

Kolometrijsko određivanje vrijednosti ražene glavnice (Secale cornutum) i njenih galenskih pripravaka: prijedlog za Ph Jug II

Corubolo, I.; Grims, M.

Source / Izvornik: **Farmaceutski glasnik, 1949, 5, 213 - 222**

Journal article, Published version

Rad u časopisu, Objavljena verzija rada (izdavačev PDF)

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:163:344746>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-05-02**



Repository / Repozitorij:

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



NAUKA I PRAKSA

I. Corubolo—M. Grims:

Kolometrijsko određivanje vrijednosti ražene glavnice (*Secale cornutum*) i njenih galenskih pripravaka*)

Prijedlog za Ph. Jug. II.

(Iz Zavoda za farmaceutsku tehnologiju Farmaceutskog fakulteta u Zagrebu.
Predstojnik: prof. mr. J. Jočmen.)

Sistematskim analitičko-kemijskim istraživanjima razotkrivena je dobrim dijelom kemijska tajna ražene glavnice. Nađeno je, da ova droga sadržava znatan broj djelotvornih tvari, koje se sve, manje ili više, mogu kvalitativno i kvantitativno određivati. Međutim uz složene i dugotrajne biološke metode nema jedinstvene kemijske analitičke metode, kojom bi se mogao kvantitativno obuhvatiti sav farmakološki aktivni dio ove važne droge. Razlog je tome taj, što ražena glavница posjeduje niz djelotvornih tvari, koje doduše imaju slične farmakološke osobine, ali pripadaju različitim kemijskim grupacijama (alkaloidi, amini, acetilholin), pa ih je zato nemoguće sve obuhvatiti jednom istom metodom određivanja. Istovremeno, kako je poznato, uobičajenim analitičkim metodama određuju se samo tvari srodne po svom kemijskom sastavu, no koje nemaju podjednaku terapijsku vrijednost. Tako na pr. kvantitativnim određivanjem alkaloida, tog najaktivnijeg dijela droge, dobivamo ukupnu količinu svih alkaloida, među kojima se nalaze i oni slabije ili nikakve farmakološke vrijednosti.

Kako farmakološko djelovanje ražene glavnice pripisujemo uglavnom upravo njenim alkaloidima, to se i kraj navedenog nedostatka grupnog određivanja ipak služimo kvantitativnim mjerenjem alkaloida, jer samo to pruža dovoljnu sigurnost, da kemijskim putem ocijenimo vrijednost droge i njenih pripravaka.

Ljekarnik je pozvan, da u danom momentu dađe terapiji punovaljanu drogu ili njen pripravak. Potrebno je stoga, da u farmakopeji nađe podesnu metodu, kojom će on u svom laboratoriju, bez velikih teškoća, moći ustanoviti, da li ta droga ili galenski pripravak posjeduje količinu alkaloida, koja još može izvesti traženi fiziološki učinak.

Nažalost, starija izdanja farmakopeja nisu mogla udovoljiti ovom zahtjevu. Radi nedostatka kvantitativnih metoda za ispitivanje droge, one su se zadovoljavale samo kvalitativnim dokazivanjem nazočnosti alkaloida. Jedna od takvih kvalitativnih reakcija, t. zv. Kelleroва kornutin-reakcija, nalazi se i u našoj farmakopeji.

Kvantitativno volumetrijsko određivanje sekale-alkaloida po prvi puta zahtijeva 6. izdanje njemačke farmakopeje 1926. god. Nešto kasnije, 1932. god., i britanska farmakopeja postavlja zahtjev za kvantitativno određivanje sekale-alkaloida i to kolorimetrijskom metodom, koju je izradio M. Smith(1). Smithova metoda osniva se na Van Urkovoј(2) reakciji, t. j. na svojstvu alkaloida ražene glavnice, da sa sumpornom kiselinom u nazočnosti p-dimetilaminobenzaldehida daju plavu boju. Intenzitet plave

*) Tema 8. farmaceutskog kolokvija od 17. X. 1949.

boje Van Urkove reakcije dao se dobro iskoristiti za kvantitativna mjerenja, jer je direktno proporcionalan količini nazočnih alkaloida.

