

Primjeri primjene mikroreakcija boja u farmaciji

Barković, D.

Source / Izvornik: **Farmaceutski glasnik, 1952, 8, 405 - 411**

Journal article, Published version

Rad u časopisu, Objavljena verzija rada (izdavačev PDF)

Permanent link / Trajna poveznica: <https://um.nsk.hr/um:nbn:hr:163:282228>

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

Download date / Datum preuzimanja: **2024-12-21**



Repository / Repozitorij:

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



Farmaceutski glasnik

Glasilo Farmaceutskog društva Hrvatske

GOD. VIII.

ZAGREB, DECEMBAR 1952.

BR. 12

NAUČNO-PRAKTIČNI DIO

D. Barković:

Primjeri primjene mikroreakcija boja u farmaciji

(Iz Zavoda za farmaceutsku kemiju Farm. fakulteta u Zagrebu.)

(Referat održan na I. farmaceutskom kongresu u Dubrovniku 9. X. 1952.)

Reakcije boja zauzimaju već odavno važno mjesto u farmaciji. U farmaceutskoj se praksi često susrećemo s ovim reakcijama, t. j. s pojavama, bilo da se na pr. preparati ili njihove otopine oboje ili promijene boju zbog različitih izvanjskih utjecaja, bilo da ih izazovemo sami djelovanjem različitih reagencija. Prve pojave pokazuju da preparati sadržavaju neke primjese, onečišćenja, koje smanjuju njihovu vrijednost; drugima se služimo pri identifikaciji kemijskih spojeva, nadalje pri određivanju djelotvornih komponenata farmaceutskih preparata kolorimetrijskim metodama, u novije vrijeme u kromatografiji i t. d.

Danas se često u analitičke svrhe predlažu u kemiji i u farmaciji mikro-postupci, među koje se ubrajaju i mikroreakcije. Jednostavnije od tih reakcija mogu se svrstati u tri skupine: mikroreakcije boja, reakcije kristalnog taloženja i određivanje mikrotališta metodom Koflera. Reakcije kristalnog taloženja, klasične reakcije mikrokemije (Behrens, Kley i dr.), izvode se gotovo isključivo na objektom stakalcu, a pritom je mikroskop prijeko potreban aparat. On je, uz blok za grijanje, potreban i za noviju metodu određivanja mikrotališta od Koflera. Reakcije kristalnog taloženja uvjetuju poznavanje kristalne optike. Kemijski sastav kristala, koji se ispituju ovim postupkom, obično je poznat.

Za mikroreakcije boja osobito je zaslužan F. Feigl time, što je uveo reakcije kapi ili dodirne reakcije (Tüpfelreaktionen). Te se reakcije izvode s kapi otopine uz pomoć jednostavnog pribora, kao što su stakalca od sata, papir za filtriranje, mali porculanski lončići, ploče s udubinama (Tüpfelplatten).

Jedan od glavnih nedostataka, koji se pripisuje reakcijama boja, jest u subjektivnom opisanju kao i u prosuđivanju boja. Treba napomenuti, da su podaci o reakcijama boja u literaturi često nepotpuni, da su boje subjektivno opisane, a od iste boje navode se mnogobrojne nijanse (na pr. crvena poput krvi, maline, rubina, grimiza, karmina, kardinal-crvena i t. d.). Nema sumnje, da nas ovako opisane boje mogu lako dovesti u nedoumicu, pogotovu pri promatranju reakcija, gdje nijanse i dubina boja mogu znatno varirati, na pr. u otopinama različitih koncentracija, pri promatranju debljeg ili tanjeg sloja tekućine i t. d. Sve to često dovodi do toga da se u te reakcije ne možemo dovoljno pouzdati.

Međutim, uza sve nedostatke, reakcije boja imaju pred ostalim reakcijama obično znatnu prednost, koja sastoji u jeftinoći i lakoj pristupačnosti potrebnog pribora, kao i u jednostavnosti i brzini izvođenja. To je ujedno i razlog, što se one danas često upotrebljavaju, a i predlažu nove, osobito u primijenjenim kemijama, pa tako i u farmaceutskoj analitičkoj kemiji. Subjektivnost prosuđivanja boja pri ovim reakcijama nastojalo se ukloniti na različite načine, tako na pr. uz pomoć tablica boja (Ostwaldove tablice).

