

Catedra de chimie farmaceutică a I.M.F. din Tîrgu-Mureş (cond.: prof. L. Mártonfi)

## IDENTIFICAREA MICROCRISTALOSCOPICĂ A ALCALOIZILOR CU NUCLEU TROPANIC

L. Mártonfi, Claudia Szánthó, St. Neumann, Gy. Formanek

Potrivit datelor relatate în studiu lui *Bulenkov* (1), microcristaloscopia este o metodă cunoscută și întrebuințată la identificarea substanțelor, încă în a doua jumătate a secolului al XVII-lea.

Forma cristalelor, constituind o proprietate caracteristică, face posibilă în multe cazuri recunoașterea ușoară a substanțelor, adică diferențierea unora de altele. Cu toate acestea farmacopeele o recomandă numai rareori la analiza medicamentelor. Din Farmacopeea Română, VII (2) lipsește, deși în edițiile anterioare au figurat examinări de

această natură. Cauza probabilă a acestui fapt constă în aceea că examinarea chimică pare a fi mai simplă și mai sigură. Cu toate că în general aceasta este situația, totuși microcristaloscopia are avantaje, care în anumite cazuri îi asigură o anumită superioritate față de metodele chimice, de exemplu în recunoașterea combinațiilor organice cu structura înrudită — avind și proprietăți chimice asemănătoare — mai ales dacă identificarea trebuie făcută din cantități mici. În literatura de specialitate mai nouă, găsim tot mai multe lucrări consacrate acestei probleme. Metode de identificare microcristaloscopică au elaborat după cum urmează: *Rubcov* (5), pentru carbocolină și acetilcolină; *O. P. Knijko* (6), pentru sulfamide; *S. Pfeijer* (7), pentru alcaloizii din opiu; *H. Kala* (8), pentru alcaloizii cu structură purinică și pentru diureticele artificiale; *Artesan și colab.* (9), pentru alcaloizii purinici, — cu diferite substanțe precipitante. *Figurovski* și colab. (10), *Pozdniakova* (11), *Nikolică* (12, 13) și *Rappaport* (14) aplică simple recristalizări la identificarea microcristaloscopică a diureticelor grupe de medicamente.

Pentru identificarea microcristaloscopică a alcaloizilor cu nucleu tropanic, am găsit relativ puține date în literatura de specialitate ce ne-a stat la dispoziție. Manualul lui *Lebeau* (14) amintește identificarea microcristaloscopică a atropinei cu acid picric, a hiosciaminei cu clorură de aur, a scopolaminei cu soluție de brom-bromură, a cocainei cu acid picric și clorură de aur, lăra a publica însă figurile cristalelor respective. *Perelman—Brodski* (16) indică identificarea atropinei cu apă de brom și a cocainei cu permanganat de potasiu. *Korenmann* (17) relatează identificarea atropinei cu soluție de brom-bromură și cu ferocianură de potasiu, iar a cocainei cu clorură de aur și cu clorură de platină. Manualul de toxicologie al lui *Gonzales* (18) — în care am găsit cele mai multe date — recomandă acidul picric pentru identificarea microcristaloscopică a atropinei și a hiosciaminei, clorură de aur pentru hiosciamină și scopolamină și reactivul Mayer pentru identificarea microcristaloscopică a homatropinei. Aceste lucrări nu conțin însă decât date izolate și se ocupă numai incidental cu identificarea microcristaloscopică a combinațiilor cu nucleu tropanic, întrebunțate în terapeutică. Necesitatea unui studiu sintetic e justificată de faptul că combinațiile cu structură înrudită formează deseori cu același reactiv, formați cristalină asemănătoare, așa cum arată și *Pozdniakova* (4) tocmai în cursul cercetărilor făcute cu alcaloizii din solanacee.

