

CCA - 113

547.943:547.775:545.1

Kvantitativno određivanje kodeina i aminopirina u smjesama nakon frakcioniranog odjeljivanja pomoću »kalignosta«

M. Kranjčević i V. Broz-Kajganović

Zavod za ispitivanje i kontrolu lijekova, Zagreb

Primljeno 6. kolovoza 1957.

U ovom radu ispitana je mogućnost primjene »kalignosta« za odjeljivanje kodein-fosfata i aminopirina u smjesi, u kojoj su zastupane obje supstancije, zatim u smjesi s fenacetinom i kofein-natrijevim benzoatom.

Pri određivanju potrebnih uvjeta ustanovljeno je, da se frakcioniranim taloženjem najprije istaloži, u alkalnom području (pH 10), kodein-fosfat, a zatim, u slabo kiselom (pH 4—5), aminopirin. Na ovom principu izvršeno je mikroodređivanje kodein-fosfata i aminopirina u spomenutim smjesama.

UVOD

Otkako su Wittig i suradnici¹ uveli u analitičku kemiju natrijev tetrafenilborat (skraćeno »kalignost«, jer je služio u prvome redu za određivanje kalija) kao novi reagens, njegova je primjena zauzela dosta široko područje i u anorganskoj i u organskoj analizi. To su pokazali svojim radovima: Wittig¹, Raff i W. Brotz², Flaschka³, W. Rüdorff, H. Zannier⁴, M. Kohler⁵, O. E. Schultz i H. Goerner⁶, R. Rutkowski⁷, M. Pahlow⁸ i mnogi drugi.

»Kalignost« se danas upotrebljava međutim i izvan područja analitičke kemije, i to kao pomoćno sredstvo pri izoliranju različitih organskih važnih spojeva, na pr.: holina i acetilholina⁹, radovi na ovom području još su međutim u početnoj fazi.

U ovom radu iznosimo, kako smo pokušali primijeniti »kalignost« za kvantitativno određivanje aminopirina i kodein-fosfata u smjesi, u kojoj se nalaze obje supstancije jedna uz drugu, a onda i u takvoj smjesi, u kojoj se, uz aminopirin i kodein-fosfat, nalaze još i fenacetin i kofein-natrijev benzoat.

Primjena »kalignosta« u spomenutim slučajevima s analitičkog je stajališta zanimljiv problem, i to s dva razloga: 1. Objе supstancije talože se s »kalignostom«, pa je zbog toga bilo potrebno odrediti uvjete, uz koje će biti moguće provesti odjeljivanje i kvantitativno određivanje svake pojedine supstancije; 2. Ovakvo rješenje potrebno je potražiti zato, jer dosadašnje metode¹⁰, koje primjenjuju »kalignost«, određuju spomenute supstancije samo u čistom stanju ili pak u smjesama, u kojima je zastupana samo po jedna od njih.

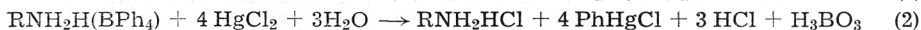
EKSPERIMENTALNI DIO

U ovom dijelu ponajprije smo pokušali ustanoviti, da li postoji kakva razlika između kodein-fosfata i aminopirina u pogledu njihova vladanja prema »kalignostu«. Ispitivanja u ovom pravcu bilo je potrebno provesti zato, što u dosadašnjim radovima

ne nalazimo korisnih podataka koji bi nam mogli poslužiti pri odjeljivanju dviju organskih baza, koje se talože s »kalignostom«. Da bi se ta razlika mogla što bolje uočiti, izvršili smo određivanje titra kodein-fosfata i aminopirina »kalignostom«. Određivanje je izvršeno u vodenim rastopinama, koje u 50 ccm sadrže oko 0.03 g kodein-fosfata, odnosno isto toliko aminopirina, i to u 5 ccm rastopine (= oko 0.003 g kodein-fosfata ili isto toliko aminopirina). Pri određivanju primijenjen je postupak, što su ga uveli A. F. Flaschka, A. Holasek i A. F. Amin¹⁰. Pokusi su provedeni s bezvodnim kodein-fosfatom, jer se sadržaj kristalne vode stajanjem na zraku neprestano mijenja. Obje supstancije po čistoći odgovaraju zahtjevima Ph. Jug. II.¹¹ i Ph Helv. V.¹².