Prema britanskoj farmakopeji uspoređuje se kolorimetrom boja dobivena djelovanjem p-dimetilaminobenzaldehida na otopljene sekale-alkaloide s bojom, koju daje ergotoksin-etansulfonat poznate koncentracije s istim reagensom. Da se postigne maksimum intenziteta boje, a ta jedino odgovara pravoj količini alkaloida u drogi, treba odmah nakon dodatka reagensa smjesu grijati i izložiti je direktnoj sunčanoj svjetlosti. Međutim, kraj teškoća ispunjavanja ovog navedenog uvjeta u praksi, teško je odrediti momenat kad boja doista dostigne maksimum intenziteta.

Alloport i Cocking(3) uspjeli su popraviti metodu engleske farmakopeje upotrebom katalizatora FeCl_3 umjesto osvjetljavanja. Na taj način postizava se već za kratko vrijeme maksimum intenziteta boje, koja ostaje duže vremena nepromijenjena.

S obzirom na veliku važnost ražene glavnice u terapiji, potrebno je da i u našu novu farmakopeju uđe jedan takav način određivanja. Stoga je valjalo odabrati prikladnu metodu za određivanje vrijednosti ražene glavnice i njenog oficinalnog ekstrakta. Pri tom se tražilo da se metoda može lako izvoditi u ljekarničkom laboratoriju, a da usto ipak bude potpuno točna i pouzdana. Pri tom je ujedno trebalo uzeti u obzir, da se analiza može izvesti sa što manjim količinama ispitnog materijala.*)

Proučivši kvantitativno određivanje sekale-alkaloida, a istovremeno ispitavši i neke od metoda navedenih u literaturi, došli smo do zaključka, da bi uz neke preinake mogla rečenim zahtjevima potpuno udovoljiti samo kolorimetrijska metoda prema M. Smithu.

Poznato je da su kolometrijske metode općenito mnogo brže i jednostavnije, a usto su i znatno jeftinije od drugih, jer zahtijevaju razmjerno malo ispitnog materijala i reagencija. S druge strane Smithova metoda obuhvata sveukupne alkaloidne (u vodi netopljive i topljive), pa se time odlikuje na pr. od priznate volumetrijske DAB VI. i gravimetrijske Keller-Fromme-ove(4), koje obuhvataju samo u vodi netopljive alkaloidne t. j. grupu ergotoksina-ergotamina (u vodi lako topljivi ergometrin gubi se tokom analize).

No kolorimetrijske metode zahtijevaju skupu aparaturu (kolorimetar ili fotometar), pa to predstavlja zapreku za njihovu praktičnu primjenu u malom ljekarničkom laboratoriju. Stoga smo morali i tu zapreku ukloniti, t. j. potrebno kolorimetrijsko mjerenje kod primjene Smithove metode udesiti tako, da se ono ipak može vršiti i u ljekari, koja nema spomenutih aparata.

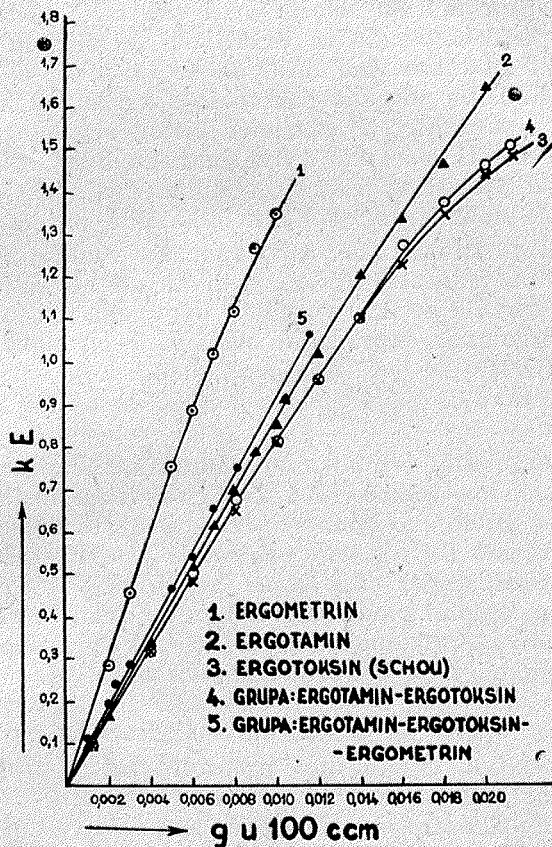
Eksperimentalni dio

Kako vrijednost rezultata kvantitativnog određivanja alkaloida zavisi u prvom redu od potpunosti njihove ekstrakcije iz droge, to smo najprije preispitali pouzdanost uobičajenih metoda ekstrakcije. Našli smo, da metoda ekstrakcije alkaloida, kojom smo se u našem analitskom ispitivanju kanili služiti, zadovoljava i da se lako izvodi.