Considerăm că identificarea microcristaloscopică a alcaloizilor din solanacee — atropina, hiosciamina și scopolamina — care formează obiectul principal al cercetărilor noastre, este importantă deoarece diferențierea acestora pe cale exclusiv chimică, este și astăzi o problema nerezolvată. Probele Vitali, Wasicky și Guglielmo, care servesc la identificarea lor, dau același rezultat la toți cei trei alcaloizi (19, 15). De aceea pentru diferențierea lor trebuie aplicate metode fizice. Se recomandă, în acest scop, în primul rând determinarea puterii rotatoare și a punctului de topire a picraților și a cloroaurăților lor (15). După cum am amintit, datele referitoare la identificarea microcristaloscopică sînt incomplete. Așa fiind, am crezut că e necesar să ne ocupăm detaliat de aceasta problemă, cu atât mai mult, cu cît identificarea microcristaloscopică a alcaloizilor tropanici pare a fi mai simplă și mai sigură, decît identificarea pe baza puterii rotatoare, sau a punctului de topire. Cercetările noastre îmbrățișează nu numai alcaloizii din solanacee, ci și ceilalți doi alcaloizi cu nucleu tropanic — cocaina și homatropina — oficiale în Farmacopeea Română, VII, cu toate că aceștia se pot diferenția de alcaloizii din solanacee și pe cale chimică.

### Partea experimentală

În examinări anterioare, bazate pe datele din literatură, am încercat 30 de fabrica, „Galenica“, *Hyoscyaminum sulfuricum* și *Scopolaminum hydrobromicum* Merck și *Homatropinum hydrobromicum* precum și *Cocainum hydrochloricum* de origine necunoscută de noi, procurat prin Oficiul Farmaceutic.

În examinări anterioare, bazate pe datele din literatură, am încercat 30 de reactivi; dintre aceștia am găsit că cei mai corespunzători pentru identificarea microcristaloscopică a alcaloizilor din solanacee sînt următorii:

- sare Reinecke —  $\text{Cr}/\text{NH}_3/2/\text{SCN}/4/\text{NH}_4.\text{H}_2\text{O}$  — în soluție apoasă de 0,5%: brom-bromura de potasiu, în soluție; 1 g bromură de potasiu se dizolvă în 10 ml apă de brom saturată;
- iod-iodura de potasiu, în soluție; 0,20 g iod și 0,40 g iodură de potasiu în 10 ml apă;
- clorura de aur, în soluție; 0,20 g tricolorură de aur se dizolvă în 10 ml acid clorhidric 0.1 n;
- acidul picric, soluție, amestec format din soluție alcoolică saturată de acid picric, conținând 5% glicerină și dintr-un volum egal de apă;
- acidul stiftic — 2,4,6-trinitro-resorcină — 1% în soluție alcoolică;
- acidul picrolonic — 1-/p-nitro-fenil/-3-metil-4-nitro-5-pirazolona — 1% în soluție apoasă.

Am considerat identificarea microcristaloscopică a alcaloizilor din solanacee, drept o completare a identificării chimice, în primul rând a probei Vitali, și de aceea nu am urmărit să determinăm sensibilitatea reacțiilor și a folosirii acestora, ci am întrebuițat soluțiile sărurilor de alcaloizi într-o concentrație, în care formarea cristalelor se produce repede și în mod caracteristic. Am constatat că cele mai corespunzătoare în acest scop sînt soluțiile de săruri de alcaloizi de 0.5% și 1%.

Am picurat pe lamă, cîte o picătură, cam de același volum, din soluția apoasă a sărurilor de alcaloizi și din reactiv; am amestecat bine picăturile cu lamela, apoi le-am acoperit și le-am examinat la microscop, la o mărire de 70 și de 150 de ori. Cei mai mulți reactivi au format cu sărurile de alcaloizi mai întii precipitate amorfe, în care după cîteva minute a început formarea cristalelor. Probele în care timp de 5 minute nu am observat formarea de cristale, le-am considerat negative.

Intrucît în experiențele noastre am cercetat formațiile cristaline date de diverșii alcaloizi cu nucleu tropanic, în prezența aceluiași reactiv, rezultatele obținute au fost grupate după reactivii aplicați.

#### Rezultate.

1. *Sarea Reinecke*, în soluție de 0,5% proăspăt preparată, formează cu soluția apoasă de 0,5% a sărurilor de alcaloizi un precipitat amorf, din care se separă formați cristaline, caracteristice, cu excepția cocainei, al cărei precipitat rămîne amorf. Reacția este pozitivă și într-o soluție de 0,1%.

— Cristalele de reineckat de atropină, apar după 3—4 minute, în formă de virf de lance cu marginile dințate, unite în cele mai multe cazuri în formații cu 3—4 ramuri (fig. 1 a.).

— Cristalele de reineckat de hiosciamină se separă din precipitatul amorf după un minut-două; formațiile seamănă cu cele ale reineckatului de atropină, dar sînt mai puțin regulate, cu ramuri mai subțiri și mai dințate (fig. 1 b.).

