

Prilog približnom određivanju dietilstilbestrola u tabletama

Vukčević-Kovačević, Vera; Fintić, V.

Source / Izvornik: **Farmaceutski glasnik, 1949, 5, 97 - 105**

Journal article, Published version

Rad u časopisu, Objavljena verzija rada (izdavačev PDF)

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:163:660824>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-05-18**



Repository / Repozitorij:

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



NAUKA I PRAKSA

V. Vukčević-Kovačević i V. Fintić:

Prilog približnom određivanju dietilstilbestrola u tabletama

(Iz Zavoda za farmaceutsku kemiju Farmaceutskog fakulteta Sveučilišta u Zagrebu)

Za dokazivanje i određivanje dietilstilbestrola*) predložene su različne reakcije boja, od kojih daju mnoge i dietilstilbestrolu slično građeni dienestrol**) i heksestrol***).

S dušičnom kiselinom daje dietilstilbestrol prolazno ružičastu, zatim žutu boju (1) odn. oboji se i otapa narančasto crvenom bojom (2). Na temelju reakcije s dušičnom kiselinom izradio je E. B. Dechene (3) kolorimetrijsku metodu za određivanje dietilstilbestrola u tabletama, u supozitorijima s glicerinom i u otopinama u ulju — ukoliko je u tim pripravcima dietilstilbestrol jedini fenilni derivat. F. H. Malpress (4) predlaže za određivanje dietilstilbestrola kolorimetrijsku metodu na temelju reakcije s dušičnom uz sumpornu kiselinu. Istu metodu, uz male izmjene, predlaže Malpress i za određivanje heksestrola i dienestrola.

S dušičnatom kiselinom (otopina natrijeva nitrita i konc. sumporna kiselina) oboji se alkoholna otopina dietilstilbestrola ružičasto, zatim modrosivo, zeleno i napokon tamno žuto (1). Na temelju ove reakcije, koja se osniva na stvaranju o-nitrozofenola i njihovom prevodenju u obojene kinoidne spojeve, predlaže S. Gottlieb (5) metodu za identificiranje i određivanje dietilstilbestrola, dienestrola i heksestrola u farmaceutskim preparatima. Kao reagens uzima otopinu natrijeva nitrita uz konc. sumpornu kiselinu i zatim amonijak u suvišku. Određivanja vrši spektrofotometrom Beckmanna.

S konc. sumpornom kiselinom oboji se dietilstilbestrol žuto, zatim narančasto (2). Ova reakcija uvrštena je u U. S. P. XIII. (6) kao jedna od reakcija identiteta: 10 mg dietilstilbestrola otopi se u 1 ccm sumporne kiseline — nastane narančasta boja, koja se gubi kad se otopina razrijedi s cca 10-strukim volumenom vode. — U B. P. VII (7) uvrštena je reakcija sa sumpornom kiselinom za razlikovanje heksestrola od dietilstilbestrola: 10 mg otopi se u 5 ccm sumporne kiseline — otopina je bezbojna (razlika od dietilstilbestrola, koja daje otopinu zlatnožute boje). — Uz izvjesne uvjete dobiva se djelovanjem konc. sumporne kiseline na dietilstilbestrol otopina ružičaste boje, zatim ružičast talog, koji se u malo otopine natrijeva hidroksida otapa grimizno crvenom bojom, a u suvišku bezbojno (2).

Otopina dietilstilbestrola u etanolu oboji se dodatkom otopine natrijeva molibdo-fosfovolframata uz izvjesne uvjete modro (8). Reakcija je uvjetovana redukcijom labilnog kompleksa fosfomolibdo-fosfovolframo-kiselina pomoću fenolnih hidroksilnih sku-

*) 4,4'-dioksi- α,β -dietilstilben; $T=168^{\circ}-171^{\circ}$ (B. P. VII) odn. $169^{\circ}-172^{\circ}$ (U. S. P. XIII).