Kao dalju pripremu za kvantitativna određivanja, izradili smo krivulje za koncentracije alkaloida, koje su nam bile potrebne da možemo provjeravati točnost mjerenja dobivenih upotrebom kolorimetrijskom metodom. Takve smo krivulje izradili za alkaloidne ergometrin i ergotamin i za njihove smjese: ergotamin-ergotoksin i ergotamin-ergotoksin-ergometrin u omjerima, koji odgovaraju njihovom prosječnom procentualnom nalazu u drogi.

*) Za volumetrijsko određivanje prema DAB VI. potrebno je 100 g droge.

Na ordinati dijagrama nalaze se nanijete vrijednosti za koeficijent ekstinkcije (kE), a na apscisi odnosne količine alkaloida-baza u gramima. Mjerenja su vršena Pulfrichovim fotometrom spomoću filtra S₅₇.



Budući da za izradu krivulja nismo raspolagali slobodnim alkaloidnim bazama, morali smo se služiti njihovim spojevima i to:

1. Za krivulju ergometrina upotrebili smo jedini ergometrinov spoj, kojim smo raspolagali — tablete »Ergotrate« Lilly (dobivene preko Unrra-e), sa 0,2 mg ergometrin-maleata u svakoj tableti.

Otopinu ergometrin-maleata priredili smo tako da smo 25 tableta ergotrata smrvili u fini prah. Od toga je u odmjernu tikvicu od 25 cm uzeta količina koja odgovara 0,0033 g ergometrin-maleata (= 0,0025 g ergometrin-baze). Prašak je maceriran u tikvici 30 min. sa 5 cm alkohola, a zatim je tikvica dopunjena do znaka 1% vodenom otopinom vinske kiseline. Sadržaj tikvice dobro je promućkan i filtriran. Prvih je 10 cm filtrata odbačeno. Od preostalog filtrata (koji sadržava 0,01%

ergometrina računano kao baza) uzimane su ekvivalentne količine (0,10, 0,20, 0,30 ccm itd.), kojima je dodavana 1% vodena otopina vinske kiseline do 1 ccm. Za svaku pojedinu koncentraciju određen je fotometrijski, nakon dodatka aldehidnog reagensa, kE koji odgovara toj koncentraciji.

Određivanju krivulje ergometrina pristupili smo s mnogo nepouzdanja, jer nismo znali, kad su bile izrađene Unrra-ine »Ergotrate« tablete, koje su stigle u našu zemlju pred više od 3 godine. Za ovakvo razmjerno stare tablete, moglo se držati, da je alkaloid u njima već djelimice razoren. Međutim smo našli da se krivulja, dobivena upotrebom spomenutih tableta, potpuno poklapala s krivuljom koju su izradili god. 1938. Schou i suradnici (5) spomoću čistog ergometrina. Tako smo uspjeli ne samo dobiti ispravnu krivulju nego i dokazati da je ergometrin-maleat kod propisnog čuvanja stabilan spoj, jer je kroz više od tri godine zadržao deklariranu količinu alkaloida (0,2 mg).

2. Krivulju ergotamina našli smo spomoću različitih koncentracija ergotamin-tartarata, jednostavnim razrjeđivanjem sadržaja svježih »Gynergen« Sandoz ampula sa 1% vodenom otopinom vinske kiseline.

3. Krivulja ergotamin-ergotoksina nađena je spomoću otopina različitih koncentracija smjese ovih dvaju alkaloida, koje smo kvantitativno izolirali iz droge, tako da pri tom nije poremećen njihov prirodni međusobni utezni omjer.

