

## METODA DE DETERMINARE MICROCHIMICĂ A ALCALOIZILOR TOTALI DIN MĂTRĂGUNA (ATROPA BELLADONNA L.)

Răcz Gábor, Csedő Károly

Ne-am propus să studiem posibilitatea valorificării mai raționale a culturilor de mătrăgună (1). Am căutat o metodă de dozare corespunzătoare. Au fost luate în studiu următoarele metode: metodele titrimetrice descrise de *Kuhn* și *Schaeffer* (2), *Hegnauer* și *Flück* (3), *Gstirner* și *Stern* (4), *Reimer* (5), *Revol* (6), *Coverg* (7) precum și procedeele colorimetric și fotometrice ale lui *Romeike* (8), *Colby* și *Beal* (9) și altele. Am considerat că pentru scopul urmărit cele mai convenabile sînt micro-metodele care permit o dozare rapidă și destul de precisă a unui număr de probe. O asemenea metodă pare a fi în primul rînd cea elaborată de *Coverg* cu ajutorul căreia se poate determina cantitatea de cca 1 mg alcaloizi totali din 0,3 g părți vegetale.

Principiul metodei *Coverg* este următorul: alcaloizii sînt eliberați din săruri cu ajutorul hidroxidului de potasiu și extrași cu eter; substanțele fluorescente la lumină ultravioletă sînt adsorbite pe oxid de magneziu, solventul este evaporat pentru îndepărtarea unor baze volatile și reziduul este reluat cu eter; se adaugă o cantitate cunoscută de acid sulfuric  $n/100$  pentru transformarea alcaloizilor în sulfați, iar excesul de acid este retitrat cu hidroxid de potasiu  $n/100$  la lumină ultravioletă în prezența sulfatului de chinină ca indicator.

Am căutat să aplicăm metoda lui *Coverg* luînd în considerare îmbunătățirile și modificările aduse ei de un colectiv de autori din țară (10). Am găsit următoarele surse de erori:

1. Soluția de 10% hidroxid de potasiu întrebuintată cu scopul de a elibera alcaloizii din săruri poate să intervină în cursul analizei acidimetrice ducînd la valori exagerate. Am considerat că este logic de a înlocui această soluție cu o bază volatilă, hidroxidul de amoniu, cu atît mai mult cu cît în cursul încălzirii aplicate pentru îndepărtarea bazelor volatile se poate elimina acest factor din mersul analizei.

2. Încălzirea soluției eterice pe baie de apă pînă la evaporarea solventului nu este suficientă pentru îndepărtarea bazelor volatile fără acțiune midriatică (*n*-metilpirolina, *n*-metilpirolidina, piridina ș. a.) și trebuie completată cu o încălzire la temperatură de 100—105°C în etuvă (11, 12).

3. Corecția aplicată pentru eter, în cazul cînd se lucrează cu hidroxid de potasiu, întrece valoarea titrării propriu zisă, în locul corecției am introdus o probă martoră cu ajutorul căreia se poate controla nu numai calitatea eterului ci întregul procedeu de analiză.

4. Cantitatea de 0,3 g luată în lucru este mai mică decît e necesară: ca mărește valoarea erorii datorită altor factori (reacția eterului, bioxi-

ciul de carbon din aer etc.). Am luat în lucru cite 1 g substanță vegetală marind totodată volumul lichidului extractiv.

Aceste posibilități de erori au imprimat metodei un caracter de nesigurantă și explică de ce metoda, cu toate avantajele pe care le oferă, nu s-a putut răspindi. Procedeele incluse în Farmacopeea Romină ediția a VII-a și prevăzute de standardele de stat (STAS 1076—50 și 2030—51) sînt mult mai greoaie. În această situație am considerat că este necesar să dăm publicității descrierea procedeei urmat de noi care ni se pare a fi cel mai simplu între multe metode descrise în literatură și bazate pe diferite posibilități de determinare. Propunem metoda descrisă de noi în primul rînd pentru dozarea părților vegetale în serii, în cursul experiențelor de ameliorare. Ea a fost aplicată cu succes nu numai la analiza drogului din farmacia ci și la dozarea unor preparate farmaceutice (13).

### Partea experimentală

După eliminarea posibilităților de erori specificate mai sus am efectuat următoarele analize pentru a verifica unii factori din mersul analizei

1. După separarea eterului de la prima extracție am continuat extracțiile cu eter; solventul provenit de la mai multe extracții repetate a dat valori egale cu proba martor. Știut fiind că eterul nu este cel mai bun mediu extractiv în cazul alcaloizilor din mătrăgună (12) am putut stabili totuși că în condițiile noastre extracția este cantitativă. Pe de altă parte, prelungind timpul de macerație de la 24 de ore pîna la o săptămînă, s-au obținut de asemenea aceleași rezultate.