**) 4,4'-dioksi- γ,δ -difetil- β,δ -heksadien; $T=232^{\circ}-234^{\circ}$ (B. P. VII).

***) 4,4'-dioksi- γ,δ -difetilheksan; $T=185^{\circ}-188^{\circ}$ (B. P. VII).

pina, pri čem se dobiva modra otopina volfram-oksida. Na temelju ove reakcije izradili su M. Tubis i A. Bloom ⁽⁹⁾ metodu za kolorimetrijsko određivanje dietilstilbestrola u tabletama. Od tableta smrvljenih u prah odvagane se količine, koja odgovara 5 mg dietilstilbestrola; dio otopine, koji sadržava cca 0,5 mg dietilstilbestrola, uspoređuje se sa standardom, koji odgovara točno 0,5 mg dietilstilbestrola. — Neki predlažu, da se uz standard za uspoređivanje uzme i slijepa proba, koja se uz jednake uvjete pripremi sa samim etanolom ⁽¹⁰⁾.

Metoda M. Tubisa i A. Blooma je uz neke izmjene uvrštena u U. S. P. XIII. ⁽⁶⁾ u svrhu kontrole sadržaja dietilstilbestrola u kapsulama, injekcijama, tabletama^{*)}, dok je u B. P. VII. ⁽⁷⁾ uvrštena za kontrolu sadržaja dietilstilbestrola, heksestrola, dienestrola u tabletama.

Razrijeđena otopina dietilstilbestrola u kloroformu oboji se dodatkom 50% otopine stibijeva pentaklorida u kloroformu karmin-erveno ⁽¹¹⁾. Ako je otopina dovoljno koncentrirana dobiva se talog crvene boje, kojega konstitucija još nije razjašnjena. U nazočnosti etanola boja se mijenja u ljubičasto modru. Kako prema L. Ekkertu ⁽¹⁴⁾ daju fenoli s otopinom stibijeva pentaklorida različite boje, vjerojatno je da je ova reakcija uvjetovana fenolnim hidroksilnim skupinama dietilstilbestrola.

Dingemanse ⁽¹¹⁾ je reakciju sa stibijevim pentakloridom iskoristio za kolorimetrijsko određivanje dietilstilbestrola. K. Ritsert ⁽¹²⁾ je na osnovu te reakcije izradio metodu za određivanje dietilstilbestrola u farmaceutskim pripravcima; no umjesto 50% otopine stibijeva pentaklorida u kloroformu predlaže 1% otopinu navodeći, da se 50% otopina kvari, a s 1% otopinom da se dobivaju dovoljno pouzdani rezultati. Prema J. Cheymolu i A. Carayon-Gentilu ⁽¹³⁾ metoda Dingemanse-a ne zadovoljava, jer se nastala boja odviše naglo gubi.

Dietilstilbestrol daje s diazobenzolsulfonskom kiselinom žuto-crvenu boju ⁽¹⁵⁾, koja se također mogla iskoristiti za kolometrijsko određivanje dietilstilbestrola u tabletama, otopinama u ulju i dr. kao i za određivanje heksestrola ⁽¹⁶⁾. Ukoliko se za svako određivanje pripremi svjež standard, ova je metoda pouzdana ⁽¹³⁾.

T. Tusting Cocking ⁽¹⁷⁾ predlaže reakciju, koju daje dietilstilbestrol sa suviškom otopine broma u konc. octenoj kiselini (98%) grijanjem 1 minutu na 100°. Pri tom se dobiva otopina narančaste boje. Ako se otopini zatim doda etanola i smjesa razrijedi vodom, nastaje ljubičasta koloidna disperzija. Boja se daje ekstrahirati organskim otapalima (na pr. s kloroformom), a otopine su narančasto crvene boje. Autor navodi, da se na temelju ove reakcije može kolorimetrijski odrediti još 1 γ dietilstilbestrola u 0,1 ccm otopine. Nadalje navodi da se uz manje broma (1 mol dietilstilbestrola i 0,2—4 mola broma) dobiva otopina zelene boje. Jednake reakcije boja daje i dienestrol, dok ih dietilstilbestrol-diacetat odn. -dipropionat, kao ni heksestrol ne daju. Iz toga izlazi, da za pozitivan ishod reakcije ne smije biti etilenski vez zasićen, niti fenolne skupine blokirane. — Za razlikovanje pak dietilstilbestrola od dienestrola može poslužiti reakcija, koju daje dienestrol s konc. klorovodičnom kiselinom i vanilinom ⁽¹⁸⁾: 10 mg dienestrola otopi se u 0,5 ccm toplog etanola, ohladi i otopini doda 1 ccm konc. klorovodične kiseline i cca 50 mg vanilina. Pri tom se smjesa odmah oboji modro; razrjeđivanjem smjese vodom boja ostaje stalna, a izgubi se dodatkom alkalija^{**)}.