4. Krivulja ergotamin-ergotoksin-ergometrina. Prilikom izrade ove krivulje, našli smo na teškoće. Pri kvantitativnom izoliranju ukupnih alkaloida iz droge gubio se ergometrin zbog svoje topljivosti u vodi. Da se to izbjegne, trebalo je posebno pripremiti i upotrebiti smjesu alkaloida kojih će utezni omjer odgovarati barem približno onom u drogi Stoga smo vodenoj otopini vinske kiseline, u kojoj su se nalazili iz droge kvantitativno izolirani alkaloidi, netopljivi u vodi, dodali ergometrin-maleata, a u količini, koja odgovara odnosu alkaloida u drogi. Omjer alkaloida u tako dobivenoj smjesi odgovarao je uglavnom prirodnom uteznom omjeru, u kojem se ti alkaloidi nalaze u našim drogama.

5. Radi nedostatka ergotoksina preuzeli smo i prenijeli krivulju ovog alkaloida onako kako su to našli Schou i suradnici (5).

Sve spomenute krivulje izrađene su spomoću 0,01—0,02% otopina spomenutih alkaloida preračunatih na ekvivalentnu količinu njihovih baza.

Iz priloženog dijagrama izlazi da je kE uvijek obrnuto proporcionalan molekularnoj težini dotičnog alkaloida. Krivulja ergotoksina je najmanje strma, ergotamina nešto strmija, a ona ergometrina, s najmanjom mol. težinom, najstrmija. Iz ovoga se može zaključiti da je ona grupa atoma, koja s reagensom daje plavu boju ista i po broju jednaka kod svih alkaloida. Stoga je razumljivo da će kod iste utezne količine pojedinih alkaloida, onaj s manjom molekularnom težinom davati s reagensom razmjerno intenzivniju boju.

Nakon tih pripremnih radova određena je kolorimetrijskom metodom, koju niže navodimo kao prijedlog za farmakopeju, količina alkaloida u nekoliko uzoraka droge prošlogodišnje žetve. Tim je analizama dobiven uvid u prosječnu vrijednost naših droga. Istodobno su izvršene analize i nekih starijih, odležanih droga.

Tablica I.

Redni broj	SECALE CORNUTUM	Vlaga %	Masno ulje %	ALKALOIDI (%)					
				Netopijivi u vodi			Topljivi u vodi fotometrijski	Ukupni fotometrijski	
				DAB VI,	Keller-Fromme	fotometrijski			
1	In toto 1948. god. Pokusna stanica Farm. fakulteta	6,65	39,31	0,116	0,114	0,096	0,035	0,131	
2	In toto 1948. god. „Biljana“	7,15	35,14	0,182	0,178	0,164	0,030	0,194	
3	In toto 1948. god. „Medika“	5,86	36,35	0,145	0,138	0,130	0,050	0,180	
4	In toto 1946. god. Zavod	5,78	32,05	—	—	0,108	0,026	0,134	
5	Plv. deoleatus 1942. god. Zavod	9,38	6,89	—	—	0,118	0,025	0,143	
6	In toto 1935. god. Zavod	5,28	32,53	—	—	0,091	0,019	0,110	

Točnost rezultata dobivenih fotometrijskim mjerenjem kontrolirali smo volumetrijskom DAB VI. i Keller-Frommeovom gravimetrijskom metodom.*) Budući da ovima posljednjima dvjema metodama određujemo samo u vodi netopljive alkaloidne (skupinu ergotamin-ergotoksina), to smo radi što točnijeg uspoređivanja, a i radi same interesantnosti, određivali u svima analiziranim uzorcima uz ukupne alkaloidne fotometrijski još i one u vodi netopljive (6). Odbijanjem dobivenih vrijednosti za alkaloidne netopljive u vodi od nađenih vrijednosti za ukupne alkaloidne izračunavali smo količinu u vodi topljivih alkaloida.

Vrijednosti za ukupne alkaloidne i za one u vodi netopljive izražene su kod svih naših mjerenja kao ergotamin, za razliku od britanske farmakopeje i nekih autora, koji se služe preračunavanjem na ergotoksin. Ovakvo preračunavanje i izražavanje količine alkaloida u vrijednostima ergotamina, koje mi predlažemo kao mjerilo za farmakopejsko određivanje, možemo opravdati ovako:

Krivulja smjese u vodi netopljivih alkaloida (ergotoksin-ergotamin) podudara se, kako iz dijagrama vidimo, uglavnom s krivuljom ergotok-

*) Kod svih uzoraka nismo mogli izvršiti kontrolne analize prema DAB VI. odnosno prema Keller-Fromme-u (u tablici I. crtano) stoga što te metode u prvom redu zahtijevaju velike količine droge, s kojima kod starih droga nismo raspolagali, a u drugom što takve analize troše i vrlo mnogo etera. Kako su se rezultati dobiveni trima različitim metodama kod nekoliko uzoraka dobro međusobno slagali, to smo smatrali da je suviše svako dalje razmjerno skupo kontroliranje rezultata.



sina. Kako je tok ove krivulje uvjetovan procentualnim udjelom pojedinih alkaloida, komponenata u smjesi, to se ispitivana smjesa alkaloida, sudeći po toku naše krivulje, morala sastojati većim dijelom od ergotoksina.