U ovom referatu htio bih prikazati dalju jednu mogućnost objektivnijeg prosuđivanja reakcija boja, a koja bi sastojala u raščlanjivanju tih reakcija u faze promatranja. Pritom bih težište položio na promatranje stvaranja ili mijenjanja boje, a ne na njenu nijansu i intenzitet. U takvu bi naime slučaju bile možda dovoljne, uz mijenjanje uvjeta pri izvedbi reakcije, samo neke temeljne boje, vidljivog spektra, na pr. crvena, žuta, zelena, modra. U krajnjem slučaju bi to značilo, da se identitet spoja pri ovim reakcijama utvrđuje stvaranjem ili mijenjanjem neke temeljne boje, bez obzira na nijansu, dok bi sama boja tek bila jedan od elemenata reakcije. Uvjeti pri izvođenju ovih reakcija mogu se mijenjati upotrebom različitih otapala, na pr. vode, alkohola, različitih kiselina i t. d., nadalje upotrebom različitih reagensija, koje se mogu dodavati i jedna poslije druge, zatim različitim trajanjem djelovanja reagensija i t. d.

Da bismo ovaj princip izvođenja i promatranja reakcija boja bolje predočili, prikazat ću nekoliko primjera mikroreakcija boja većinom pri derivatima kinolina i izokinolina. Neki od tih spojeva daju u jednoj od faza reakcije crvenu boju, odnosno različite njezine nijanse. U drugim fazama reakcije ili boja ne nastaje ili nastaju drugačije boje.

U ovim primjerima uzete su reakcije kapi na papiru za filtriranje pomoću reagensija u obliku para, i to s parama broma, parama amonijaka i vodenim parama (grijanje). Reakcije se izvode s cca 1% otopinama preparata, pa kap otopine 0,01—0,05 ccm sadržava 0,1—0,5 mg preparata. Vrijeme djelovanja para reagensa je za pojedine od tih spojeva različito, pa varira od nekoliko sekunda do 1 minute (obično pola do 1 minute). Reakcije se promatraju u parama reagensa, ako pritom dolazi do stvaranja i mijenjanja boje (prolazna boja), a ostale reakcije izvan para reagensa.

U tablici 1. navedeni su primjeri ovih reakcija s vodenim otopinama, a u tablici 2. s otopinama u klorovodičnoj kiselini.

Iz tablica se vidi, da neki od ispitanih spojeva daju u pojedinim fazama reakcije mrlju crvene boje (bez obzira na nijanse) u vodenoj, a drugi u kiseloj otopini, na papiru za filtriranje, djelovanjem para broma, ili para broma i vodenih para, odnosno para broma i amonijaka. To vrijedi i za harmin (metoksiharman, derivat karbolina) i za spartein (derivat lupinana), koji nisu derivati kinolina odnosno izokinolina.

Od velikog broja predloženih reakcija boja — osobito kod kompliciranije građenih spojeva — za mnoge od njih nije poznat sastav reakcijskih produkata. To vrijedi i za reakcijske produkte kinolina i izokinolina s bromom i amonijakom.

Vjerojatno je, da pri ovim reakcijama dolazi u kiseloj otopini do stvaranja više ili manje stabilnih perbromida. Uspjeli smo prirediti

T a b l i c a 1.
Mikroreakcije crvene boje na papiru za filtriranje u vodenoj otopini

Faza reakcije:		1	2	3	4	Napomena
Br.	Spoj	Boja mrlje vodene otopine	Boja mrlje u parama (prolazna) ili izvan para Br.	Boja mrlje u vodenim parama	Boja mrlje u parama (prolazna) ili izvan para NH ₃	
1	Hidrastin	—	—	—	crvena (svijetlo) grijanjem svijetlo crvena	Osjetljivost: 5γ/0,05 ccm Reakcija od Granta
2	Sparteïn	—	—	—	prolazno svijetlo crvena, zatim svijetlo smeđa	
3	Tebain	—	+	+	prolazno crvenoljubičasta, zatim svijetlo crvenosmeđa	Osjetljivost: 1γ(0,1γ)/0,05 ccm
4	Emetin	—	+	+	+	Djelovanje para broma nekoliko sekunda
5	Kinin, Kinidin	—	+	+	crvenoljubičasta	
6	Apomorfïn	—	prolazno crvenoljubičasta, zatim crvenosmeđa	+	+	
7	Kodein, Etilmorfin	—	+	+	crvenoljubičasta	
8	Talin	—	(zelena) prolazno crvenoljubičasta	—	svijetlo crvenosmeđa	
9	Brucin	—	svijetlo crvenoljubičasta zatim žutonarančasta crvenosmeđa, zatim svijetlo crvenoljubičasta	—	svijetlo crvenoljubičasta + (žutosmeđa) svijetlo crvenosmeđa	
10	Fizostigmin	—	—	—	bijelo crvena	Osjetljivost: 0,2γ(0,027)/0,05 ccm
11	Berberin	žuta	—	+	+	

