

sal no seio de um solvente que permitisse exaltar as suas características básicas, de modo a poder neutralizá-las com o recurso a um dador de prótons. Escolhemos o ácido acético glacial para solvente e o ácido perclórico para titulante.

O equivalente grama, para este caso, será, $PM/2$, pois são duas moléculas de ClO_4H que reagem com uma de ascorbato de cálcio.

Fixámos a seguinte técnica: pese, cuidadosamente, cerca de 0,2 grama da substância e dissolva em 25 ml de ácido acético glacial, a quente, em banho de água; titule, depois de frio, com soluto decinormal de ácido perclórico, usando como indicador solução acética a 0,5 % de azul de oracet B.

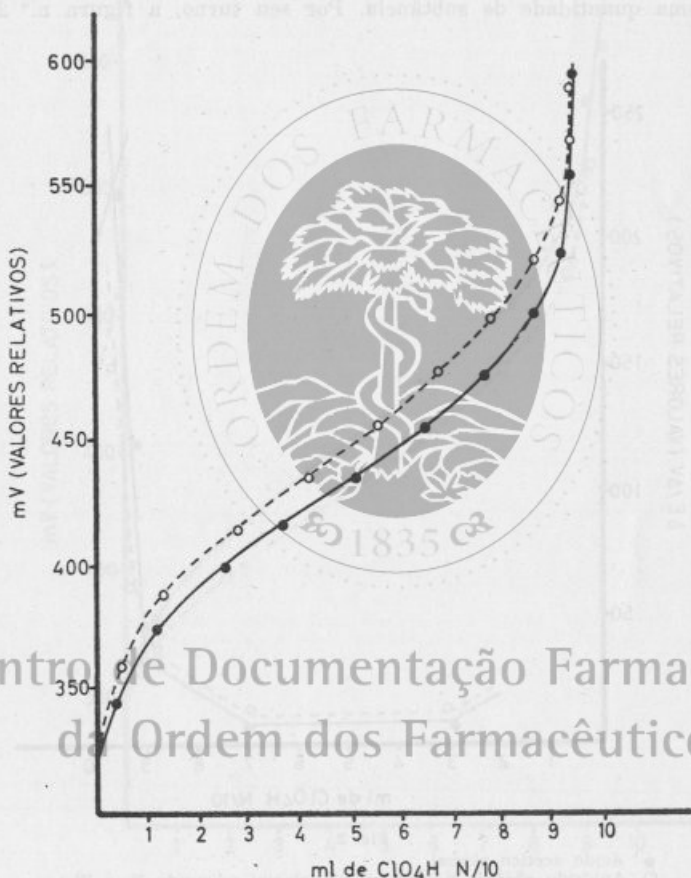


Fig. 1

- Ácido acético glacial
- Anidrido acético + ácido acético glacial (segundo P. e W.)

Cada ml de soluto decinormal de ácido perclórico equivale a 0,021318 g de $(C_6H_7O_6)_2 \cdot Ca \cdot 2OH_2$.

A viragem de azul para vermelho da solução acética de azul de oracet B, coincidiu com o salto de potencial observado ao fazermos, simultaneamente, a titulação potenciométrica.

A este respeito, convém salientar que os valores potenciométricos parciais obtidos, permitindo embora definir com precisão o momento da neutralização, são ligeiramente elevados. Atribuímos esse relativo aumento à presença da água.

No intuito de melhorar a técnica e, conseqüentemente, o aspecto da curva, fizemos vários ensaios introduzindo alterações no solvente e comparando os valores obtidos.

Assim, baseados nos trabalhos de PIFER e WOLLISH (5) sobre a correcção do efeito da água nas titulações protométricas, dissolvemos a amostra em 25 ml de anidrido acético, aquecemos à ebulição durante 5 minutos e adicionamos, posteriormente, 50 ml de ácido acético glacial. A figura n.º 1 permite comparar o salto de potencial verificado nesta titulação com o obtido utilizando somente ácido acético glacial como solvente e trabalhando, em ambos os casos, com a mesma quantidade de substância. Por seu turno, a figura n.º 2 permite