Taloženje je izvršeno s vodenom rastopinom »kalignosta«, koja se priprema tako, da se na 1.000 ccm rastopine doda 0.4 ccm 0.2 N AlCl₃ rastopine, nakon čega se profiltrira. Zbog povećanja stabilnosti rastopine postavi se pH na 6.5—7.5.

Prema osnovnom principu, koji vrijedi općenito za kvantitativna određivanja »kalignostom« (Wittig i Raff), određivanje teče u dvije faze: u prvoj se stvara kompleksni spoj definiranog sastava, a u drugoj se taj kompleks razara merkurikloridom, kod čega se oslobađa solna kiselina prema jednadžbi:



Budući da je za odjeljivanje kodein-fosfata od aminopirina važan proces taloženja, t. j. prva faza, pokušali smo ispitati kakav utjecaj vrši aktuelni aciditet na tok procesa u prvoj fazi. U tu svrhu proveli smo taloženje posebno kodein-fosfata i posebno aminopirina u alkalnom području pri pH 10 i u slabo kiselom području pri pH 4—5.

Rezultate provedenih pokusa pokazuju nam tablica I. i tablica II.

TABLICA I — TABELLE I

Određivanje titra kodein-fosfata pri pH 4—5 i pH 10
Titerbestimmung des Kodeinphosphats beim pH-Wert 4—5 und pH-Wert 10

Pokus br. Versuch Nr.	Kodein-fosfat (bezvodni) Kodeinphosphat (wasserfrei)				
	odvaga Einwaage mg	nađeno gefunden mg	nađeno gefunden %	pogreška Fehler %	pH pH-Wert
1	3,07	3,06	99,67	— 0,33	4—5
2	3,02	2,99	99,00	— 1,00	„
3	3,03	3,02	99,66	— 0,34	„
4	3,04	3,02	99,34	— 0,66	„
5	3,04	3,02	99,34	— 0,66	„
6	2,00	2,01	100,50	+ 0,50	10
7	2,00	1,99	99,50	— 0,50	„
8	2,00	2,03	101,50	+ 1,50	„
			99,81		

Rezultati prikazani u tablici I. dobiveni su taloženjem kodein-fosfata u alkalnom (pri pH 10 pokusi 6, 7 i 8) i u slabo kiselom području (pri pH 4—5).

TABLICA II — TABELLE II

Određivanje titra aminopirina pri pH 4—5
Titerbestimmung des Pyramidon beim pH-Wert 4—5

Pokus br. Versuch Nr.	Aminopirin Pyramidon				
	odvaga Einwaage mg	nađeno gefunden mg	nađeno gefunden %	pogreška Fehler %	pH pH-Wert
9	2,70	2,69	99,63	— 0,37	4—5
10	2,70	2,69	99,63	— 0,37	„
11	2,61	2,61	100,00	± 0,00	„
12	2,61	2,63	100,76	+ 0,76	„
13	2,92	2,95	101,03	+ 1,03	„
			100,21		

Prema nađenom titru kodein-fosfat je 99.81%-tni. Sve se pogreške kreću u granicama od —1% do + 0.50%. (Pogreška od + 1.5% može se — prema broju provedenih pokusa — smatrati slučajnom).

Rezultati u tablici II., koji nam pokazuju određivanje titra aminopirina, dobiveni su u slabo kiselom mediju (pri pH 4—5). Kod 5 provedenih pokusa pogreške se kreću unutar granica od — 0.37% do + 1.03%, a prema dobivenom titru aminopirin je 100.21%-tni. Pri taloženju aminopirina u alkalnom području (pri pH 10) nije dobiven nikakav talog; dobiven je samo slabo opalescentan mutež, koji se javlja tek pri duljem stajanju. Nakon dva sata stajanja zamućenje je još uvijek tako slabo, da pri filtraciji ne ostavlja na filtru nikakva taloga.