Ružičasta boja je označena kao svijetlo crvena. — mrlja je bezbojna
Prolazne boje promatraju se u parama reagensa. + mrlja se oboji, ali ne crveno

U Napomenama pri Osjetljivosti: vrijednosti navedene u zagradama odnose se na osjetljivost reakcije, ako se kap otopine polako otpušta.
Kapanjem stavi na papir tako, da se vrh pipete prisloni na papir, a kap otopine polako otpušta.

Tablica 2.

Mikroreakcije na papiru za filtriranje s kiselim otopinom (HCl)

Faze reakcije:		1	2	3	4	Napomena
Br.	Spoj	Boja otopine u HCl	U ili izvan para broma	U vodenim parama	U parama amonijaka	
1	Papaverin, Eupaverin	—	narančasto-crvena zatim prolazno crvena	—	—	Osjetljivost: 5γ/0,01 ccm
2	Harmin	—	crveno-narančasta, zatim crvena	—	—	Osjetljivost: 0,5γ/0,01 ccm
3	Metilfenil-cinhonat	—	crvena	—	—	Osjetljivost: 15γ/0,01 ccm
4	Emetin, Cefaelin	—	+	—	ljubičasta	Osjetljivost: 10γ/0,05 ccm

perbromide novatofana i harmina, a vjerojatno se pri reakcijama crvene boje s bromom u kiseljoj otopini radi o perbromidima i kod papaverina i eupaverina. Djelovanjem amonijaka na te reakcijske produkte, boja se gubi. U vodenoj otopini ti spojevi ne daju mrlju crvene boje.

Pri reakcijama vodenih otopina ovih spojeva s bromom i amonijakom postoje različne mogućnosti stvaranja obojenih produkata. Kod nekih od njih nastaju djelovanjem broma reakcijski produkti crvene boje, koji su derivati o-kinona, kao na pr. kod kinina i kinidina, kao i kod fizostigmina i adrenalina.

No postoje i različne druge mogućnosti stvaranja obojenih produkata djelovanjem broma i amonijaka zbog oksidacije, supstitucije i dr. Pri spojevima koji sadržavaju slobodne fenolne skupine, može doći do dalekosežnijih oksidativnih razgradnja, pa mogu nastati smjese različitih spojeva, dotično smjese različno obojenih produkata. Takve smjese teško je rastaviti, i zbog toga teško definirati, a često se pri ovim reakcijama boje i brzo mijenjaju.

Kod hidrastina uspjeli smo pripremiti djelovanjem broma i amonijaka u vodenoj otopini kristalinični produkt crvene boje, no nismo ga dosada još ispitali. Hidrastinu slično građeni spojevi, kao što su narkotin, narcein, hidrastinin i kotarnin, ne daju ovom reakcijom produkte crvene boje.

Reakcije crvene boje s parama broma i amonijaka na papiru za filtriranje pri derivatima kinolina i izokinolina daju prvenstveno oni derivati, koji sadržavaju alkoksilne (osobito metoksilne) skupine. Tako na pr. reakciju crvene boje s bromom daje brucin, metoksi-derivat strihnina, dok je sam strihnin ne daje. Nadalje kinin, kinidin i alkoksi-derivati hidrokupreina daju s parama broma mrlju crvene

boje, dok je sam kuprein ne daje, kao ni hidrirani (na pr. talin) i u o-položaju supstituirani (na pr. plasmokin) derivati kinolina. Kodein i etilmorfin, a i tebain daju reakciju mrlje crvene boje s parama broma i amonijaka, dok morfin uz iste uvjete daje smeđu mrlju (slobodna fenolna skupina). Emetin i cefaelin u kiseljoj otopini daju s parama broma (vodenim parama) i parama amonijaka jednaku reakciju — mrlju ljubičaste boje; naprotiv se u vodenoj otopini pri emetinu dobiva prolazna crvena boja, koju cefaelin (sa slobodnom fenolnom skupinom) ne daje. Od ispitanih derivata fenilcinhoninske kiseline našli smo, da u kiseljoj otopini s bromom nastaje mrlja crvene boje samo kod metilfenilcinhonata; drugi ispitani derivati daju žutu mrlju i t. d. (tablica 3.).