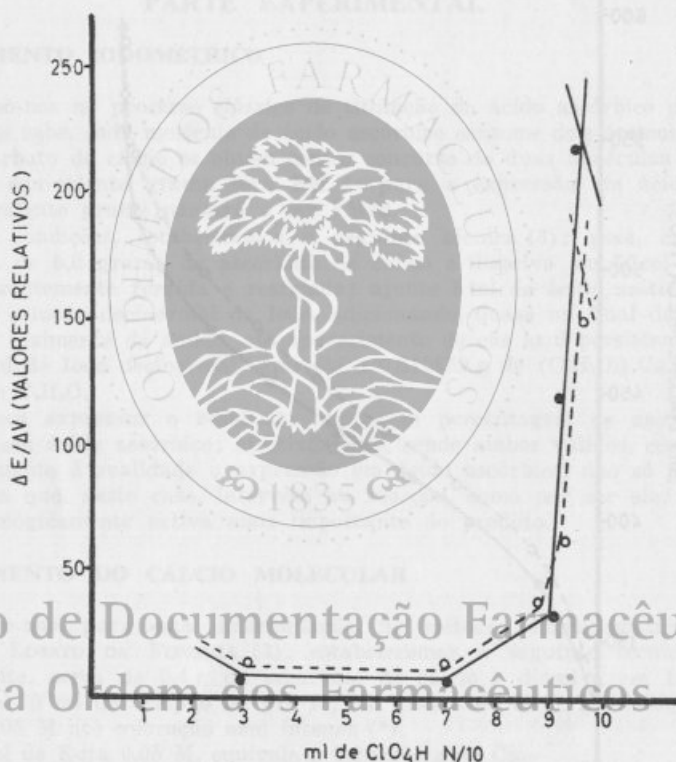


Fig. 2

- Ácido acético glacial.
- Anidrido acético + ácido acético glacial (segundo P. e W.)

individualizar o salto de potencial característico do momento exacto da neutralização, dispondo em ordenadas a razão $\Delta E/\Delta V$ e, em abcissas, volume de titulante. Do seu exame pode concluir-se não haver vantagem na adição de anidrido acético ao solvente. Aliás, o mesmo exame, parece dar razão à hipótese de GALLO e MECARELLI (6), os quais afirmam que o anidrido acético desempenha no processo, não propriamente um papel desidratante, mas sim transformando o ácido perclórico em ácido de actividade iónica mais elevada, cuja fórmula seria $\text{ClO}_4(\text{CH}_3\text{-CO-O-OC-CH}_3)_n \text{H}$. Com efeito, estes autores observaram com o reagente de Karl Fischer que a acção desidratante é lenta e limitada.

Assinale-se, porém, que em ambos os casos o salto do potencial é coincidente.

As figuras n.º 3 e 4 permitem comparar as curvas de titulação de dois outros ensaios baseados nos trabalhos de CHOLVY (7). Com efeito, este A., salientando que a introdução de anidrido acético permite operar com teores aquosos mais elevados e, por outro lado, que a adição de solventes apróticos faz aumentar o salto potenciométrico, recomenda, na prática, utilizar ácido acético p.a. adicionado de anidrido acético e ainda de proporções variáveis de dioxano ou de dicloroetano.