Reakcija s bromom bila je uvrštena u B. P. VI—Add. VI. ⁽¹⁹⁾ kao identitetna reakcija na dietilstilbestrol, no modificirana tako, da se najprije dodatkom manje količine broma dobije zelena, a daljim dodatkom broma ervenkasto ljubičasta boja: U suhoj epruveti otopi se cca 1 mg u 5 ccm konc. octene kiseline; otopini se doda 0,4 ccm

^{*)} U. S. P. XIII. propisuje kapsule i tablete sa 0,1 mg, 0,5 mg ili 1,0 mg, a injekcije sa 0,5 mg ili 1,0 mg dietilstilbestrola.

^{**)} Ovu reakciju ne daju ni dietilstilbestrol ni heksestrol.

0,1% v/v otopine broma u konc. octenoj kiselini i smjesa grije u vodenoj kupelji cca 2 minute. Pri tom nastane zelena boja. Ovoj otopini doda se daljnji 1 ccm 1% v/v otopine broma u konc. octenoj kiselini i ponovo grije 2 minute; 0,5 ccm ove otopine stavi se u suhu epruvetu, doda 0,5 ccm bezvodnog etanola, pomiješa i doda 10 ccm vode, pri čemu nastane crvenkasto ljubičasta boja. Ako se smjesa čvrsto mučka s 5 ccm kloroforma i ostavi da se slojevi tekućina odijele, sloj kloroforma je tamno narančasto crvene boje, a vodeni sloj je uglavnom bezbojan.

Reakcija s bromom uvrštena je i u B. P. VII. (7) kao identitetna reakcija na dietilstilbestrol i na dienestrol. No propis iz B. P. VI.—Add. VI. je u B. P. VII. izmijenjen utoliko, što se propisuju dvije modifikacije te reakcije. a) cca 1 mg otopi se u 5 ccm konc. octene kiseline, otopini doda 0,2 ccm 1% v/v otopine broma u konc. octenoj kiselini i ostavi stajati 20 sekundi. Nakon toga se doda kap tekućeg fenola i grije 2 minute u vodenoj kupelji: otopina se oboji zeleno. Kad se smjesi zatim doda nekoliko mg sahara i ponovo grije u vodenoj kupelji, prelazi zelena boja u tamno modru, zatim u sivu, žutu i napokon u crvenkasto smeđu. b) cca 1 mg otopi se u 5 ccm konc. octene kiseline, otopini doda 1 ccm 1% v/v otopine broma u konc. octenoj kiselini i smjesa grije 2 minute u vodenoj kupelji. Nakon toga se 0,5 ccm otopine stavi u suhu epruvetu, doda 0,5 ccm bezvodnog etanola, promiješa i razrijedi s 10 ccm vode: otopina se oboji crvenkasto ljubičasto. Kad se zatim doda 5 ccm kloroforma, čvrsto promućka i ostavi da se slojevi odijele, sloj kloroforma je obojen tamno narančasto crveno, a vodeni sloj je gotovo bezbojan.

Reakcija s bromom daje se izvesti s kapi otopine dietilstilbestrola u konc. octenoj kiselini i na papiru za filtriranje upotreblivši kao reagens brom u obliku para (2): Ako se malo dietilstilbestrola otopi u 4–5 kapi konc. octene kiseline, pa kap otopine stavi na papir za filtriranje i izloži parama broma, mrlja je, pošto se suvišak broma ispari, svijetlo ružičaste boje ili bezbojna s ljubičastim rubom.

Od naprijed navedenih reakcija ispitivali smo izvedbu reakcije dietilstilbestrola s otopinom broma u konc. octenoj kiselini (17) i izvedbu reakcije otopine dietilstilbestrola na papiru za filtriranje s bromom u obliku para (2).