Tablica 3.

Mikroreakcije crvene boje na papiru za filtriranje s parama broma odn. s parama broma i amonijaka

Derivati:	Reakcija u vodenoj otopini:		Reakcija u kiseljoj otopini:	
	pozitivna	negativna	pozitivna	negativna
Kinolina	kinin, kinidin, etil- i izoamilhidrokuprein	cinhonin, cinchonidin kuprein, plasmokin	metil-fenilcinhonat	fenil cinhoninska kiselina, etil-fenilcinhonat, neocinhofen
Izokinolina	berberin		papaverin, eupaverin	perparin
Tetrahidroizokinolina	hidrastin; apomorfin; talin; emetin;	narkotin, narcein, hidrastinin, kotarnin; d-tubokurarin; cefaelin; bulbokapnin		
Morfina	kodein, etilmorfin, tebain	morfin, dikodid, dilaudid		
Indola	brucin; fizostigmin	strihnin	harmin	johimbin
Piridina, tropina, ekgonina, glioksalina, steroida		nikotin, arekolin, atropin, skopolamin, kokain, pilokarpin, akonitin, veratrin i t. d.		

Kao negativne reakcije označene su one, kod kojih ne nastaje crvena boja ili se mrlja ne oboji.

Vjerojatno je, da će i druge skupine spojeva, na bazi druge koje temeljne boje vidljivog spektra, te raščlanjivanjem reakcija u faze,

dati razlike, koje bi omogućile njihovo diferenciranje odnosno njihovu identifikaciju.

Reakcije boja mogu nadalje poslužiti i pri ispitivanjima na onečišćenja u farmaceutskim preparatima, kao i pri ispitivanju valjanosti odnosno približnom određivanju djelotvorne komponente preparata.

Poznate su različite reakcije boja, koje služe u svrhu ispitivanja na onečišćenja, kao na pr. na željezo s kalijevim ferocijanidom ili tioglikolnom kiselinom, nadalje na arsen s hipofosforastom kiselinom, pa reakcija s konc. sumpornom kiselinom na organske primjese i t. d. Pri ovim ispitivanjima služimo se često reakcijama, koje se osnivaju na njihovoj graničnoj osjetljivosti. I neke od navedenih mikroreakcija boja na derivate kinolina i izokinolina mogu poslužiti u tu svrhu.

Navest ću kao primjere ispitivanja na *primjese cefaelina u emetinovu hidrokloridu* i na *primjese kolhiceina u kolhicinu*.

Cefaelin se u farmakopejama obično dokazuje gravimetrijskim postupcima, vaganjem ostatka nakon ekstrakcije preparata s eterom, pošto se odijeli emetin. Ako se ostatak otopi u vrlo razrijeđenoj octenoj kiselini, umjesto da se vagne, mora reakcija s kapi otopine na papiru za filtriranje s parama broma i amonijaka biti negativna: mrlja se ne smije obojiti. Ovakvo ispitivanje na cefaelin u emetinovu hidrokloridu usvojeno je u Ph. Jug. II. Količina preparata, koja je potrebna za ovo ispitivanje 25 puta je manja od količine potrebne na pr. u Ph. I.

Na sličan način može se ispitati kolhicin na primjese kolhiceina, njegovog raspadnog produkta. Otopina kolhiceina u 2% klorovodičnoj kiselini daje na papiru za filtriranje mrlju žutozelene boje, koja se djelovanjem para broma gubi, a opet nastaje, ako se mrlja izloži parama amonijaka. Osjetljivost ove reakcije je 2 γ kolhicina u 0,05 ccm otopine.

Kolhicein, koji ima enolnu hidroksilnu skupinu, reagira, za razliku od kolhicina, s ferikloridom, pa nastaje zelena boja. Pri reakciji u kiseloj otopini s parama broma i amonijaka vlada se jednako kao kolhicin. No ako se otopina kolhicina, koji sadržava primjese kolhiceina, stavi na papir za filtriranje impregniran s malo feriklorida, obojit će se mrlja nakon kraćeg vremena tamnije. Sadržava li kolhicin više od 0,5% kolhiceina, nastaje u toku od 5 minuta unutar žutozelene mrlje još jasno vidljiva zona tamnije boje.

Kako većina kvalitativnih papira za filtriranje sadržava željeza, može otopina kolhiceina poslužiti i za ispitivanje papira za filtriranje na tragove željeza.