Čisti ergometrin, kako je već spomenuto, radi svoje razmjerno male molekularne težine, daje s reagensom intenzivniju boju i prema tome strmiju krivulju od ostala dva sekale-alkaloida.

Mogli smo stoga unaprijed zaključiti da će utjecajem ergometrina krivulja smjese ukupnih alkaloida teći nešto strmije od one, koja je dobivena za alkaloidne netopljive u vodi. Zbog obično niskog procenta ergometrina u smjesi, moglo se isto tako misliti, da će ta krivulja ići tijesno uz krivulju ergotamina.

Krivulja za ukupne alkaloidne dobivena empirijskim mjerenjima i uertana u dijagram potvrdila je u cijelosti ovo naše mišljenje.

Razlika koja ipak postoji između toka krivulje ergotamina i one za ukupne alkaloidne u koncentracijama do 0,010 g % tako je mala, da po našem mišljenju ima više teorijsku negoli praktičnu važnost, pa ne može utjecati na ocjenu vrijednosti droge ili njenog pripravka.

Prema tome držimo, da je kod fotometrijskog određivanja ukupnih sekale-alkaloida opravdanije i točnije služiti se krivuljom ergotamina negoli ergotoksina, jer se tako najviše približavamo stvarnom stanju.

Iz priložene tablice I. vidi se, da se postotak ukupnih alkaloida prošlogodišnjih droga, koje smo analizirali, kreće od 0,13—0,19%. (Slični su rezultati dobiveni za prošlogodišnju drogu i u laboratoriju »Biljane«.)

U tablici upada u oči, da su i stare droge (iz 1946., 1942. i 1935. god.) zadržale dugo razmjerno visok postotak alkaloida. Ove droge čuvane su kroz čitavo vrijeme na tamnom mjestu u zatvorenom sudu (droge iz 1942. i 1935. god.) ili na suhom i tamnom mjestu u papirnatj kesici (droga iz 1946. god.).

Da li su se alkaloidi, unatoč dobivenih vrijednosti, utjecajem vremena na analizirane droge, jednim dijelom raspali ili su djelimice već prešli u znatno inaktivniju desnu formu i tako izgubili dio svoje farmakološke aktivnosti, nismo nažalost mogli ustanoviti ovim radom.

Točnost rezultata mjerenja tokom ispitivanja same metode rada, kao i sigurnost njene praktične primjene u vezi s prosuđivanjem vrijednosti droga i ekstrakata potvrdila su pouzdanost upotrebljene kolorimetrijske metode.

Preostalo je još kod te metode, kako smo spomenuli, samo to, da se kolorimetrijsko mjerenje tako pojednostavi da zadovolji potrebe nove farmakopeje. I to je, držimo, moguće uspješno riješiti, ukoliko se usvoji naše gledište, da je za praktičnu farmaciju potpuno dovoljno određivanje samo donje granične vrijednosti, t. j. utvrđivanje da li droga sadržava onu minimalnu količinu ukupnih alkaloida, koja će sigurno još izazvati traženo fiziološko djelovanje.

Tekst kolorimetrijske metode, kako smo je mi modificirali, a koja zadovoljava svim postavljenim zahtjevima, glasilo bi:

Secale cornutum

*Određivanje.**) 7 g u prašak stucane droge (IV) deoleira se petrolnim eterom u perkulatoru dotle, dok kap perkolata više ne ostavlja mrlje na papiru za filtriranje. Droga se zatim kvantitativno prenese u porcelansku zdjelicu i osuši na zraku. Osušena deoleirana droga natopi se s toliko etera, da se dobije polutekuća masa, koja se alkalizira sa 4,5 cm amonijaka (*r*) i miješa staklenim štapićem, dok sav eter ne ispari, a ostatak u zdjelici ne postane polukrut. Ovaj se oprezno kvantitativno prenese u bocu s ubrušenim čepom (cca 150—200 cm), doda 70 cm etera, pa mučka čvrsto i često kroz 3 sata. Nakon toga etera se otopina proijedi kroz mali lijevak s nešto pamuka u građuirani cilindar.