Pri ovim ispitivanjima ustanovili smo, da se reakcija dietilstilbestrola s manje broma i reakcija s više broma, kako ih predlaže T. Tusting Cocking (17) mogu izvesti na jednostavniji način: nekoliko mg dietilstilbestrola u epruveti prelije se s cca 1 ccm konc. octene kiseline i blago grije, dok se ne otopi. Toploj otopini doda se malo para broma tako, da se na otvoru epruvete kratko vrijeme drži grlo nagnute boca sa zasićenom bromnom vodom. Pare broma pomiješaju se s otopinom laganim mućkanjem. Treba dodati samo toliko broma, da otopina bude tek slabo žute boje. Kad se smjesa zatim blago grije, uskoro se oboji zeleno. Nakon toga se otopini dodaju pare broma u suvišku, pri čemu zelena boja prijede u žutosmeđu. Ako se zatim pomiješa s cca 5 ccm vode, otopina se zamuti i oboji crveno ljubičasto. Promućka li se ta smjesa s malo kloroforma i ostavi da se slojevi tekućina odijele, vodeni sloj je bezbojan, dok se sloj kloroforma oboji tamno crveno.

Nadalje smo ustanovili, da se reakcija na dietilstilbestrol s bromom, pri kojoj nastaje zelena boja, daje izvesti i na papiru za filtriranje, ako je otopina dovoljno koncentrirana, a mrlja izložena parama broma samo kratko vrijeme: Ako se kap cca 0,3–1% otopine dietilstilbestrola u konc. octenoj kiselini (98%) na papiru za filtriranje izloži parama broma cca 5 sekundi, pa zatim izloži suhom toplom zraku, mrlja je

T A B L I C A 1

Koncentracija otopine stilbestrola u konc. očetenoj kiselini	Reakcija kapi (0.01 ccm) otopine stilbestrola na papiru za filtriranje s parama broma za vrijeme od $\frac{1}{2}$ minute.	Rezultat reakcije nakon 1 minute pošto je papir za filtriranje uklonjen iz para broma.
1:100*) do 1:500 100γ—20γ u 0.01 ccm	Uskoro nastaje s izvanje strane mrlje rub žute, smeđaste i zatim smeđe crvene do crven- kasto smeđe boje, mrlja unutar ruba oboji se postepeno zelen- kasto žuto, zatim žuto.	Rub ljubičasto crven do ljubičasto ružičast, mrlja unutar ruba bezbojna.
1:600 do 1:1.500 16.6γ—6.6γ u 0.01 ccm	Uskoro nastaje rub žute, smeđaste i zatim crvenkasto smeđe boje, s izvanje strane ob- rubljen zonom žute boje, mrlja unutar ruba je žute boje.	Rub ljubičasto ružičaste boje, s izvanje stra- ne obrubljen zonom žute boje, mrlja unutar ruba bezbojna.
1:1.600 do 1:4.000 6.2γ—2.5γ u 0.01 ccm	Rub žute boje, mrlja unutar ruba je crvenkasto smeđe boje.	Rub blijedo žute boje, mrlja unutar ruba blijedo ružičasto ljubi- časte boje.

*) Iz tople otopine, pošto se ohladi, stajanjem kristalizira dietiilstilbestrol.

unutar ljubičastog ruba najprije bezbojna, a daljnjim se grijanjem postepeno oboji svijetlo zeleno.

Da bismo ispitali osjetljivost reakcije na dietilstilbestrol s parama broma na papiru za filtriranje, stavili smo kap otopine (0,01 ccm) dietilstilbestrola u konc. octenoj kiselini (98%) pomoću pipete na filter-papir (Schleicher & Schüll No. 598) i izložili je parama broma tako, da smo papir za filtriranje stavili na grlo boce sa zasićenom bromnom vodom i prekrili ga izbočenom stranom stakalca od sata. — Pri ovim se ispitivanjima pokazalo, da bezbojna mrlja s jasno ocrtanim ljubičastim rubom nastaje na papiru za filtriranje samo onda, ako je otopina dietilstilbestrola dovoljno koncentrirana. Razrijeđenije otopine daju nakon djelovanja para broma rub sve svjetlije boje, sve širi i nejasnije ocrtan, a s izvanje strane obrubljen svijetlo žutom zonom. Kod većeg se razrjeđenja 1—2 minute nakon djelovanja para broma oboji mrlja unutar ruba postepeno ružičasto ljubičasto. Kod jako razrijeđenih otopina zapazila se samo mrlja ružičasto ljubičaste boje obrubljena svijetlo žutom zonom. (Svijetlo žuta zona je jasnije vidljiva, promatra li se u prolaznom svijetlu.)

