebu libele postiže horizontalnost. Nožice se mogu fiksirati, tako da se jednom ustanovljena horizontalnost na određenom mjestu u laboratoriju, može održati stalnom. Posuda je široka cca 20 cm, a duga cca 40 cm. Nakon stavljanja otopljene gelatine s krvi posuda se pokrije staklenom pločom, koja dobro pristaje uz rub okvira, da bi se spriječilo isparivanje vode (sušenje gelatine) i zagađivanje podloge.

Kad je u posudi došlo do geliranja, na krvnu se gelatinu stavljaju kolutići filter-papira umočenog u otopinu saponina ili iscrpinu saponinske droge. Za to smo se služili kolutićima filter-papira francuskog podrijetla: filter Durieux No. 268.

Ovakvi se kolutići primjenjuju pri određivanju antibiotika. Kolutići se stavljaju na podlogu ovako: sredina kolutića uhvati se pomoću pincete, stavi na površinu otopine saponina, suvišna tekućina odstrani se pritiskom kolutića na posebnom komadu filter-papira iste vrste kao i kolutić, a zatim se stavi na podlogu s eritrocitima. Na udaljenost od cca 3 cm stavlja se drugi kolutić i tako redom, već prema tome, koliko ih pokus zahtijeva.

Nakon nekog vremena javlja se oko filter-papira okrugla prozirna površina hemolize. Granica hemoliziranog i nehemoliziranog dijela gotovo svih ispitivanih droga savršeno je oštra. Vrlo slab prijelaz opaža se u *Primulae radix*, ali još uvijek dovoljno oštar, da je omogućeno točno očitavanje dijametara hemolize. Držimo, da rok očitavanja rezultata mora biti konvencionalan. S obzirom na to usvojili smo vrijeme od 24 sata od momenta postavljanja pokusa. Sl. 2 predstavlja fotogram takva pokusa.

2. Veličina dijametara hemolitičkih krugova dviju koncentracija i mogućnost izražavanja vrijednosti na principu »four point assay«

Za pokuse su primijenjene ove droge: *Herniariae herba*, *Primulae radix*, *Quillariae cortex*, *Saponariae radix*. Od izoliranih saponina ispitivan je *Saponinum purum album* »Merck«. Pri ispitivanju tih droga, odnosno izoliranog saponina, bilo je bitno utvrditi, kolike razlike mogu postojati između pojedinih dijametara hemolitičkih krugova za istu vrstu saponina i istu koncentraciju na istoj podlozi krvne gelatine, t. j. kolike su standardne devijacije i kakve su linije regresije različitih saponina, t. j. da li bi se pri izražavanju vrijednosti mogao primijeniti princip 2 i 2 doze (four point assay) upotrebljavajući *Saponinum purum album* »Merck« kao standard.

Za svaku drogu, odnosno za *Saponinum purum album* »Merck«, priređene su dvije koncentracije s intervalom doze 2. Svaka koncentracija ponovljena je najmanje 4 puta. Veličine dijametara i standardna devijacija, kao i signifikantnost nagiba linija regresije u odnosu na *Saponinum purum album* »Merck« iznesene su u tablici 1.

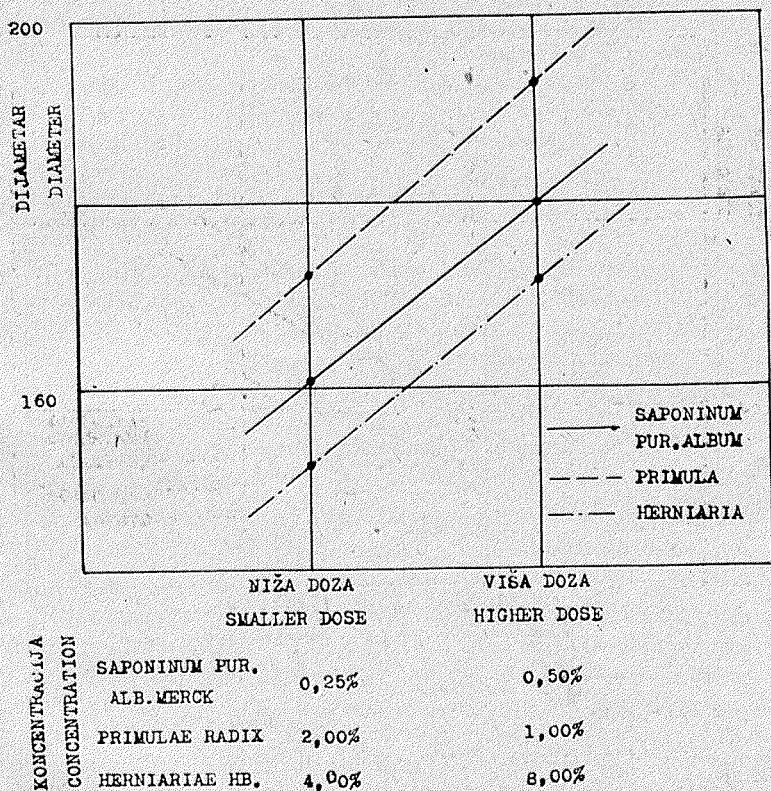
Tablica 1. — Table 1.