Na temelju dobivenih rezultata, koji su prikazani u tablicama I. i II., možemo reći, da je razlika u vladanju između kodein-fosfata i aminopirina prema »kalignostu« jasna. Ta se razlika sastoji u ovom: taloženje aminopirina s »kalignostom« teče prema jednadžbi (1) kvantitativno samo u slabo kiselom području, pri pH 4—5, a taloženje kodein-fosfata teče kvantitativno i u slabo kiselom i u slabo alkalnom području

Odjeljivanje i kvantitativno određivanje kodeina i aminopirina u smjesi

Princip, na kojem smo pokušali izraditi metodu odjeljivanja i kvantitativnog određivanja obiju supstancija, sastoji se u frakcioniranom taloženju, pri kojemu se najprije u slabo alkalnom mediju istaloži kodein-fosfat, a zatim u slabo kiselom aminopirin.

Postupak. Odvagnemo točno oko 0.3 g aminopirina i oko 0.02 g kodein-fosfata (bezvodnog) i prenesemo u odmjernu tikvicu od 50 ccm, te nadopunimo vodom do marke. Od toga razrjeđenja otpipetiramo 5 ccm rastopine (= 0.03 g aminopirina i 0.002 g kodein-fosfata) i prenesemo u čašicu od 50 ccm. Dodajući 0.01 N NaOH udesimo aktualni aciditet rastopine na pH 10 (mjeranjem na pH-metru), a zatim je ugrijemo na 70° C, te — uz neprestano miješanje — dodamo 0.5 ccm rastopine »kalignosta«. Poslije toga rastopinu ostavimo da stoji dva sata pri sobnoj temperaturi, da stvoreni talog kodein-tetrafenil-borata što bolje koagulira. Stvoreni talog profiltriramo kroz Goochov A₂ filter, a filtrat hvatamo u posebni predložak. Posudica, u kojoj je izvršeno taloženje i talog na filtru isperemo 2—3 puta s 3—4 kapi vode, vodu isušimo tako, da talog postane gotovo suh. Filtrat i voda, kojom je izvršeno ispiranje, posebno spremimo, jer ćemo u filtratu provesti određivanje

aminopirna. Talog na Goochovu filtru otopimo u ukupno 4 ccm acetona, tako da tom količinom najprije isperemo i posudicu za taloženje. Acetonskoj rastopini kodein-tetrafenilborata dodamo 1 ccm zasićene rastopine HgCl_2 ; rastopinu kvantitativno prenesemo u Erlenmeyerovu tikvicu od 100 ccm (uz upotrebu 20 ccm vode). Nakon toga rastopini dodamo 5 ccm 0.01 N NaOH i 4 kapi metilnoga crvenila, pa je zatim ugrijemo do vrenja. Vreloj otopini dodamo 1 ccm rastopine KJ (20%-tne) i, poslije ponovnog grijanja do vrenja, suvišak lužine titiramo s 0.01 N HCl.

Kalijev-jodid ima zadaću da veže živu iz suvišnog HgCl_2 u slabo disocirani kompleks HgJ_4^- , a fenil-žvivan klorid u teško topljivi spoj, kako ne bi smetali kod titracije.

Paralelno s glavnim pokusom provedemo i slijepi pokus, uz upotrebu istih količina reaktiva, ali bez dodavanja »kalignosta«. Iz razlike u potrošku kiseline izračunamo količinu 0.01 N NaOH, koja je potrebna za neutralizaciju kiseline oslobođene reakcijom kodein-tetrafenilborata i zasićene rastopine HgCl_2 .