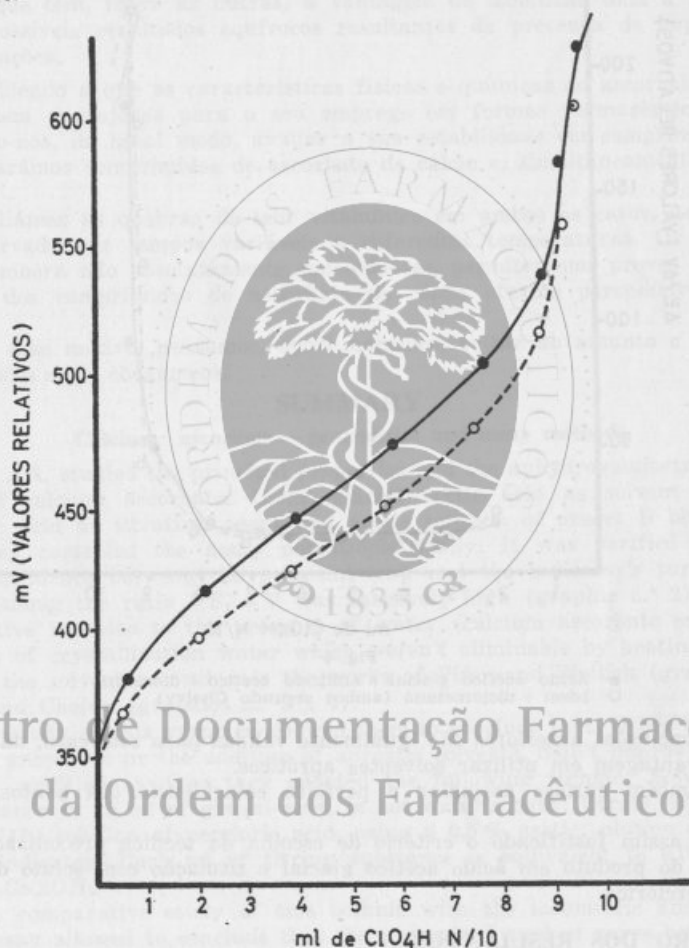


Fig. 3

- Ácido acético glacial + anidrido acético + dioxano
- Idem + dicloroetano (ambos segundo Cholvy)

Nestas condições preparámos dois ensaios em que figuraram, respectivamente, 25 ml de ácido acético glacial + 5 ml de anidrido acético + 20 ml de dioxano; e 25 ml de ácido acético glacial + 5 ml de anidrido acético + 20 ml de dicloroetano + 10 ml de dioxano (*). Utilizámos, em ambos os casos, o mesmo peso do produto.

(*) A adição de dioxano tornou-se necessária para permitir a completa dissolução da substância.

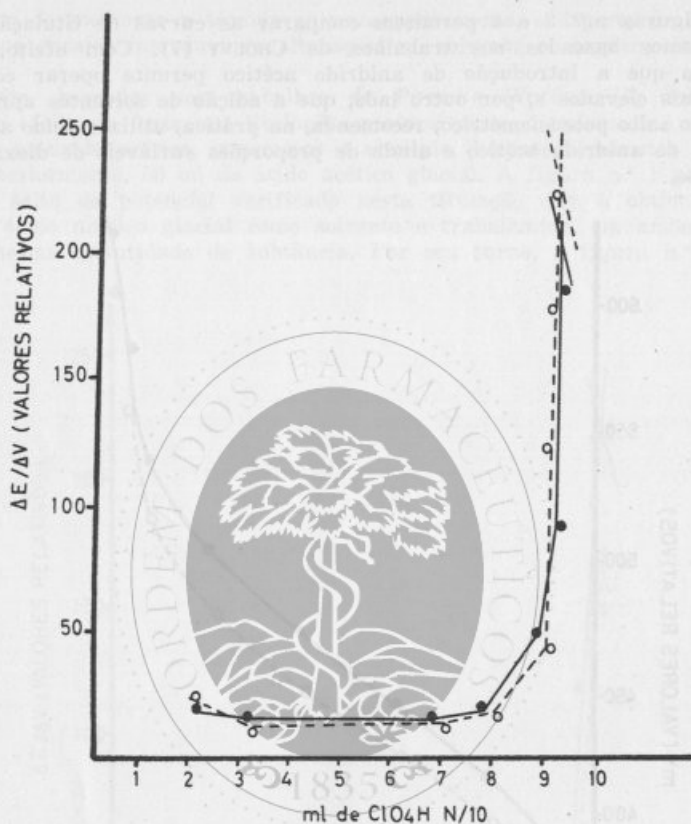


Fig. 4

- Ácido acético glacial + anidrido acético + dioxano
- Idem + dicloroetano (ambos segundo Cholvy)

As conclusões anteriores são igualmente válidas para este caso, não havendo portanto vantagem em utilizar solventes apróticos.

É também curioso assinalar a perfeita coincidência dos pontos de equivalência.

Fica assim justificado o critério de escolha da técnica preconizada, isto é, dissolução do produto em ácido acético glacial e titulação com soluto decinormal de ácido perclórico.

4 — QUADRO DOS RESULTADOS

Técnica	Peso da Amostra	V. Reag. Gasto	Equiv. Grama	Norm. Solut	Fórmula de Expressão	% Teórica	% Encont.
Iodométr.	0,2009	18,8	106,59	0,1 N	$(C_6H_7O_6)_2Ca, 2OH_2$	100	99,7
			88,06		$C_6H_8O_6$	82,61	82,4
Complex.	0,4022	18,9	40,08	0,05 M	Ca	9,40	9,41
Protométr.	0,2004	9,4	213,18	0,1 N	$(C_6H_7O_6)_2Ca, 2OH_2$	100	99,99

CONCLUSÕES

Apresentadas três técnicas de doseamento do ascorbato de cálcio, cada uma delas aproveitando certas características estruturais do produto, concluímos:

a) — qualquer das técnicas conduz a resultados percentuais amplamente satisfatórios e é de execução simples e segura;

b) — como critério final de escolha, sugerimos a adopção da técnica protométrica, que tem, sobre as outras, a vantagem de mobilizar toda a molécula e elimina possíveis resultados equívocos resultantes da presença de impurezas ou de falsificações.