— Cristalele de reineckat de scopolamină apar după 2—3 minute, în formații asemănătoare cu ale hiosciaminei, dar mai mici (fig. 1 c.).

— Cristalele de reineckat de homatropină apar după 2—3 minute și sînt asemănătoare cu ale atropinei, dar mai mici și au formații mai puțin ramificate (fig. 1 d.).

2. *Brom-bromura de potasiu*, în soluție, formează cu soluțiile 1% ale sărurilor de alcaloizi amintiți un precipitat amorf, de culoare galbenă, care devine imediat cristalin în cazul atropinei, hiosciaminei și homatropinei; în cazul scopolaminei formațiile cristaline apar numai după 3—4 minute, în cimpurile limpezite ale preparatului, mai ales la marginile lamelei. În cazul cocainei nu am observat formare de cristale.

— Atropina se separă în cristale aciculare, galbene, izolate de obicei și frumos dezvoltate (fig. 2 a.).

— Hiosciamina formează lamele cristaline triunghiulare, mărunte, caracteristice, aranjate foarte des (fig. 2 b.).

— Scopolamina dă formații cristaline, unite în formă de prisme rombice. În preparat se găsesc formații unice și concreșcute în stele neregulate (fig. 2 c.).



a) atropină

c) scopolamină

Fig. nr. 1.

IDENTIFICAREA MICROCRISTALOSCOPICĂ...



b) hiosciamină



d) cocaină

- Cu sare Reinecke în soluție



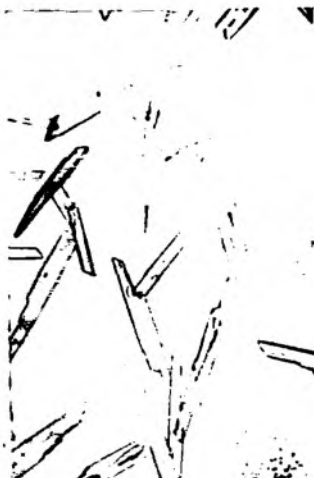
a) atropină



b) hiosciamină



c) scopolamină



d) homatropină



Fig. nr. 2. - Cu brom - bromură de potasiu in soluție



a) atropină



b) homatropină

Fig. nr. 3. - Cu iod - iodură de potasiu în soluție



a) atropină



b) hiosciamină

Fig. nr. 4. - Cu clorură de aur în soluție



c) scopolamină



d) homatropină



c) cocaină

Fig. nr. 4. - Cu clorură de aur în soluție





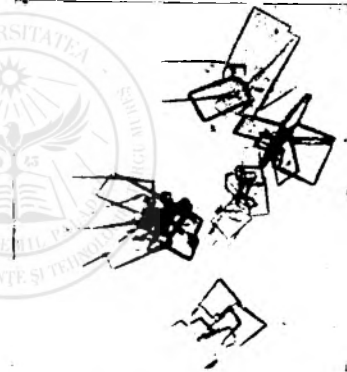
a) atropină



b) hiosciamină



c) scopolamină



d) homatropină



e) cocaină

Fig. nr. 5. - Cu acid picric în soluție



a) atropină



b) hiosciamină



c) homatropină

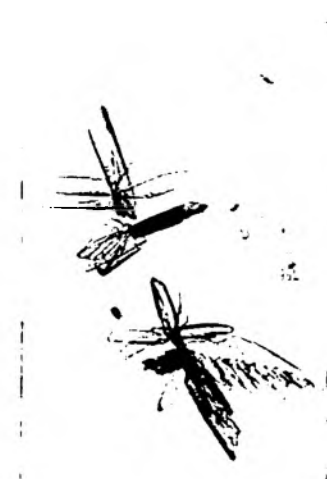
Fig. nr. 6. - Cu acid picrolonic in soluție



a) atropină



b) hiosciamină



c) homatropină



d) cocaină



Fig. nr. 7. - Cu acid stifnic în soluție

— Homatropina formează cristale aciculare, galbene, asemănătoare cu ale atropinei, dar mai mari și lamiforme. Cristalele sînt separate, mai rar unite, în formă de Y sau X (fig. 2 d.).

3. *Iod-iodura de potasiu*, în soluție, formează cu soluțiile 1% ale sărurilor de alcaloizi amintiți, precipitate amorfe, din care — peste un minut—două — se separă formații cristaline brune, în cazul atropinei și homatropinei. În cazul hiosciaminei, scopolamnei și cocainei, nici după 5 minute nu am observat formare de cristale.