Pokazalo se da su navedene razlike pri reakciji različitih koncentracija otopina dietilstilbestrola najočitije, ako se kap otopine na papiru za filtriranje izloži parama broma $\frac{1}{2}$ minute, a reakcija promatra nakon 1 minute pošto se papir ukloni iz para broma.

Granična količina: 2,5 γ dietilstilbestrola u 0,01 ccm otopine u 98% octenoj kiselini.

Granična koncentracija: 1:4.000.

Rezultati ovih ispitivanja navedeni su u tablici 1.

Pri daljnjim ispitivanjima uspjeli smo modifikacijom učiniti reakciju znatno osjetljivijom. Ako se mrlja nakon djelovanja para broma izloži suhom toplom zraku i zatim na nju kapne kap vode, pa ponovo stavi u pare broma, oboji se crveno ljubičasto do narančasto crveno. Boja i intenzitet boje zavise od koncentracije otopine dietilstilbestrola. Kod ove izvedbe potrebno je grijati toplim suhim zrakom, jer se pokazalo da vlaga smeta reakciji.

Grijanje mrlje suhim toplim zrakom izvodili smo stavljanjem papira za filtriranje na glineni trokut, kojemu su žičani kraci savinuti tako, da se stavljen na azbestnu mrežicu nalazi cca 2 cm iznad nje. Grije se plamenom plamenika kroz azbestnu mrežicu, pri čemu temperatura zraka u visini papira za filtriranje mora biti cca 65°—70°.

Da bismo ispitali osjetljivost reakcije izvedene na ovaj način stavili smo kap (0,01 ccm) otopine dietilstilbestrola u konc. octenoj kiselini (98%) pomoću pipete na papir za filtriranje (Schleicher & Schüll No. 598) i izložili je $\frac{1}{2}$ minute parama broma. Nakon daljnje 1 minute stavi se papir za filtriranje na glineni trokut i grije suhim zrakom. Pokazalo se da je najpovoljnije vrijeme grijanja 10 minuta. Nakon toga kapne se na sredinu mrlje kap vode, ostavi da se voda potpuno upije u papir i mrlja ponovo izloži djelovanju para broma $\frac{1}{2}$ minute. Reakcija se promatra nakon daljnje 1 minute, t. j. kad se suvišak broma ispari.

Granična količina: 0,2 γ dietilstilbestrola u 0,01 ccm otopine u 98% octenoj kiselini.

Granična koncentracija: 1:50.000.



T A B L I C A 2

Količina stilbestrola u tableti	3 tablete razmrve se u prah i blago zagriju s 1 cem konc. octene kiseline.		Smjesi se dodaju daljnja 2 cem konc. octene kiseline i smjesa ponovo blago zagrije.
	Kap bistre otopine iznad taloga (0,01 cem) izloži se na papiru za filtriranje 1/2 minute parama broma. Reakcija se promatra 1 minutu pošto je papir za filtriranje uklonjen iz para brom.		
1 mg	Oširok rub ljubičasto ružičaste boje, mrlja unutar ruba bezbojna.	Oširok rub ljubičasto ružičaste boje, s izvanje strane obrubljen zonom žute boje, mrlja unutar ruba bezbojna.	
0,5 mg	Oširok rub ljubičasto ružičaste boje, s izvanje strane ne obrubljen zonom žute boje, mrlja unutar ruba bezbojna.	Rub slabo žućkaste boje, mrlja unutar ruba blijedo ljubičasta.	
0,1 mg	Rub slabo žućkaste boje, mrlja unutar ruba blijedo ljubičasta.	Mrlja bezbojna.	
	Nakon 10 minuta sušenja toplim zrakom kapne se na mrlju kap vode i ponovo izloži 1/2 minute parama brom, pa se mrlja oboji:		
	narančasto crveno, prema sredini crveno ljubičasto.		blijedo narančasto crveno do blijedo crveno.