Atendendo a que as características físicas e químicas do ascorbato de cálcio nos parecem vantajosas para o seu emprego em formas farmacêuticas sólidas, propusemo-nos, de igual modo, avaliar a sua estabilidade em comprimidos. Para isso preparámos comprimidos de ascorbato de cálcio e, simultaneamente, de ácido ascórbico.

Avaliámos as quebras do teor vitamínico em ambos os casos, depois de os ter conservado por tempos variáveis a diferentes temperaturas. Os resultados obtidos, embora não absolutamente concludentes, permitem-nos prever que a conservação dos comprimidos de ascorbato de cálcio oferece perspectivas interessantes.

Por esse motivo, pensamos, oportunamente, voltar ao assunto e apresentar as conclusões a que chegámos.

SUMMARY

Calcium ascorbate — generalities and assay methods

The AA. studied the principal properties and the anhydrovolumetric determination of calcium ascorbate. Using glacial acetic acid as solvent and N/10 perchloric acid as titrating agent and acetic solution of oracet B blue as indicator, they controlled the assay potentiometrically. It was verified that there are a coincidence between the potential leap and the indicator's turn (graphic n.º 1), although the ratio $\Delta E/\Delta V$ was relatively high (graphic n.º 2). Imputing this relative increase to the presence of water (calcium ascorbate contains two molecules of crystallization water which weren't eliminable by heating), the AA modified the solvent according to the works of Pifer and Wollish (graphics n.º 1 and 2) and Cholvy (graphics n.º 3 e 4).

The study of this graphics allowed them to conclude that, either the addition of acetic anhydride or the addition of aprotic solvents, didn't improve the determination conditions and so they adopted the following technic: Solve 0,2 g of the substance in 25 ml of glacial acid, in hot water's bath; titrate, after cooling, with a N/10 solution of perchloric acid, using a 0,5 % acetic solution of oracet B blue as indicator. Each ml of titring substance is equivalent to 0,021318 g of $(C_6H_7O_6)_2Ca \cdot 2OH_2$.

The comparative study of this technic with the iodometric and complexometric assay allowed to conclude that the preconized method gaves better results.

BIBLIOGRAFIA

- (¹) Index Merk, VII, 190 (1960).
- (²) HOFFMANN, F.: Vitamin C «Roche». La Roche e Co. Ltd., Basle- Switzerland (1960).
- (³) Farmacopeia Portuguesa, IV, 2.ª, 10 (1946).
- (⁴) LOBATO DA FONSECA: *Boletim Informativo das Actividades do Laboratório Militar*, III, 61 (1965).
- (⁵) PIFER e WOLLISH: *Analytical Chemistry*, 24, 2, 300 (1952).
- (⁶) GALLO e MECARELLI: *Mikroquímica Acta*, 10, 1518 (1956).
- (⁷) CHOLVY: *Ann Pharm. Françaises*, 3, 138 (1960).

(Trabalho efectuado no Laboratório Militar).

AVALIAÇÃO DO E.H.L. DA GOMA DE KARAYA PELO MÉTODO DE CHUN

por

MARGARIDA A. FERREIRA
Assistente da Fac. Farmácia do Porto

M. LEMA PIRES DOS SANTOS
Licenciada em Farmácia

R. RAMOS MORGADO
Assistente da Fac. Farmácia do Porto
Bolseiro da Fundação Calouste Gulbenkian

L. NOGUEIRA PRISTA
Prof. Cat. Faculdade de Farmácia

Tendo deparado com dificuldades em conseguir, no nosso país, goma adragante legítima, decidimos verificar as características da goma que se adquiria sob essa designação. Observámos assim que o produto que comercialmente corria com esse nome era a goma de Karaya, obtida da *Sterculia urens* Roxb. e citada nalgumas farmacopeias vigentes⁽¹⁾ ⁽²⁾.