Dijametri dviju koncentracija saponinskih droga i signifikantnost razlike nagiba linije regresije prema Saponinum purum album »Merck«.

Diameters of two concentrations of the saponin vegetable drugs and the significance of the difference of the slope of the regression line in relation to the Saponinum purum album »Merck«.

Droga odnosno saponin Vegetable drug and saponin respectively	% iscrpine odnosno otopine Percentage of the extract and of the solution respectively	Dijametri Diameters	Σd^2	t iz podataka t from data
			$\Sigma (n-1)$	P = 0,95 t = 2,18
Saponinum purum album »Merck«	0,25	161 160 161 159	—	—
	0,50	179 180 180 183		
Herniariae herba	4,0	151 153 151 151	1,792	0,373
	8,0	172 172 169 172		
Primulae radix	1,0	173 171 172 171	1,604	0,592
	2,0	194 191 193 193		
Saponinum purum album »Merck« (drugi put) (2nd time)	0,25	157 158 154 158	—	—
	0,50	176 178 176 178		
Quillaiae cortex	2,5	160 159 158 158	1,792	6,513
	5,0	173 173 170 171		
Saponariae radix	3,5	157 157 158 156	1,791	6,298
	7,0	173 172 170 172		
Senegae radix	2,5	152 153 151 150	1,896	5,991
	5,0	163 165 163 163		

Linije regresije u vezi s podacima u tablici 1 prikazane su na sl. 3 i 4. One pokazuju, da postoji očigledan paralelitet između droga *Herniariae herba*, *Primulae radix* i *Saponinum purum album* »Merck«. Uzmemo li navedene vrijednosti u statistički račun, proizlazi, da se nagibi linija regresije ovih dviju droga u odnosu na *Saponinum purum album* »Merck« kao standard signifikantno ne razlikuju. Linije regresije droga *Quillatae cortex*, *Saponariae radix* i *Senegae radix* nisu paralelne s linijom regresije *Saponinum purum album*



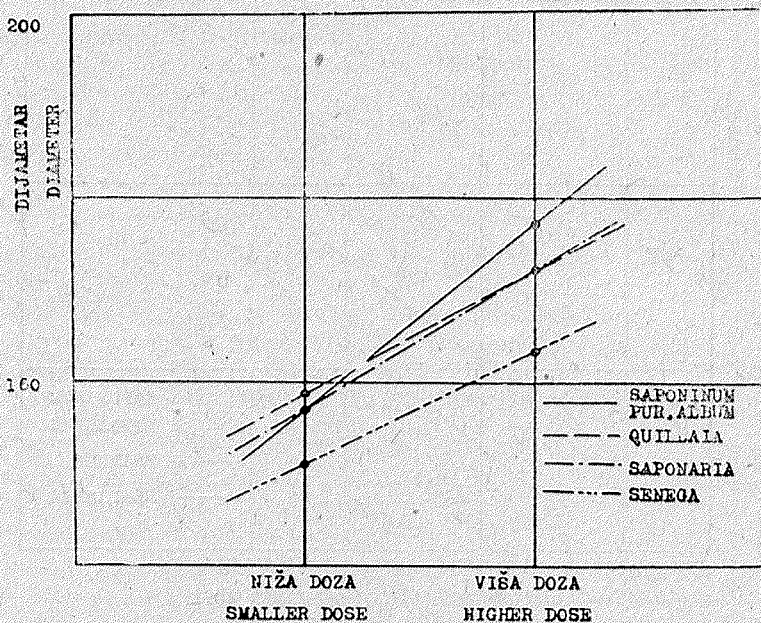
Sl. 3

»Merck«. Iz statističkog računa proizlazi, da su nagibi linija regresije ovih triju droga u odnosu na *Saponinum purum album* »Merck« signifikantno različiti.