2. Am analizat probe de sulfat de atropină la care am scos coloana de oxid de magneziu din mersul analizei. Rezultatele au devenit absolut negative: dacă dintre două probe una nu a fost trecută prin coloana de oxid de magneziu, valoarea obținută a fost identică cu cea obținută la proba martor (vezi tabelul I.).

Tabelul Nr. 1.

Proba	MgO g	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> n/100 ml	Rezultatul exprimat în sulfat de atropină
Sulfat de atropină 0,005 g	2	1,9	0,004982 g
Sulfat de atropină 0,005 g	0	0,4	(?)
Proba martor	2	0,4	0
Proba martor	0	0,4	0

Dat fiind că în cazul de față nu poate fi vorba de pierdere în cursul analizei și că oxidul de magneziu conform probei martor nu influențează ca atare rezultatul analizei, dăm următoarea explicație acestui fenomen: coloana de oxid de magneziu absoarbe faza apoasă (reprezentată de cei 0,5 ml introduși cu soluția de hidroxid de amoniu). În caz dacă se omite trecerea soluției prin coloana de oxid de magneziu faza apoasă ajunge în vasul în care se va efectua titrarea; la temperatura de 100—105° se evaporază amoniacul, însă sulfatul de amoniu rezultat în urma reacției dintre amoniac și sulfat de atropină se transformă în hidrosulfat de amoniu care va folosi o cantitate echimoleculară de soluție titrantă de acid.

În cazul analizei de părți vegetale hidroxidul de amoniu intra în combinație cu acizii organici eliberați din sărurile de alcaloizi și în consecință împrejurările nu sînt identice. Totuși, pe baza acestor observații trebuie să se evite ca în vasul în care se va efectua titrarea să ajungă taza apoasă. Eterul conține și el cantități apreciabile de apă respectiv soluție de săruri de amoniu. Pentru aceste considerente am completat coloana de oxid de magneziu cu un strat de sulfat de sodiu anhidru.

3. Am repetat analizele cu sulfat de atropină prin titrare fără eter și sub eter. Rezultatele au fost identice.

La elaborarea metodei descrise am luat în considerare în definitiv factorii cuprinși în cele patru puncte la stabilirea posibilităților de eroare și analizele cuprinse în cele trei puncte din partea experimentală.

*Descrierea metodei.* Din proba de analizat pulverizată și ținută în etuvă la temperatura de 40° C timp de 1 oră se cîntărește precis o cantitate de 1 g, se introduce într-un balon Erlenmayer de 25 ml, se adaugă 15 ml eter și 0,5 ml hidroxid de amoniu 10%. Se astupă și se agită prin mișcări circulare. În ziua următoare se filtrează prin vată într-un cilindru gradat, se presează lichidul extractiv din reziduu și se spală cu eter pînă la volumul de 35 ml. Soluția eterică se trece la vid printr-un tub cromatografic cu o lungime de 12 cm și un diametru de 0,6 cm în care s-a introdus peste puțină vată un strat de 2 g oxid de magneziu și 3 g sulfat de sodiu anhidru. Coloana cromatografică se spală cu 10 ml eter. Eterul se îndepărtează în soluție pe baie de apă, reziduu se introduce în etuva cu temperatură de 100—105° C și se ține la temperatură constantă timp de 1 oră. Se adaugă 5 ml acid sulfuric n/100, 10 ml eter, 2 ml apă recent distilată și răcită, 1 ml soluție de sulfat de chinină (0,05 g la 1000 ml apă) și se retitrează excesul de acid cu hidroxid de sodiu n/100 la lumină ultravioletă pînă la dispariția fluorescenței.

După ce s-a scăzut valoarea probei martor se calculează după formula.

1 ml acid sulfuric n/100 : 0,00289 g hiosciamină.

Reactivii și eterul întrebuintat la probele de analizat și la probele martor trebuie să fie identici.

Pentru a exclude posibilitatea ca atropină înglobată într-o masă cu proprietăți hidrofobe să nu între în reacție cantitativ cu acidul sulfuric, în cazul unor analize mai pretențioase se va putea adăuga reziduuului obținut după îndepărtarea bazelor volatile o cantitate de 5 ml cloroform, apoi soluția titrantă de acid sulfuric. Prin îndepărtarea cloroformului pe baie de apă se poate asigura apoi ca atropina să între în reacție cu soluția titrantă. Se adaugă eterul și se titrează. Analiza rădăcinilor se poate efectua fără intermediul cloroformului respectiv al eterului, solvenți necesari numai la analiza frunzei și a herbei pentru a obține un strat separat de clorofilă.

Limita de eroare observată este de 2% (13).