50 cm filtrata (= 5 g droge) iz cilindra prelije se u lijevak za odjeljivanje, doda 10 cm acetona i iscerpljuje 4 puta sa po 15, 10, 10 i 10 cm 1% vodene otopine vinske kiseline. (Da ne dode do stvaranja stabilnih emulzija treba izbjegavati udarce; dovoljno je kod svakog izmuckavanja lagano kružiti lijevkom.) Ispuštene vodene iscerpine sjedine se u porcelanskoj zdjelici, a ostatak organskog otapala ukloni neprestanim miješanjem tekućine i opreznim zagrijavanjem na vodenoj kupelji (ne preko 50°C). Sadržaj porcelanske zdjelice prelije se zatim u odmjernu tikvicu od 50 cm. Zdjelica se ispere s 1% vodenom otopinom vinske kiseline, a tikvica dopuni njome do znaka.

1 cm ove otopine odmjeri se pipetom u epruvetu iz bijelog stakla. Tome se doda oprezno puštajući iz pipete, uz stijenke epruvete, 2 cm p-dimetilaminobenzaldehida (*r*). Pošto se sadržaj epruvete promućka, ostavi se stajati 15 minuta. Dobivena boja uspoređuje se, kod danje svjetlosti, s bojom standard-otopine (S_2), gledajući prema bijeloj podlozi. Standard-otopina mora se prethodno u tu svrhu prirediti u epruveti iz bijelog stakla istog priječnika. Reakcijem dobivena boja ne smije biti vidljivo slabijeg intenziteta od boje standard-otopine, koja odgovara 0,10% ukupnih alkaloida.

Kod točnih kvantitativnih određivanja ukupnih alkaloida, mjeri se fotometrom intenzitet boje dobivene reakcijom. Kiveta 1 cm, filter S_{57} . Iz očitane vrijednosti fotometrom za kE dobiva se na krivulji ergotamina količina alkaloida, koja pomnožena sa 10 daje postotak alkaloida u drogi.

Kod droga u kojima je sadržaj alkaloida veći od 0,10%, potrebno je otopinu alkaloida u otopini vinske kiseline prije dodatka reagensa razrijediti na polovinu (0,5 cm vodene otopine alkaloida + 0,5 cm 1% vodene otopine vinske kiseline + 2 cm reagensa). Vrijednost dobivena očitavanjem na krivulji ergotamina pomnoži se u ovom slučaju sa 20.

*) S obzirom na visok postotak alkaloida naših droga, prema analizama izvršenima u našem zavodu, sadržaj ukupnih alkaloida ne bi smio biti u farmakopejskoj drogi ispod 0,10%. Ovaj prijedlog za donju granicu postotka alkaloida u drogi iznosimo u suglasnosti s prof. dr. Akačić, predstojnikom zavoda za farmakognoziiju Farmaceutskog fakulteta u Zagrebu.

Tablica II.

EXTRACTUM SECALIS CORNUTI FLUID.	Spec. težina	Suha tvar %	ALKALOIDI (%)			Od dana izrade analiza izvršena poslije:
			Netoplji- vi u vodi	Topljivi u vodi	Ukupni	
Tablica I. droga br. 1 1:1	0,9940	13,66	0,048	0,011	0,059	6 dana
Tablica I. droga br. 1 1:2	0,9400	5,49	0,038	0,005	0,043	10 "
Tablica I. droga br. 2 1:1	0,9832	14,38	0,124	0,010	0,134	2 "
Tablica I. droga br. 2 1:2	0,9385	5,66	0,065	0,010	0,075	2 "
Tablica I. droga br. 3 1:1	0,9851	13,35	0,062	0,008	0,070	6 "
Tablica I. droga br. 3 1:2	0,9552	6,33	0,045	0,013	0,058	3 "
Tablica I. droga br. 6 1:2	--	—	—	—	0,038	2 "
Droga n 1:2	0,9368	4,20	0,020	0,007	0,027	5 mjeseci

Extractum Secalis cornuti fluidum*)

Uspoređivanjem tablice I. i tablice II. zapažamo, da je postotak alkaloida u ekstraktu razmjerno mnogo manji od onoga, koji je naden u drogi, iz koje je ekstrakt priredjen. Prema tome izlazi, da se alkaloidi ražene glavnice za vrijeme i neposredno poslije izrade vidljivo raspadaju i gupe.