— Atropina dă formații cristaline neregulate, mărunte și foarte des aranjate (fig. 3 a.).

— Homatropina se separă în formații steliforme, neregulate, mărunte, care cresc rapid, organizându-se în formații ramificate (fig. 3 b.).

4. *Clorura de aur*, în soluție, formează cu sărurile alcaloizilor cu nucleu tropanic, în soluție de 1%, precipitate amorfe, de culoare galbenă, din care, în cazul cocainei apar imediat, formații cristaline, cu aspect caracteristic, de culoare galbenă; în cazul atropinei și scopolamnei aceste formații apar după un minut—două, iar în cazul hiosciaminei și homatropinei după 2—3 minute.

— Cloroauratul de atropină apare în formații cristaline, cu suprafață aspră, neregulate, ramificate steliform (fig. 4 a.).

— Cloroauratul de hiosciamină se separă în formă de cristale lamelare, unite în grămezi neregulate (fig. 4 b.).

— Cloroauratul de scopolamină formează cristale frumos dezvoltate, așezate neregulat, steliform (fig. 4 c.).

— Cloroauratul de homatropină apare sub formă de cristale frumos dezvoltate, concreșcute în formații diferite, alături de care se observă și formații asemănătoare cu pămătuferi de vată, compuse din cristale aciculare, foarte fine (fig. 4 d.).

— Cloroauratul de cocaină dă la început formații mărunte, steliforme, care cresc repede, aranjindu-se în formă de ramuri de brad (fig. 4 e.).

5. *Acidul picric*, în soluție, formează cu sărurile alcaloizilor cu nucleu tropanic, în soluție de 0,5%, precipitate amorfe, de culoare galbenă. La microscop vedem la început grăunțe uniforme, iar după un minut—două, în cîmpurile limpezite ale preparatului, apar formații cristaline galbene, frumos dezvoltate.

— Picratul de atropină formează cristale subțiri, lamelare, patrute, unite în rozete destul de regulate, care cresc rapid (fig. 5 a.).

— Picratul de hiosciamină apare sub formă de cristale lamelare, dreptunghiulare, regulate, grupate ramificat (fig. 5 b.).

— Picratul de scopolamină se separă în cristale aciculare galbene, care cresc repede, grupate în formă de evantai neregulat (fig. 5 c.).

— Picratul de homatropină se separă în formații asemănătoare cu ale picratului de atropină dar cu lamelele cristaline dreptunghiulare, mai groase și din această cauză mai intens galbene și mai bine conturate (fig. 5 d.).

— Picratul de cocaină, formează cristale aciculare caracteristice, care cresc repede și umplu cîmpul vizual microscopic cu formații încalcite, ramificate stufoș (fig. 5 e.).

6. *Acidul picrolonic*, în soluție apoasă de 1%, formează cu sărurile alcaloizilor enumerați în soluție de 1%, un precipitat amorf, în care apar formații cristaline numai în cazul atropinei, hiosciaminei și homatropinei. Formarea cristalelor începe destul de greu, dar o putem accelera, în 2—3 minute, luînd soluția de analizat în exces (2 pic. soluție, 1 pic. reactiv) și amestecînd picăturile — încă înainte de așezarea lamelei — prin mișcarea lamei.

— Picrolonatul de atropină apare în cristale lamelare, în formă de aripă de insectă, așezate foarte caracteristic în formații steliforme, care cresc repede (fig. 6 a.).

— Picrolonatul de hiosciamină apare în formații cristaline caracteristice, care seamănă cu mușchii (fig. 6 b.).

— Picronatul de homatropina se separă în cristale fine aciculare, care pornind dintr-un punct, dă formații de pensulă (fig. 6 c.).

7. *Acidul stiftic*, în soluție alcoolică 1%, formează cu soluția apoasă de 0,5% sau 1% din sărurile alcaloizilor enumerați, precipitate amorfe, de culoare galbenă, din care

se separă cristale după un minut—două, cu excepția stîfnatului de scopolamină, care rămîne amorf și peste 5 minute. Luăm volume egale din soluția de controlat și din reactiv (cîte 1 pic.); reactivul poate fi în mic exces. Formarea cristalelor pornește destul de greu, dar o putem grăbi prin amestecarea picăturilor, mișcînd lama.