Rezultati pokazuju, da bi izražavanje vrijednosti na principu 2 i 2 doze (four point assay) primjenjujući kao standard *Saponinum purum album* »Merck« bilo omogućeno samo s drogama *Herniariae herba* i *Primulae radix*. Koji su razlozi, da linije regresije svih saponinskih droga nisu paralelne, odnosno da im se nagibi signifikantno razlikuju? Takav je rezultat bez sumnje indikacija kvalitativnih razlika u kemizmu pojedinih vrsta saponinskih droga.

I ovi pokusi potvrđuju već više puta naglašen postulat, da se kao standard u jednom biološkom pokusu može upotrebljavati tvar, koja ima kvalitativno isti učinak kao i ispitivana tvar.

Želimo li, da i ovdje biološki pokus zadovolji zahtjeve, koji se na nj postavljaju, treba za svaku drogu ustanoviti standardnu drogu, koja joj odgovara, kao što je to kod digitalisa. Ustupak, koji bi se tu mogao dopustiti, sastojao bi se u tome, da se kao standard za drogu primijeni njezin izolirani saponin



KONCENTRACIJA CONCENTRATION	DOZA	
	NIŽA DOZA SMALLER DOSE	VIŠA DOZA HIGHER DOSE
SAPONINUM PUR. ALB. MERCK	0,25%	0,50%
QUILLAIÆ CORTEX	2,50%	5,00%
SAPONARIÆ RADIX	3,50%	7,00%
SENEGÆ RADIX	2,50%	5,00%

Sl. 4

nin ili smjesa saponina, ako ih droga sadržava veći broj, a u stalnom su odnosu. Međutim za strogo naučne svrhe, kao i općenito za svrhe, gdje je potreban točan rezultat, bilo bi prijeko potrebno ustanoviti standarde, koji odgovaraju.

Za praktične svrhe, danas kad nemamo standarda za svaku drogu, postupak bi se mogao veoma pojednostavniti, a da ipak zadovolji praktične potrebe. Vrijednost droge naime izražavala bi se u odnosu na Saponinum purum album »Merck«, ali tako, da se limitira donja granica vrijednosti, kao što se to uostalom čini kod mnogih droga i u kemijskom određivanju, kao i prilikom

određivanja hemolitičkog indeksa u epruветama. Za *Primulae radix* moglo bi se na pr. zahtijevati da dijametar hemolize 2% dekokta ove droge ne smije biti manji od dijametra hemolize 0,5% otopine standardnog saponina. Pritom bi se na istu podlogu krvne gelatine stavilo nekoliko filter-papira natopljenih standardom i nekoliko natopljenih iscrpinom droge, te bi se usporedile aritmetičke sredine.

DISKUSIJA

U ovom je radu studirana hemoliza saponina u krvnoj gelatini, i to s namjerom, da se ta pojava iskoristi za kvantitativno izražavanje vrijednosti saponinskih droga. Pritom je zamišljeno, da se kao standardom služimo supstancijom *Saponinum purum album* »Merck«, koja je već više puta predlagana kao standard za saponinske droge. Način izražavanja vrijednosti bio bi na principu 2 i 2 doze (four point assay). Međutim bila je opravdana naša sumnja u prikladnost toga standarda: to je i razumljivo, jer se radi o uspoređivanju različitih saponinskih tvari u biološkom postupku.

Da bi se međutim omogućilo točno izražavanje vrijednosti saponinskih droga, potrebno je za svaku vrstu saponinske droge ustanoviti i odnosni standard. Držimo, da bi tome trebalo pristupiti odmah, bilo u okviru nacionalnog, bilo internacionalnog značenja. Pritom bi se pitanje standarda moglo riješiti na dva načina. Jedan od njih bio bi, da se ustanovi kao standard standardna droga, i to za svaku vrstu saponinske droge, a drugi, da kao standard svakoj drogi služi saponin ili smjesa saponina iz nje izoliranih. Svakako bi prvo rješenje više odgovaralo principima bioloških određivanja.

Dok se standardna tvar ne formira, vrijednost bi se mogla izražavati tako, da se limitira donja granica količine saponina u odnosu na standard.

Moglo bi se postaviti pitanje osjetljivosti ovoga postupka s obzirom na to, da je ovdje primijenjena mnogo veća koncentracija dekokta, nego što se to čini pri određivanju hemolitičkog indeksa. Što se toga tiče, istina je, da se ovdje primjenjuje veća koncentracija dekokta, ali u samom postupku hemolize ulazi u reakciju vrlo mala količina saponina. Tako na pr. jedan kolutić filter-papira upije 0,033 g tekućine, koja sadržava 0,000082 g saponina 0,25% otopine standardnog saponina. Ako uzmemo, da u postupku hemolitičkog indeksa (Supl. II, Ph. Helv. V) totalnu hemolizu vrši cca 0,8 ml 0,01% otopine standardnog saponina (= 0,00008 g saponina), vidimo, da se i ovdje radi o vrlo malenoj količini saponina, dakle metoda je vrlo osjetljiva. S druge strane primjenom koncentriranih dekokta postizavamo veću homogenost materijala, jer su potrebne veće odvage droge. Osim toga ne moramo se pri vaganju služiti analitičkom vagom, što je kod hemolitičkog indeksa potrebno.