Kako je u našem zavodu problem stabilizacije tekućeg ekstrakta još u ispitivanju, to ćemo podatke o brzini ovog raspadanja, objaviti kasnije.

Zasada smo se morali zadovoljiti samo utvrđivanjem postotka alkaloida u ekstraktu, koji je moguće postići propisanim načinom izrade iz droge, u kojoj se postotak alkaloida kreće u granicama predviđenima u farmakopeji.

S obzirom na podatke dobivene analizama većeg broja tekućih ekstrakata mislimo, da donja granica t. j. minimum alkaloida, koji mora sadržavati oficinalni ekstrakt, bude 0,04% ukupnih alkaloida glavnice. Da bi se udovoljilo ovom zahtjevu, bit će bezuvjetno potrebno, da se tekući ekstrakt često svježe izrađuje.

Što se tiče jakosti ekstrakta držimo da je opravdan prijedlog prof. Ječmenića, koji je pred dvije godine podnio komisiji za izradu nove jugosl. farmakopeje, da se ovaj ekstrakt, i mimo briselske konvencije, priređuje u jakosti 1:2.

Izrada ovakvog ekstrakta u jakosti 1:2 znatno je jednostavnija, jer ne zahtijeva isparavanje u vakuumu, pri čemu se lako može izgubiti

*) Tekuće iscrpine, potrebne za ovaj rad, izradila je mr. Petričić-Kuljiš.

dio termolabilnih alkaloida, pa je prema tome shvatljivo, da će takav ekstrakt sadržavati i relativno više alkaloida.

Uzevši u obzir sadržaj alkaloida u tom ekstraktu može se povišenom dozom polučiti isti terapijski učinak.

Metoda, koju smo izradili t. j. prilagodili za farmakopejsko prosuđivanje vrijednosti tekućeg ekstrakta ražene glavnice, osniva se na istom principu kao i opisana metoda za prosuđivanje vrijednosti droge.

Određivanje. 10 g tekućeg ekstrakta odvagane se u tariranoj zdjelici i otpari na vodenoj kupelji (kod 60—70°C) na ispod 3 g (da se ispari alkohol!). Ostatak nakon otparivanja prelije se u lijevak za odjeljivanje, a zdjelica ispere 3—4 puta sa po 2 ccm vode. Sakupljena se tekućina u lijevku najprije alkalizira sa 5 kapi otopine amonijaka, a zatim mućka sa 25, 25, 20, 20, 20 i 20 ccm etera. Bistre eterne iscpine sjedine se u čaši, te se oprezno na vodenoj pari otpare na približno $\frac{1}{3}$ volumena. Koncentrirana etera otopina prelije se u lijevak za odjeljivanje i izmućkava sa 15, 10, 10 i 10 ccm 1% vodene otopine vinske kiseline. Preostali eter iz sjedinjenih vodenih otopina istjera se opreznim grijanjem na vodenoj pari (ne preko 50°C) uz neprestano miješanje. Pošto je tako odstranjen eter, otopina se prelije u odmjernu tikvicu od 50 ccm. Zdjelica se ispere sa 1% vodenom otopinom vinske kiseline, a tikvica dopuni njome do znaka.

1 ccm ove otopine odmjeri se pipetom u epruvetu iz bijelog stakla. Tome se doda oprezno puštajući iz pipete, uz stijenke epruvete, 2 ccm p-dimetilaminobenzaldehida (*r*). Pošto se sadržaj epruvete promućka, ostavi se stajati 15 minuta. Dobivena boja uspoređuje se, kod danje svjetlosti, s bojom standard-otopine (S₁), gledajući prema bijeloj podlozi. Standard-otopina mora se prethodno u tu svrhu prirediti u epruveti iz bijelog stakla istog priječnika. Reakcijom dobivena boja ne smije biti vidljivo slabijeg intenziteta od boje standard-otopine, koja odgovara 0,04% ukupnih alkaloida.