— Stîfnatul de atropină apare sub formă de lamele cristaline, concrescute, de culoare galbenă. Formațiile seamănă cu cele ale picratului de atropină, dar sînt mai neregulate, conturate mai pronunțat și cresc mai încet (fig. 7 a.).

— Stîfnatul de hiosciamină se separă sub formă de cristale prizmatice, galbene, ramificate dintr-un anumit punct. Formațiile mărunte care apar la început au un aspect foarte caracteristic și cresc destul de repede. De multe ori apar forme de evantai cu mîner, mai rar formații steliforme (fig. 7 b.).

— Stîfnatul de homatropină apare în formații steliforme, compuse din lamele rom-bice, printre care se pot observa și forme de aripi (fig. 7 c.).

— Stîfnatul de cocaină apare sub formă de cristale aciculare, pornite dintr-un punct, în cîmpurile limpezite ale preparatului. Formațiile cresc repede și ramificîndu-se tufoș umplu tot cîmpul vizual microscopic (fig. 7 d.).

Din toate acestea rezultă că reactivii aplicați formează cu majoritatea alcaloizilor cu nucleu tropanic, reacții microcristaloscopice, de natură să servească la identificarea alcaloizilor și anume:

— clorura de aur și acidul picric cu toți cei cinci alcaloizi;

— sarea Reinecke și brom-bromura de potasiu, în soluție, cu alcaloizii din solanacee și cu homatropina;

— acidul picrolonic cu atropina, hiosciamina și homatropina;

— acidul stîfnic, cu atropina, hiosciamina, homatropina și cocaina;

— acidul picrolonic, cu atropina, hiosciamina și homatropina;

— iod-iodura de potasiu, în soluție, cu atropina și cu homatropina.

Relevăm că brom-bromura de potasiu, în soluție, clorura de aur și acidul picrolonic și stîfnic, neamintiți în literatură în legătură cu alcaloizii tropanici studiați, sînt reactivii cei mai potriviți pentru identificarea alcaloizilor din solanacee, nediferențiabili prin metode chimice.

Cu toate că reacțiile microcristaloscopice enumerate sînt foarte caracteristice, și apar întodeauna în aceeași formă. În împrejurările date (ceea ce am controlat prin 20—30 de reproduceri), totuși, pentru evitarea erorilor eventuale, se recomandă o orientare anticipată cu o reacție chimică generală (de exemplu proba Vitali) și executarea reacției microcristaloscopice a unei substanțe cunoscute care servește drept control.

Identificarea microcristaloscopică are însemnătate mai ales în cazul alcaloizilor din solanacee; propunem introducerea ei în Farmacopeea Romină VIII, pentru identificarea lui *Atropinum sulfuricum* și *Scopolaminum hydrobromicum*, pe lîngă proba Vitali.

*Sosit la redacție: 18 iunie. 1962.*

#### Bibliografie

1. BULENKOV: Apt. Delo, 1960, 6, 71; 2. FARMACOPEEA ROMINA ed. VII-a, 1956; 3. FARM. ROM. ed. VI-a, 1948; 4. POZDNIAKOVA: Med. Prom. 1957, 9; 5. RUBKOV: Apt. Delo, 1959, 5; 6. KNIJKO O. P.: Apt. Delo, 1956, 2, 13; 7. PFEIFER S.: Die Pharmazie, 1960, 4, 196; 8. KALA H.: Die Pharmazie, 1960, 11, 662; 9. ARIEȘAN și colab.: Revista Med. 1961, 3; 10. FIGUROVSKI N. A.: Apt. Delo 1957, 5, 46; 11. POZDNIAKOVA: Apt. Delo 1953, 1, 32; 12. NIKOLICS: Acta Pharm. Hung. 1960, 6, 256; 13. NIKOLICS: Acta Pharm. Hung. 1961, 5, 197; 14. RAPPAPORT L. J.: Zsurnal analit. chimi. 1956, 4; 15. LEBEAU: Traité de pharmacie chimique, Tome IV, 1955—56; 16. PERELMAN—BRODSCHI: Analiza formelor medicamentoase. Moscova, 1950, București, 1952; 17. KORENMAN I. M.: Microcristalloscopia, Moscova, 1955; 18. GONZALES, VANCE, HELPERN: Legal medicine. Pathology and Toxicology, 1957; 19. ABDERHALDEN E.: Handbuch der biologischen Arbeitsmethoden. Abt. IV. Teil 7 c. Heft. 5.