Filtrat, što ga dobijemo pri određivanju kodein-fosfata i koji sadrži aminopirin, prenesemo u odmjernu tikvicu od 50 ccm i nadopunimo vodom do marke. Od te otopine otpipetiramo — za taloženje aminopirina — 5 ccm rastopine (= 0.003 g aminopirina) i stavimo je u posudicu za taloženje; otopinu ugrijemo na 70°C , zakiselimo je dodavši joj nekoliko kapi octene kiseline (1%-tne) i izvršimo taloženje na isti način, kako smo to proveli pri taloženju kodein-fosfata. Dalje je postupak isti kao i pri kodein-fosfatu, s jedinom razlikom, da acetonskoj rastopini aminopirin-tetrafenilborata s 1 ccm zasićene rastopine HgCl_2 , nakon prijenosa u Erlenmeyerovu tikvicu, dodamo — u onim slučajevima, kad se radi o količinama aminopirina od 3 mg — 10 ccm 0.01 N NaOH, a kod količina manjih od 3 mg — 5 ccm 0.01 N NaOH. Titraciju izvršimo uz iste uvjete i na isti način kao i pri određivanju kodein-fosfata. Pri određivanju kodein-fosfata oslobađaju se 3 HCl (kako to razabiremo iz jednadžbe 1 i 2), pa je prema tome:

$$1 \text{ ccm } 0.01 \text{ N HCl} = \frac{2.99}{3} = 0.9967 \text{ mg kodeina, odnosno}$$

$$\frac{3.9737}{3} = 1.3245 \text{ mg kodein-fosfata (bezv.).}$$

Pri izračunavanju količine aminopirina moramo, zbog vrlo slaba baziteta aminopirina i jake hidrolize njegove soli, uzeti u obzir i onu HCl, koja se veže na aminopirin, jer je pri titraciji i taj dio obuhvaćen. Prema tome je:

$$1 \text{ ccm } 0.01 \text{ N HCl} = \frac{2.3129}{4} = 0.5782 \text{ mg aminopirina.}$$

Rezultate, koji su postignuti opisanim postupkom, prikazuje tablica III.

Rezultati, koji su prikazani u tablici, pokazuju nam, da je frakcioniranim taloženjem po opisanom postupku moguće s uspjehom izvršiti odjeljivanje i kvantitativno određivanje kodein-fosfata i aminopirina u smjesi, u kojoj se obje supstancije nalaze zajedno.

Odjeljivanje i kvantitativno određivanje kodeina i aminopirina u smjesi s fenacetinom i kofein-natrijevim benzoatom

Mogućnost primjene »kalignosta« ispitana je na smjesi, koja je imala ovaj sastav: aminopirin, fenacetin aa 0.3 g, kofein-natrijev benzoat 0.1 g i kodein-fosfat 0.02 g.

Postupak. Odvagnemo točno 0.72 g smjese i otopimo u 30 ccm vode. Zbog teške topljivosti fenacetina filtriranjem uklonimo fenacetin, a bistri filtrat prenesemo u odmjernu tikvicu od 50 ccm i nadopunimo vodom do marke. Od ovako pripravljene rastopine, koja sadrži kodein-fosfat, aminopirin i kofein-natrijev benzoat, otpipetiramo 5 ccm (t. j. 0.03 g aminopirina i 0.002 kodein-fosfata), pa u toj količini provedemo odjeljivanje i određivanje kodein-fosfata i aminopirina na isti način, kako je to opisano kod smjese kodein-fosfata s aminopirinom.

Rezultate provedenih pokusa pokazuje tablica IV.

Dobiveni rezultati pokazuju nam, da se pogreške kod određivanja kreću u onim granicama, koje su za takva određivanja dopuštene.