Atendendo ao emprego da goma, em tecnologia farmacêutica, logo pensámos na necessidade de conhecer o valor do seu equilíbrio-hidrófilo-lipófilo (E.H.L.) o que se torna imprescindível na formulação actual das emulsões. Como até aí tivéssemos trabalhado com goma adragante, cujo valor do EHL é igual a 13,2, admitimos que o valor do EHL da goma de Karaya se lhe aproximasse, mas a prática mostrou o desacerto da nossa hipótese. Não tendo encontrado, na literatura, referência daquele valor para a goma de Karaya, decidimos proceder à sua determinação.

Embora a lei de STOKES condicione a estabilidade duma emulsão esta é particularmente favorecida por agentes que diminuam a tensão superficial da fase interna da emulsão.

Por razões de ordem física sabe-se também que a fina película que o emulgente forma na zona de separação das duas fases é mais facilmente conseguida com misturas de emulgentes do que utilizando apenas um único emulgente.

Este conhecimento orientou GRIFFIN⁽³⁾, em 1949, na introdução de uma notação empírica a que chamou índice hidrófilo-lipófilo ou equilíbrio-hidrófilo-lipófilo (EHL).

Pretendeu GRIFFIN, com esta notação, dar uma ideia da repartição das moléculas tensoactivas colocadas na interfase O/A ou A/O. Convencionou que moléculas tipicamente lipófilas apresentariam um fraco valor de EHL, crescendo aquele valor com o aumento da hidrofília. Desta maneira e ainda segundo a notação proposta por GRIFFIN, os emulgentes A/O apresentam EHL compreendido entre 3,5-8 enquanto que as substâncias que emulsionam o O/A

revelam EHL superior a 9. Como consequência natural, as emulsões A/O são estáveis quando o seu EHL atinge um óptimo, entre 3,5-8 e as O/A devem apresentar um valor de EHL compreendido entre 8 e 16.

Este conceito veio tornar possível a escolha racional dos emulgentes, uma vez que os valores do EHL são aditivos.

Actualmente o prático dispõe de uma apreciável gama de compostos de EHL bem determinado, pretendendo nós com este trabalho, dar o nosso contributo em relação à goma de Karaya.

São vários os processos de determinação de EHL de compostos, uns baseados na apreciação de um critério de turvação de dispersões (*), outros fundamentados em relação com a constante dieléctrica dos compostos (**), outros ainda alicerçados na determinação de índices de saponificação (***) das moléculas tensoactivas que pertençam à categoria dos ésteres.

Este último processo, sem dúvida o mais generalizado, baseia-se na aplicação da fórmula seguinte:

$$EHL = 20 \left(1 - \frac{I.S.}{I.A.} \right),$$

em que I.S. é o índice de saponificação do éster emulgente e I.A. o índice de acidez do ácido esterificante.

A fórmula referida, largamente aplicada aos Tweens e Spans apresenta as suas limitações, uma vez que só é susceptível de ser empregada quando os compostos apresentem funções éster. A sua utilização com a goma arábica, ou adragante falha por conseguinte, recorrendo-se a outros processos, como o idealizado por CHUN e colaboradores (*).

Segundo este autor pode-se calcular o EHL de qualquer emulgente, desde que se preparem emulsões estáveis em que se associe o emulgente problema a um emulgente padrão, em concentrações conhecidas.

O valor do EHL desconhecido é dado pela fórmula:

$$EHL = \frac{EHL \text{ (óleo)} - |EHL \text{ (emulgente padrão)} \times P|}{N}$$

em que P representa a % do emulgente padrão utilizado em relação ao total dos emulgentes e N a percentagem do emulgente problema no total referido.

Preparadas diversas emulsões, com percentagens variáveis dos dois emulgentes, elege-se a emulsão mais estável, entrando-se com os valores de P e N a ela referentes, na fórmula geral apresentada.

PARTE EXPERIMENTAL

I. CARACTERÍSTICAS DA GOMA DE KARAYA UTILIZADA

A goma de Karaya empregada nos ensaios a seguir descritos satisfazia inteiramente às especificações da Farmacopeia Francesa (*). No que diz respeito aos ensaios químicos, observámos intensa coloração rósea com ácido clorídrico à ebulição e encontramos 17,2% de ácidos voláteis expressos em ácido acético. Esta última característica constitui um índice diferencial da goma adragante e funciona como indicador da legitimidade da goma de Karaya.

2. CARACTERISTICAS DOS EMULGENTES PADRÃO EMPREGADOS

Como emulgentes padrão utilizámos os polissorbato 20 (Tween 20), polissorbato 80 (Tween 80), monolaurato de sorbitano (Span 20) e monooleiato de sorbitano (Span 80).