Pri uspoređivanju uzoraka droge nepoznate vrijednosti sa standardnom drogom iste vrste, odnosno sa smjesom saponina iz te droge, ne vjerujemo, da može doći do signifikantno različitog nagiba linija regresije. Čak uzorci *Primula* različitih vrsta, *Primula veris* i *Primula acaulis*, nisu pokazivali signifikantno različite nagibe linija regresije. Tako su u porednju jednog uzorka *Primula acaulis* (T) s uzorkom *Primula veris* kao standardom (S) dobivene ove karakteristične vrijednosti:

$$S_1 = 168,25 \quad S_2 = 191,25 \quad T_1 = 163,75 \quad T_2 = 193,75$$

$$\frac{\sum d^2}{\sum (n-1)} = 3,0416 \quad t \text{ (iz podataka)} = 1,7201$$

Budući da je 1,7201 manje od 2,18 (t za 12 stupnjeva slobode), nagibi linija regresije signifikantno se ne razlikuju.

Aparatura za ovaj rad veoma je primitivna. Potrebna je dovoljno ravna staklena ploča uokvirena u metalni okvir i druga staklena ploča, koja će služiti za pokrivanje posude s krvnom gelatinom.

PROPIS POSTUPKA

Reagencije:

1. Citratna krv, pripravljena direktnim hvatanjem svježe govede krvi prilikom klanja u 3,65% otopinu natrijeva citrata. Na 100 ml krvi uzima se 10 ml otopine natrijeva citrata.

2. Nipakombin.

3. Kalijev cijanid.

4. Pufer-izotonična otopina sa pH 7,4 pripravljena otapanjem 15,9 g Na_2HPO_4 i 4,37 g $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$.

5. Standardna droga ili standardni saponin.

Podloga krvne gelatine:

5 g *Gelatinae albae* (Ph. Jug. II) otopi se u 100 ml pufer-izotonične otopine pH 7,4 na temperaturi od 60°C. Vrućoj otopini doda se 0,05% nipakombina i 0,02% kalijeva cijanida. Eventualno izmijenjeni pH korigira se na 7,4. Otopina gelatine izlije se u suhe boce, kojih će se sadržaj utrošiti u toku jednog pokusa. Za pripremu krvne gelatine otopi se određena količina gelatine na 45°C, a kad se ohladi na 35°C, doda joj se 2% citratne krvi. Rastaljena krvna gelatina izlije se na potpuno suho stakleno dno posude za izvođenje pokusa, tako da na 1 cm² dođe 0,15 ml otopine. Nakon 1—1,5 sata na sobnoj temperaturi podloga je prikladna za pokus.

Priprema dekokta droge:

Od saponinskih droga priprema se dekokt s pufer-izotoničnom otopinom. Način pripreme dekokta vrši se po propisu Ph. Jug. II. Izgubljena voda u toku zagrijavanja nadoknadi se nakon hlađenja dekokta. Dekokti se pripreme u ovim koncentracijama: *Primulae radix* 2,0%, *Senegae radix* 5,0%, *Quillaiiae cortex* 5,0%, *Saponariae radix* 7,0% i *Herniariae herba* 8,0%. Ova koncentracija služi kao viša doza u pokusu. Razređenjem s jednakom količinom pufer-izotonične otopine dobije se niža doza.

Izvođenje postupka.

Na podlogu s krvnom gelatinom stavljaju se kolutići filter-papira (vrste Durieux No. 268) namočeni u dvije doze standarda i dvije doze ispitivanog uzorka. Prije stavljanja na podlogu krvne gelatine pritiskom na filter-papir iste vrste kolutić se oslobodi suvišne tekućine. Doze treba uskladiti, ako je potrebno tako, da veličine dijametara standarda i ispitivanog uzorka budu što bliže. U pokusu se izmjenjuju 2 i 2 doze standarda i ispitivanog uzorka. Posuda poklopljena staklenom pločom ostavi se na sobnoj temperaturi 24 sata, i tada se očitavaju veličine dijametara. Računanje se vrši po shemi B. P. 1953 (7).