TABLICA III — TABELLE III

Odjeljivanje i kvantitativno određivanje kodeina i aminopirina u smjesi
Trennung und quantitative Bestimmung von Kodein und Pyramidon in einem
Gemisch nebeneinander

Pokus br. Versuch Nr.	Kodein-fosfat (bezvodni) Kodeinphosphat (Wasserfrei)				Aminopirin Pyramidon			
	Odvaga Einwaage mg	nađeno gefunden mg	nađeno gefunden %	pogreška Fehler %	Odvaga Einwaage mg	nađeno gefunden mg	nađeno gefunden %	pogreška Fehler %
14	2,96	2,98	100,67	+0,67	2,00	1,94	97,00	-3,00
15	3,01	3,02	100,33	+0,33	2,01	1,92	95,52	-4,48
16	2,97	2,99	100,67	+0,67	2,00	2,00	100,00	+0,00
17	2,91	2,91	100,00	±0,00	2,00	1,95	97,50	-2,50
18	3,03	2,99	98,68	-1,32	2,01	1,95	97,01	-2,99
19	3,03	2,97	98,02	-1,98	2,01	1,95	97,01	-2,99
20	3,03	3,02	99,67	-0,33	2,01	1,96	97,51	-2,49
21	3,03	2,99	98,68	-1,32	2,01	1,93	96,02	-3,98
22	2,03	2,07	101,97	+1,97	3,01	2,89	96,01	-3,99
23	2,10	2,09	99,52	-0,48	3,00	2,96	98,67	-1,33
24	2,10	2,09	99,52	-0,48	3,00	2,97	99,00	-1,00
25	2,10	2,12	100,95	+0,95	3,00	2,98	99,33	-0,67
26	2,10	2,12	100,95	+0,95	3,00	2,89	96,33	-3,67
27	2,03	2,07	101,97	+1,97	3,00	2,89	96,33	-3,67
28	2,03	2,04	100,49	+0,49	3,00	2,95	98,53	-1,67
29	1,97	2,01	102,03	+2,03	3,00	2,94	98,00	-2,00

TABLICA IV — TABELLE IV

Odjeljivanje i kvantitativno određivanje kodeina i aminopirina u smjesi
s fenacetinom i kofein-natrijevin benzoatom
Trennung und quantitative Bestimmung von Kodein und Pyramidon in einem
Gemisch neben Phenacetin und Koffein-Natriumbenzoat

Pokus br. Versuch Nr.	Kodein-fosfat (bezvodni) Kodeinphosphat (Wasserfrei)				Aminopirin Pyramidon			
	Odvaga Einwaage mg	nađeno gefunden mg	nađeno gefunden %	pogreška Fehler %	Odvaga Einwaage mg	nađeno gefunden mg	nađeno gefunden %	pogreška Fehler %
30	2,00	2,01	100,50	+0,50	3,00	2,97	99,00	-1,00
31	2,00	2,01	100,50	+0,50	3,00	2,97	99,00	-1,00
32	2,00	2,00	100,00	±0,00	3,00	2,96	98,66	-1,34
33	2,00	2,07	103,50	+3,50	3,00	2,89	96,33	-3,67
34	2,00	2,00	100,00	±0,00	3,00	2,89	96,33	-3,67
35	2,00	2,04	102,00	+2,00	3,00	2,87	95,66	-4,34
36	2,00	2,00	100,00	±0,00	3,00	2,89	96,33	-3,67
37	2,00	2,01	100,50	+0,50	3,00	2,90	96,66	-3,34
38	2,00	2,04	102,00	+2,00	3,00	2,90	96,66	-3,34
39	2,00	2,04	102,00	+2,00	3,00	2,89	96,33	-3,67

DISKUSIJA

Rezultati provedenih pokusa pokazuju nam, da proces taloženja, prikazan u jednadžbi (1) pri taloženju kodein-fosfata, teče kvantitativno u alkalnom i slabo kiselom području, a pri taloženju aminopirina samo u slabo kiselom

području. Na osnovu tih razlika provedeno je fraktioniranim taloženjem odjeljivanje kodein-fosfata i aminopirina u smjesi, u kojoj se obje supstancije nalaze zajedno, kao i u smjesi s fenacetinom i kofein-natrijevim benzoatom. Rezultati, koji su dobiveni pri ovom odjeljivanju, promatrani sa stajališta zahtijeva, kakvi se stavljaju na ovakva određivanja, vrlo su dobri. Ti nam rezultati ujedno pokazuju, da se pri taloženju uz opisane uvjete stvaraju, s kodein-fosfatom i aminopirinom, kompleksi definiranog sastava.