Această metodă rapidă și destul de precisă are dezavantajul că cu ajutorul ei se determină cantitatea totală de alcaloizi și nu alcaloidul principal. În totalul cantității de alcaloizi se găsesc cca 86,5% hiosciamină, 4,5% hioscină, 6,0% atropină, 3,0% apoatropina în irunzele recente și 90,5% hiosciamină, 0,5% hioscină, 4,0% atropină, 2,5% apoatropină

și 3,0%, alți alcaloizi în rădăcinile recente. Procentul diferiților alcaloizi se schimbă însă în cursul dezvoltării (14, 15), iar transformarea hiosciaminei mai active în atropină depinde de multe împrejurări. Metoda poate da rezultate ușor comparabile mai cu seamă în cazul unor organe de dezvoltare similară în experiențele fiziologice și de ameliorare. Din punctul de vedere al analizei drogului farmaceutic este de remarcat că în ultimul timp se întrebunțează tot mai mult preparatele în componența cărora intră alcaloizii totali din mătrăgună. Pentru evaluarea acestor preparate în momentul de față se pretează în primul rînd metodele de dozare biologică. Dintre metodele chimice mai importante sînt acelea cu ajutorul cărora se determină cantitatea de alcaloizi totali.

*Sosit la redacție: la 30 aprilie 1957.*

#### Bibliografie

1. Coiciu E., Ștefănescu A., Răcz G., Csedő K.: Comunicările Academiei R.P.R. Nr. 2/1957;
2. Kuhn, Schaeffer, vezi Maerki: Pharm. Acta. Helv. 1943, ref. Chem. Zentralblatt 1943. 11;
3. Hegnauer și Flück: Pharm. Acta Helv. 13, 1958;
4. Gstirner F., Stein C.: Pharmazie 7, 362, 1952;
5. Reimers F. Quart. J. Pharm. Pharmacol. 21, 470, 1948;
6. Revol L., Nouvel, G., Fosse G.: Trav. Soc. pharm. Montpellier 14, 1954;
7. Coverg: Lucrările Academiei Agricole Lenin 1, 1, 1949;
8. Romeike A.: Pharm. Zhalle 51, 80, 1952;
9. Colby A. B., Beal J. L.: J. Amer. Pharm. Assoc. Sci. Ed. 41, 351, 1952.
10. Coiciu E., Săveanu T., Pușcaru E., Cruceanu I., Sterescu M.: Academia R.P.R. Lucrările Sesiunii generale științifice 1950;
11. Eder R., Ruckstuhl: Pharm. Acta Helv. 1943;
12. Constantinescu D., Gr. Bercovici M. (comunicare personală);
13. Csedő K., Fülöp L.: Ertesítő, Tg. Mureș, 2, 1956;
14. Groen N. J. A.: Acta Pharm. Internat. 1, 1950, 1;
15. Evans W. C., Partridge M. W.: J. Pharmacy and Pharmacology 3, 10, 1953

#### МИКРОХИМИЧЕСКИЙ СПОСОБ ОПРЕДЕЛЕНИЯ ВСЕХ АЛКАЛОИДОВ В БЕЛЛАДОННЕ (*Atropa Belladonna* L.)

Г. Рац, К. Челе

Разработан метод скоростного определения всех алкалоидов в белладонне на основе способа определения кислот и щелочей, разработанного Ковергом. Сущность данного метода заключается в следующем процессе: выделение алкалоидов из солей гидратом окиси аммония, экстрагирование алкалоидов эфиром, удаление метилэскулина и водной фазы путем циркуляции через колонну с окисью магния и сульфатом натрия, удаление растворителя и летучих оснований на водяной бане или в сушильном шкафу при 100—105° С, растворение осадка в хлороформе, добавление определенного количества серной кислоты N/100, удаление хлороформа, титрование избыточной кислоты гидратом окиси натрия N/100 в ультрафиолетовом свете при наличии сульфата хирина как индикатора. При наличии хлорофила титрование производится в эфире.

#### UNE METHODE DE DETERMINATION MICROCHIMIQUE DES ALCALOIDES TOTAUX DE BELLADONE (*ATROPA BELLADONNA* L.)

G. Răcz et K. Csedő

Les auteurs ont mis à point un procédé de détermination rapide de la quantité d'alcaloïdes totaux de belladonne, en prenant comme point de départ la méthode acid-alcalimétrique élaborée par Coverg.

Le principe du procédé décrit est le suivant:

La libération des alcaloïdes contenus dans les sels d'hydroxyde d'ammonium, l'extraction des alcaloïdes avec de l'éther, l'élimination de la méthylesculine et de la phase aqueuse par le passage sur une colonne d'oxyde de magnésium et sulfate de sodium, l'élimination du solvant et des bases volatiles sur bain-marie, respectivement dans l'étuve à 100—105° C, la dissolution du résidu dans du chloroforme, l'addition d'une quantité connue d'acide sulfurique n/100, l'élimination du chloroforme, le retitrage de l'excès d'acide avec de l'hydroxyde de sodium n/100 à la lumière ultra-violette dans la présence du sulfate de quinine comme indicateur. Dans la présence de la chlorophylle on effectue le titrage sous l'éther.

---