Dok se ne formiraju nacionalni ili internacionalni standardi za saponinske droge, izražavanje vrijednosti može se vršiti tako, da se limitira donja granica vrijednosti određene droge u odnosu na stanoviti postotak otopine Saponinum purum album »Merck«.

IZVOD

Studirali smo učinak saponinskih droga i Saponinum purum album »Merck« u podlozi s krvnom gelatinom, u namjeri da ovu pojavu iskoristimo za kvantitativno određivanje vrijednosti saponinskih droga. Postupak je izvođen s kolutićima filter-papira na isti način, kako se to vrši pri određivanju antibiotika uz primjenu principa »four point assay«.

Pokazalo se, da linije regresije svih vrsta saponinskih droga nisu međusobno paralelne. Isto tako nisu sve paralelne u odnosu na Saponinum purum album »Merck«. Paralelitet s ovom supstancijom pokazuju samo Herniariae herba i Primulae radix, dok Quillaiae cortex, Senegae radix i Saponariae radix nisu paralelne u odnosu na spomenutu supstanciju. To je bez sumnje indikacija različitog kemizma pojedinih saponina.

Da bi se ovaj inače prikladan postupak mogao ostvariti, treba formirati za svaku vrstu droge standardnu drogu ili barem ustanoviti kao standardnu tvar njezin saponin ili smjesu saponina izoliranih iz droge, ako ih neka droga sadržava veći broj. Tako će se ujedno riješiti na najprikladniji način pitanje standarda saponinskih droga i otklonit će se sve dosadašnje improvizacije u tom pogledu.

Do formiranja standarda može se ovaj postupak iskoristiti tako, da se za svaku drogu limitira donja granica vrijednosti, i to u odnosu na zajednički standardni saponin.

Haemolytic ring of the saponins and its application in the quantitative assays

By J. Petričić

Summary

For the purpose of estimating the value of the saponin vegetable drugs, the effect of these vegetable drugs as well as of the Saponinum purum album »Merck« by using blood gelatin has been studied. The procedure described is carried out by using discs of filter-paper, in the same way as in the determination of antibiotics.

It was shown that the regression lines of all saponin vegetable drugs do not run parallel. In the same manner they are not parallel in relation to the Saponinum purum album »Merck«. The parallelism with this substance show only Herniariae herba and Primulae radix.

We are of opinion that for every vegetable drug a vegetable drug or at least the respective saponin should be given as standard. If the vegetable drug contains a mixture of saponins, as standard should serve a mixture of these saponins.

The problem of the standard of the saponin vegetable drugs would so be solved at a most suitable way, and there would be no use for further improvisations.

As long as the standards are not given, the described procedure could be applied for the determination of limiting values with respect to the standard saponin for every individual vegetable drug. For instance: the diameter of the 2 percent decoct of Primulae radix must be equal to that of the 0,5 percent solution of the saponin-standard.

Literatura — References

- (1) Kobert, R., Ber. d. Dtsch. Pharm. Ges. **22**, 205 (1912).
- (2) Awe, W., H. Häussermann, Arch. Pharmaz. **283**, 7 (1950); **284**, 106 (1951).
- (3) Kofler, L., H. König, l. c. L. Kofler: Die Saponine, Wien 1927, 86.
- (4) Fischer, R.: Praktikum d. Pharmakognosie, Wien 1952, 362.
- (5) Vincent, J. C., H. W. Vincent, Proc. Soc. Exptl. Biol. Med. **55**, 162-4, (1944),
l. c. Denisse Benoist: Contribution à l'étude des méthodes quantitatives en microbiologie.
- (6) Butz, W., Pharm. Acta Helv. **20**, 296 (1945).
- (7) British Pharmacopoea 1953, 778.

Dragutin Barković:

Bilješka o identifikaciji eupaverina

(Primljeno 22. XI. 1957.)

U prijašnjoj jednoj radnji bila je predložena reakcija boje na papaverin (I) s parama broma na papiru za filtriranje (1). Jednaku reakciju kao i papaverin dao je samo još eupaverin (II), dok se papaverinu također slično građeni perparin (III), kao i niz različitih drugih alkaloida, vlada uz uvjete ove reakcije posve različno (1).

Nedavno je pod imenom »Eupaverin« firma E. Merck stavila u promet preparat jednakog djelovanja, ali on se u sastavu razlikuje od dosadašnjeg eupaverina (2). Radi se o 1-benzil-3-metil-6, 7-dimetoksiizokinolinu (IV) u obliku hidroklorida.

Stoga je bilo zanimljivo ovaj novi preparat ispitati predloženom reakcijom na papaverin odnosno na prijašnji eupaverin.