Nešto veće razlike, koje su opažene pri određivanju aminopirina u smjesi s kodein-fosfatom, ne mogu se pripisati koprecipitaciji aminopirina pri taloženju kodein-fosfata u alkalnom mediju. Kad bi se to doista događalo, morali bi rezultati za kodein-fosfat biti konstantno previsoki, a eksperimenti pokazuju, da nisu takvi. Očito je, da su te pogreške nastale slučajno.

Opisana metoda na bazi fraktioniranog taloženja pokazala se dakle pouzdanom i točnom, a određivanje možemo uspješno izvesti s vrlo malim količinama supstancija, što je kod ove vrste analitičkog rada vrlo korisno.

LITERATURA

1. G. Wittig, *Liebigs Ann. Chem.* **563** (1949) 114; **573** (1950) 195
2. P. Raff i W. Brotz, *Z. anal. Chem.* **133** (1951) 241
3. H. Flaschka, *Z. anal. Chem.* **136** (1952) 99
4. W. Rüdorf i H. Zannier, *Z. anal. Chem.* **137** (1952) 1
5. M. Kohler, *Z. anal. Chem.* **139** (1953) 9
6. O. E. Schultz i H. Goerner, *Dtsch. Apotheker. Ztg.* **93** (1953) 93
7. R. Rutkowski, *Arzneimittel-Forsch.* **3** (1953) 537
8. M. Pahlow, *Dtsch. Apotheker Ztg.* **93** (1953) 541
9. P. Marquard i G. Vogg, *Z. physiol. Chem. Hoppe-Seyler's* **3** (1952) 291
10. A. F. Flaschka, A. Holasek i A. M. Amin, *Arzneimittel-Forsch.* **4** (1954) 38—40
11. *Pharmacopoea Jugoslavica* II. (1951) str. 239
12. *Pharmacopoea Helvetica* V. Deutsche Ausgabe, (1941) str. 244

ZUSAMMENFASSUNG

Quantitative Bestimmung von Kodein und Pyramidon nach fraktionierte Trennung mit »Kalignost«

M. Kranjčević und V. Broz-Kajganović

Das Grundprinzip der quantitativen Bestimmung mit »Kalignost« nach Wittig und Raff¹ liegt in einer Umsetzung von »Kalignost« mit Quecksilberchlorid, wobei die Salzsäure abgespalten wird.

Bei der Fällung der organischen Basen (wie z. B. Pyramidon und Kodein) wurde zuerst eine Komplexverbindung ganz bestimmter Zusammensetzung gebildet, die dann nach der Umsetzung mit Mercurichlorid die Salzsäure abspaltet.

Bei der Fällung von Pyramidon und Kodeinphosphat mit »Kalignost« haben wir folgendes festgestellt:

Kodeinphosphat wird wie aus schwach alkalischen (pH 10) so auch aus schwach sauren (pH 4—5) wässrigen Lösungen ausgefällt, Pyramidon dagegen nur aus schwach sauren (Tabelle I und II).

Auf Grund dieses Unterschiedes, haben wir mit Erfolg durch die fraktionierte Fällung zuerst die Trennung und dann die massanalytische Bestimmung von Pyramidon und Kodeinphosphat in einer Mischung wo die beiden Substanzen zusammen vorhanden sind (Tabelle III), und in einem Arzneimittellgemisch mit Phenazetin und Koffein-Natriumbenzoat, durchgeführt (Tabelle IV).

Die vorgeschlagene Methode ist zuverlässig, liefert sehr genaue Werte und kann mit Erfolg als eine massanalytische Mikromethode verwendet werden.