Reakciju kapi s otopinom dietilstilbestrola u konc. octenoj kiselini na papiru za filtriranje s parama broma pokušali smo nadalje primijeniti za približno prosuđivanje sadržaja dietilstilbestrola u tabletama.

Za ekstrakciju dietilstilbestrola iz tableta upotrebili smo toplu konc. octenu kiselinu. Za približno pak prosuđivanje količine dietilstilbestrola u tabletama iskoristili smo razlike pri reakciji otopina dietilstilbestrola različitih koncentracija na papiru za filtriranje s parama broma, te smo izradili ovaj postupak:

U suhoj uskoj epruveti od cca 10 ccm razmrve se staklenim štapićem 3 tablete, doda 1 ccm konc. octene kiseline i smjesa kratko vrijeme blago grije. Zatim se ostavi stajati da se ohladi i da se neotopljeni dio tableta slegne. S kapi bistre otopine iznad taloga izvede se reakcija s parama broma na papiru za filtriranje. Smjesi se zatim dodaju daljnja 2 ccm konc. octene kiseline, promiješa se i ponovo kratko vrijeme blago grije, pa ostavi da se ohladi. S kapi tako razrijeđene otopine ponovo se izvede reakcija s parama broma na papiru za filtriranje.

Sadržavaju li tablete 1 mg, 0,5 mg ili 0,1 mg dietilstilbestrola, razlikuju se promjene, koje uz naprijed navedene uvjete nastaju pri reakciji s parama broma na papiru za filtriranje, međusobno toliko, da je moguće približno odrediti sadržaj dietilstilbestrola u ispitivanim tabletama prema tablici 2.

Zaključak

1. Pri ispitivanju T. Tusting-Cocking-ove reakcije na dietilstilbestrol pokazalo se da je ova reakcija jednostavnija u izvedbi, ako se umjesto otopine broma u konc. octenoj kiselini kao reagens upotrebi brom u obliku para.

2. Pri ispitivanju reakcije na dietilstilbestrol s parama broma na papiru za filtriranje (vidi »Farm. gl.« 4, 126, 1948) ustanovljeno je da promjene, koje pri ovoj reakciji nastaju, zavise od koncentracije otopine dietilstilbestrola. Ako se kap koncentrirane otopine dietilstilbestrola u konc. octenoj kiselini (98%) izloži na papiru za filtriranje $\frac{1}{2}$ minute parama broma i reakcija promatra nakon daljnje 1 minute, dobiva se mrlja bez boje obrubljena ljubičasto crvenim rubom. Razrjeđenije otopine daju rub sve svjetlije boje i sve širi, obrubljen svijetlo žutom zonom. Jako razrijeđene otopine ne daju ruba, nego samo mrlju svijetlo ružičasto ljubičaste boje (tablica 1 u tekstu). Osjetljivost reakcije — granična količina: 2,5 γ dietilstilbestrola u 0,01 ccm otopine u 98% octenoj kiselini; granična koncentracija: 1 : 4.000.

3. Reakciju na dietilstilbestrol s parama broma na papiru za filtriranje uspjeli smo učiniti osjetljivijom tako, da se mrlja nakon djelovanja para broma izloži 10 minuta suhom toplom zraku (cca 70°). Kapne li se nakon toga na mrlju kap vode i ponovo stavi $\frac{1}{2}$ minute u pare broma, oboji se mrlja ljubičasto crveno odnosno narančasto crveno. Osjetljivost reakcije — granična količina: 0,2 γ dietilstilbestrola u 0,01 ccm otopine u 98% octenoj kiselini; granična koncentracija: 1 : 50.000.

4. Na temelju razlika pri reakciji s parama broma na papiru za filtriranje otopina dietilstilbestrola različitih koncentracija, predlaže se postupak za približno određivanje dietilstilbestrola u tabletama, koje sadržavaju 1 mg, 0,5 mg, 0,1 mg dietilstilbestrola. Postupak i podaci navedeni su u tekstu u tablici 2.

Contribution to the identification and approximately determining of Diethylstilboestrol in tablets.

by V. Vukčević-Kovačević and V. Fintić

Summary

1. A modification of the reaction of Diethylstilboestrol (D.) with bromine in a test tube by T. Tusting-Cocking is suggested using as reagent vapor of bromine instead of its solution in glacial acetic acid.