Se bem que as características destes compostos correspondessem às descritas pela casa produtora (Atlas Powder Co.) e no caso do polissorbato 80, às mencionadas no Suplemento à IV Farmacopeia Portuguesa, decidimos determinar experimentalmente os valores dos seus EHL. Esta avaliação baseou-se na apereciação dos índices de saponificação respectivos e no conhecimento teórico dos índices de acidez dos ácidos esterificantes de cada molécula.

<i>Polissorbato 20</i>	: I.S. = 55,5	I.A. (ácido láurico) = 280,2
	EHL = 16,2	Valor teórico do EHL = 16,7
<i>Polissorbato 80</i>	: I.S. = 49,5	I.A. (ácido oleico) = 198,6
	EHL = 15,02	Valor teórico do EHL = 15
<i>Span 20</i>	: I.S. = 153	I.A. (ácido láurico) = 280,2
	EHL = 9	Valor teórico do EHL = 8,6
<i>Span 80</i>	: I.S. = 152	I.A. (ácido oleico) = 198,6
	EHL = 4,8	Valor teórico do EHL = 4,7

Os valores encontrados experimentalmente são muito aproximados dos descritos como teóricos para aquelas substâncias.

3. PREPARAÇÃO DAS EMULSÕES

Como emulsões a estabilizar foram preparadas emulsões O/A, tendo como fase oleosa 30 g de parafina líquida e como fase dispersante 70 g de água. Atribuiu-se à parafina líquida o valor de 12 para EHL (*).

Na preparação de todas as emulsões foi adicionada uma mistura de 3 gramas de emulgente misto, constituído por proporções variáveis de goma de Karaya com cada um dos emulgentes padrão atrás referidos.

As emulsões obtiveram-se recorrendo a um emulsionador valvular (Erweka), nas mesmas condições de trabalho.

Prepararam-se 4 séries de emulsões tendo-se variado, em cada série, as proporções relativas do emulgente padrão — goma de Karaya.

4. PROPORÇÕES RELATIVAS DOS EMULGENTES

Partindo do conceito de que estávamos em presença de uma goma, semeilhante, em muitos aspectos, à goma adragante, dela diferindo em especial pelo elevado índice de acetilo e conhecendo ainda a hidrofília do produto, admitimos que o EHL fosse superior a 9, mas inferior a 14.

As proporções dos emulgentes empregados, visaram por conseguinte obter uma emulsão final com EHL de 12, valor aceite actualmente para a parafina líquida em emulsões O/A.

Os quadros juntos mostram os pesos de goma de Karaya e de cada um dos seus emulgentes padrão tomados, por fórmula, indicando-se também esse valor expresso em percentagem.

QUADRO I

1.ª Série de emulsões						2.ª Série de emulsões				
Goma	1,95	2,10	2,25	2,40	2,55	2,22	2,25	2,28	2,31	2,34
	65%	70%	75%	80%	85%	74%	75%	76%	77%	78%
Tween 80	1,05	0,90	0,75	0,60	0,45	0,78	0,75	0,72	0,69	0,66
	35%	30%	25%	20%	15%	26%	25%	24%	23%	22%

QUADRO II

1.ª Série de emulsões							2.ª Série de emulsões				
Goma	2,55	2,64	2,67	2,7	2,73	2,85	2,68	2,69	2,70	2,71	2,72
	85%	88%	89%	90%	91%	95%	89,3%	89,7%	90%	90,3%	90,7%
Span 80	0,45	0,36	0,33	0,3	0,27	0,15	0,32	0,31	0,30	0,29	0,28
	15%	12%	11%	10%	9%	5%	10,7%	10,3%	10%	9,7%	9,3%

QUADRO III

1.ª Série de emulsões						2.ª Série de emulsões						
Goma	2,7	2,55	2,4	2,25	2,1	2,34	2,31	2,28	2,25	2,22	2,19	2,16
	90%	85%	80%	75%	70%	78%	77%	76%	75%	74%	73%	72%
Tween 20	0,30	0,45	0,6	0,75	0,9	0,66	0,69	0,72	0,75	0,78	0,81	0,84
	10%	15%	20%	25%	30%	22%	23%	24%	25%	26%	27%	28%

QUADRO IV

Emulsões					
Goma	1,8	2,1	2,4	2,7	2,85
	60%	70%	80%	90%	95%
Span 20	1,2	0,9	0,6	0,3	0,15
	40%	30%	20%	10%	5%

5. AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE DA EMULSÃO

A estabilidade das emulsões foi apreciada ao fim de 24 horas de preparação, através do conceito de separação de fases e do aspecto grumoso que apresentassem. Em casos duvidosos de apreciação, acelerou-se a decomposição por aquecimento a 80°.