Kod točnih kvantitativnih određivanja ukupnih alkaloida mjeri se fotometrom intenzitet boje, dobivene reakcijom. Kiveta 1 cm, filter S₅₇. Iz očitane vrijednosti fotometrom za kE dobiva se na krivulji ergotamina količina alkaloida, koja pomnožena sa 5 daje postotak alkaloida u ekstraktu.

Kod ekstrakta, u kojemu je sadržaj alkaloida veći od 0,05%, potrebno je otopinu alkaloida u otopini vinske kiseline prije dodatka reagensa razrijediti na polovinu (0,5 ccm vodene otopine alkaloida + 0,5 ccm 1% vodene otopine vinske kiseline + 2 ccm reagensa). Vrijednost dobivena očitavanjem na krivulji ergotamina pomnoži se u ovom slučaju sa 10.

Kolorimetrijske standard-otopine

Standard-otopina za prosuđivanje droge — S₂ — (= 0,10% alkaloida)

0,05% vodena otopina tripan-modrila	6 kapi (= 0,27 ccm)
destilirana voda	5,70 ccm
kupri-sulfat (<i>r</i>)	0,80 ccm

Standard-otopina za prosuđivanje tekućeg ekstrakta — S₁ —
(= 0,04% alkaloida)

0,05% vodena otopina tripan-modrila	4 kapi (= 0,18 ccm)
destilirana voda	8,5 ccm

p-dimetilaminobenzaldehid reagens

0,125 g p-dimetilaminobenzaldehida otopi se u hladnoj smjesi od 65 ccm sumporne kiseline (95—98% t/t H₂SO₄) i 35 ccm vode. Toj se otopini doda 0,1 ccm otopine feri-klorida (5% t/v vodena otopina FeCl₃).

Otopina p-dimetilaminobenzaldehida nije podesna za upotrebu već sedmi dan pošto je izrađena.

Colorimetric determination of the value of ergot (*Secale cornutum*) and its galenic preparations.

by I. Corubolo and M. Grims

Summary

In this paper the authors have drawn the curves for concentrations of alcaloids of ergot by using Smith's colorimetric method modified by the authors. The curves were set up for ergotamin and ergometrin, and for the sake of completeness of the diagram a curve for ergotoxin, made in 1938 by Schou and his co-workers, has been added. The same curves were drawn for mixtures of the above mentioned alcaloids: ergotamin-ergotoxin and ergotamin-ergotoxin-ergometrin in an average reciprocal gravimetric proportion as found in the drug.

The authors are of the opinion, founded on their study of the course of the curve in the diagram, that the photometric measurements of the total alcaloids of ergot should be expressed in quantities of ergotamin, instead of ergotoxin, which have so far been in current use.

At the same time analyses of several samples of home drugs from the crop of 1948 were carried out.

The results of these analyses are as follows: amount of total alcaloids varied between 0,13—0,19%, and the percentage of alcaloids soluble in water between 0,03—0,05%.

By modifying Smith's method the authors established, for the new Yugoslav Pharmacopoeia, the method for colorimetric estimation of the value of ergot and its fluid extract. In order to avoid the use of the colorimeter and photometer respectively, they suggest that the colour, due to the reaction, should be compared with the test colour, whose intensity is set up as to represent the lower limit value of the total alcaloids for the drug, as well as for the fluid extract. This lower limit value has been established in such a manner that only such drugs whose contents in total alcaloids are not less than 0,10%, and such extracts whose contents are not less than 0,04% should be considered officinal in practical examination.

(From the Institute for Pharmaceutical Technology of the Pharmaceutical Faculty, Zagreb)

Literatura:

- 1). M. Smith. — Publ. Health. Serv. No 26. vol. 45, 1930.
M. Smith and Stohlman, Journ. Pharm. and exp. Therap. vol. 40, No 1. 1930.
- 2). Van Urk — Pharm. Weekblad 1929. No 5, 101.
Pharm. Weekblad 1929. No 23, 473.
- 3). L. Alloport and T. Cocking. — Chem. and Drugg. 1932. Bd. 117. No 2745, 324.
- 4). Freudweiler. — Pharmaceut. Acta Helvet. 1932. No 6, 116.
- 5). S. A. Schou — J. Bennekan. — Dansk Tidsskrift f. Farm. 12, 1938. 257.
- 6). Brit. Pharmacop. 1948.