2. The reaction of D. with vapor of bromine on a piece of filter paper by V. Vukčević-Kovačević has been examined. Procedure of the reaction: One drop (0,01 ccm) of a solution of D. in glacial acetic acid placed on a piece of filter paper is exposed to the vapor of bromine for $\frac{1}{2}$ minute and after a further minute the result of the reaction examined. It is found that a drop of a concentrated solution of D. gives on the filter paper a colorless spot with a violet red outward border. Diluted solutions of D. give a border gradually becoming larger and brighter in color, outward surrounded by a light yellow zone; meanwhile the spot interior the border becomes pale light violet. Very diluted solutions of D. give a spot pink violet in color without any border. Sensibility of the reaction — Limit quantity: 2,5 γ in 0,01 ccm. Limit concentration: 1 : 4000.

3. The sensibility of the reaction of D. with vapor of bromine on a piece of filter paper is increased by the following modification: After exposing to vapor of bromine, the spot is exposed during 10 minutes to warm air (cca 70°). Thereon, after dropping a drop of water on the spot it is again exposed to vapor of bromine for $\frac{1}{2}$ minute: The whole spot becomes violet red resp. orange red in color. — Limit quantity: 0,2 γ in 0,01 ccm. Limit concentration: 1 : 50.000.

4. On base of the differences by the reaction with vapor of bromine on a piece of filter paper which give various concentrated solutions of D., a procedure for simultaneous identification and approximative determining of D. in tablets which contain 1 mg, 0,5 mg, 0,1 mg is given as follows: 3 tablets in a narrow test tube of cca 10 ccm are reduced to powder by means of a glass rod. After adding 1 ccm of glacial acetic acid, the mixture is warmed on a small flame during a short time and thereon allowed to stand till it gets cool and the undissolved part of the tablets sets down. With a drop of the clear solution (sol. 1) above the undissolved part of the tablets the reaction of bromine is performed. Thereafter, 2 ccm of glacial acetic acid are added and the mixture again warmed on a small flame for a short time (sol. 2), and after it gets cool the reaction with vapor of bromine is repeated.

If the tablets contain 1 mg of D. sol. 1 and sol. 2 both give a colorless spot with a violet pink outward border. — If the tablets contain 0,5 mg of D. sol. 1 gives a colorless spot with a violet pink outward border whilst sol. 2 gives a pale violet colored spot without any border. — If the tablets contain 0,1 mg of D. sol. 1 gives a spot pale violet in color whilst sol. 2 gives a negative reaction but after exposing to warm air (cca 70°) for 10 minutes and thereupon again to vapor of bromine for $\frac{1}{2}$ minute the spot becomes orange red in color.

(From the Institute for Pharmaceutical Chemistry at the Faculty of Pharmacy, University, Zagreb, Croatia.)

Literatura

1. F. C. A. della Croce, Ph. 2, 34 (1941); C. A. 36, 1632⁵ (1942). — 2. V. Vukčević-Kovačević, Farm. gl. 4, 126 (1948). — 3. E. B. Dechene, J. Amer. Pharm. Assoc. 30, 208 (1941). — 4. F. H. Malpress, Biochem. J. 39, 95 (1945); C. A. 39, 5273¹ (1945). — 5. S. Gottlieb, J. Amer. Pharm. Assoc. 36, 379 (1947) i 37, 147 (1948); Scientia Pharm. 17, 32 (1949). — 6. U. S. P. XIII. (1947) str. 166. — 7. B. P. VII. (1948) str. 224. — 8. Folin i Ciocalten,