Kao primjer primjene mikroreakcija boja za ispitivanja valjanosti i približnog određivanja djelotvorne komponente, neka nam posluži naprijed navedena reakcija na emetin i cefaelin s parama broma i amonijaka na papiru za filtriranje. Na temelju osjetljivosti ove reakcije, može se približno prosuditi valjanost preparata korijena od ipekakuane. Granična osjetljivost u 0,05 ccm otopine za emetin i cefaelin je oko 1 γ u približno neutralnoj, a oko 10 γ u kiseljoj otopini (10% HCl).

Postoje mnogobrojni postupci za ispitivanje valjanosti farmaceutskih preparata, među kojima ima i mnogo takvih, koji se osnivaju na

reakcijama boja. Mi smo također predložili nekoliko postupaka, koji mogu poslužiti za jednostavna i brza ispitivanja, za ispitivanja valjanosti farmaceutskih preparata, a među njima i postupak za ispitivanje valjanosti preparata korijena od ipekakuane.

Stoga bih se ovdje zadržao samo na ispitivanju valjanosti infuza ipekakuane, priprema, kojem se, kako znamo, vrijednost stajanjem prilično brzo smanjuje, a katkada se taj pripravak i neispravno izrađuje.

svjež infuz 0,5 : 200, ako se priredi iz droge, koja sadržava preko 2% alkaloida, razrijeđen sa 2 dijela vode, dat će, na papiru za filtriranje s parama broma i amonijaka, još vidljivo obojenu mrlju. Ako je reakcija pritom negativna, moći ćemo utvrditi, da li je infuz bezvrijedan na taj način, da kap iste otopine (0,05 ccm) umjesto kapanjem, stavimo na papir tako, da se vrh pipete prisloni na papir i kap otopine polako otpušta. Takvim stavljanjem otopine na papir za filtriranje mogli smo osjetljivost ove reakcije povisiti otprilike za 10 puta, i to zbog koncentracije alkaloida na maloj površini. Na taj se način može utvrditi nazočnost alkaloida još i onda, ako im se sadržaj u infuzu smanjio oko 10 puta.

Na temelju ove reakcije, t. j. na temelju stvaranja obojene mrlje, mogu se pratiti razlike u sadržaju alkaloida u infuzu, koje razlike variraju prema tome, uz koje je uvjete izrađen i čuvan taj pripravak. Razlike u sadržaju alkaloida mogu biti uvjetovane stupnjem usitnjenja praška upotrebijene droge, trajanjem grijanja, vremenom ekstrakcije, zatim time, da li je infuz priređen samom vodom ili dodatkom koje kiseline i t. d. Mogli smo zapaziti razlike pri reakciji, na pr. u infuzu, koji je filtriran, mjesto da se kolira: reakcija je znatno slabija u filtriranom infuzu.

Iz ovog se primjera vidi, da mikroreakcije boja mogu biti od koristi i pri istraživanjima najpovoljnijeg načina ekstrakcije pri izradi farmaceutskih preparata. Pritom može biti od važnosti i samo nastajanje boje, a ne i boja sama.

U ovom referatu navedeni primjeri mikroreakcija boja na papiru za filtriranje s reagensima u obliku pare potječu — izuzev Grantove reakcije na spartein — iz vlastitih publiciranih i nepubliciranih radova.

Beispiele der Anwendung von Tüpfelreaktionen in der Pharmazie von D. Barković

Zusammenfassung

Es wurde versucht Mikrofarbreaktionen durch Zerlegung in Beobachtungsphasen unter Änderung der Versuchsbedingungen objektiver darzustellen.

Als Beispiele für die Anwendung dieser Reaktionen in der Pharmazie, wurden Tüpfelreaktionen am Filterpapier mit Brom- und Ammoniakdämpfen für mehrere Arzneistoffe angegeben. Meistens waren es Derivate des Chinolins und Isochinolins, bei denen in den einzelnen Phasen der Reaktion ein roter Fleck entsteht.

Als Beispiele für die Prüfung von Arzneimitteln auf Reinheit mit Hilfe der angegebenen Reaktionen wird die Prüfung auf Cephaëlin im Emetini hydrochloridum und auf Colchicein in Colchicinum beschrieben.

Schliesslich wird die Anwendung der Mikrofarbreaktionen zur annähernden Wertbestimmungen pharmazeutischer Präparate, und bei der Untersuchung der günstigen Bedingungen zur Darstellung pharmazeutischer Präparate, am Beispiel von Infusum Ipecacuanhae dargelegt.

Die angeführten Beispiele wurden den eigenen Untersuchungen entnommen.