C. A. 21, 3210 (1927); C. A. 36, 2877^o (1942). — 9. **M. Tubis** i **A. Bloom**, Ind. Eng. Chem. Anal. Ed. 14, 309 (1942); C. A. 36, 2877^o (1942). — 10. **Abbott Laboratories** North Chicago Tll., J. Amer. Med. Assoc. vol. 135, 224 (1927). — 11. **E. Dingemanse**, Nature, 145, 825 (1940); C. A. 34, 5376^o (1940). — Acta Brevia Neerland Physiol. Pharmac. Microbiol. 10, 118 (1940); C. A. 35, 4154^o (1941). — 12. **K. Ritsert**, E. Merck's Jahresh. 55, 5 (1943); C. A. 38, 6496^o (1944). — 13. **J. Cheymol** i **Carayon-Gentil**, C. A. 40, 5203¹ (1946). — 14. **L. Ekert**, Pharm. Zentralh. 75, 49 (1934). — 15. **E. Huf** i **G. Widmann**, Z. physiol. Chem. 274, 88 (1942); C. A. 37, 5992^o (1943). — 16. **G. Carrara**, Z. physiol. Chem. 279, 117 (1943); C. A. 38, 2986^o (1944). — 17. **Tusting Cocking**, Analyst. 68, 144 (1943); C. A. 38, 5238^o (1944). — 18. **White Laboratories, Inc.** Newark. N. J., J. Amer. Med. Assoc. vol. 135, 773 (1947). — 19. **B. P. VI.**, Add. VI. (1932) str. 25.

dr. *Delimir Šulc*:

Soja-lecitin i njegova primjena

(Predavanje održano na IV. farm. kolokviju u Zagrebu 4. III. 1949.)

»Kemija lecitina« obuhvaća do danas na stotine naučnih radova i to kako u pogledu ispitivanja strukture ovih spojeva i mogućnosti njihove sinteze, tako i u pogledu fizičko-kemijskih svojstava, na kojima se upravo osniva glavno djelovanje lecitina i njihova široka primjena.

U jednom referatu bilo bi nemoguće obuhvatiti čitavo područje lecitina, pa ću vas danas upoznati samo sa soja-lecitinom, koji zbog jeftinoće ishodne sirovine kao i zbog dobrih mogućnosti kultiviranja soje kod nas, specijalno interesira našu industriju.

Prije nego što prijedemo na samu temu potrebno je kazati nekoliko riječi o soji, koja zbog svojeg razmjerno visokog sadržaja bjelančevina, ulja i lecitina zauzima sve važnije mjesto među industrijskim biljem.

Soja ili *Glycine hispida* jednogodišnja je biljka iz porodice lepirnjača (*Papilionaceae*), a slična je našem grahu. Plod je mahuna koja sadržava 5—6 zrna. Kod nas je udomaćena vrsta koja ima žuta zrna, ovalnog oblika, 7—8 mm duga i 4—6 mm debela.

Domovina soje je Kina, odakle se proširila u istočno-azijske zemlje i to: u Mandžuriju, Koreju, Indokinu, Japan i na Sundajsko otočje. Nije poznato od kada se soja uzgaja u njenoj pradomovini, ali je ona nesumnjivo jedna od najstarijih kulturnih biljki, koju spominju već i rukopisi stari preko 5.000 godina i opisuju je kao glavnu hranu žute rase.

Soja je vrlo kasno došla na evropsko i američko tržište. Godine 1908. uvela je Engleska prvi puta iz Japana 3 brodska tovara soje. Vrlo dobri uspjesi kod prerade soje dali su poticaja za daljnji uvoz, tako da u najkraće vrijeme Istok nije mogao snabdijevati Evropu, a malo zatim ni Ameriku potrebnim količinama soje. Zbog sve veće potražnje sojinog ulja, a zbog nedostatka sirovine pokušali su kultivirati soju i u drugim krajevima svijeta. Ovi su pokusi pokazali da soja u pogledu tla i klime stavlja vrlo skromne zahtjeve i da uspijeva u svim onim krajevima, gdje uspijeva i kukuruz.

U naše krajeve uveo je soju iz Austrije pukovnik Stjepan Čmelik¹⁾ g. 1921., odakle se raširila po čitavoj jugo-istočnoj Evropi, gdje naročito dobro uspijeva.

Razmotrimo li kemijski sastav soje, vidjet ćemo da ona predstavlja važnu sirovinu, kako za prehrambene svrhe, tako i za industrijsku preradu.

Soja sadržava poprečno:

Bjelančevina	36—40%	što daje oko 164 kalorije
Ugljikohidrata	20%	što daje oko 82 kalorije
Ulja	18—20%	što daje oko 190 kalorija