Observámos, deste modo, que as emulsões com Tweens eram mais estáveis do que as correspondentes obtidas com Spans. Atendendo aos EHL daquelas duas espécies de agentes padrão, sabia-se, por outro lado, que o emprego dos Spans condicionaria o EHL ligeiramente maior do que 12, enquanto que a utilização dos Tweens levava aquele equilíbrio a ser inferior a 12.

Dada a circunstância de que os Tweens produziam em todos os casos melhores emulsões de que os Spans, referimos a avaliação do EHL da goma de Karaya àqueles emulgentes.

A título de curiosidade indicamos no Quadro V quais as emulsões mais estáveis, mesmo com os Spans.

QUADRO V
EMULSÕES MAIS ESTÁVEIS

Goma	2,25 75%	Goma	2,28 76%	Goma	2,69 89,7%	Goma	2,85 95%
Tween 80	0,75 25%	Tween 20	0,72 24%	Span 80	0,31 10,3%	Span 20	0,15 5%

6. AVALIAÇÃO DO EHL DA GOMA DE KARAYA

Verificado que as duas emulsões mais estáveis eram obtidas nas séries do Tween 20 e Tween 80, entrámos com as percentagens de goma de Karaya e de polissorbatos eleitos, na fórmula de CHUN, atrás mencionada.

Percentagem da goma de Karaya: 76

Percentagem de Tween 20: 24

$$\text{EHL} = \frac{12 - (0,24 \times 16,2)}{0,76} = 10,72$$

Percentagem da goma de Karaya: 75

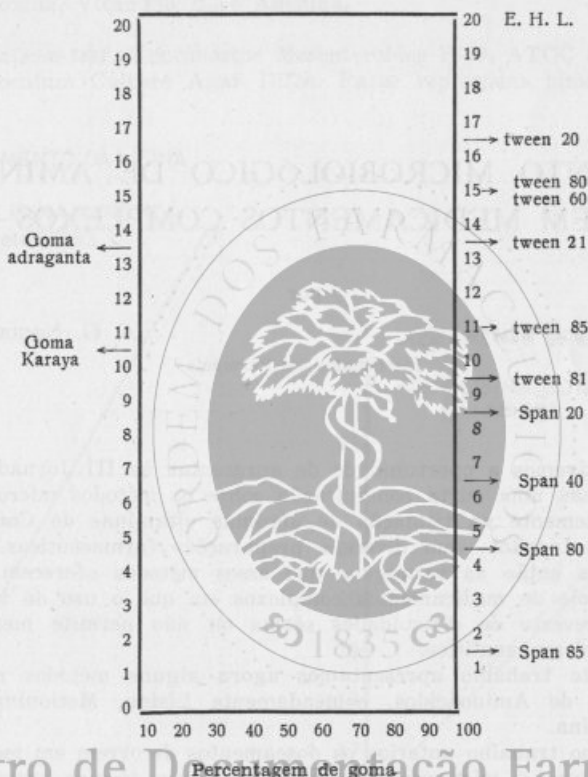
Percentagem de Tween 80: 25

$$\text{EHL} = \frac{12 - (0,25 \times 15,02)}{0,75} = 10,99$$

De acordo com o resultado obtido somos de parecer que a goma de Karaya que corre entre nós como goma adragante, apresenta o EHL de 10,9.

No quadro VI indicam-se os valores de EHL conseguidos pela associação de quantidades variáveis de gomas adragante e de Karaya, em diversos emulgentes de síntese.

QUADRO VI



Centro de Documentação Farmacêutica da Ordem dos Farmacêuticos

SUMMARY

Evaluations of the Karaya's gum H.L.B. by the method of Chun.

Applying the method of Chun it was possible to determine the H.L.B. value (hydro-lipophilous balance) of the Karaya's gum. Variable proportions of gum and polysorbates as emulsive agents for preparation of aqueous paraffin emulsions were used on the assay.

BIBLIOGRAFIA

- (¹) Pharmacopée Française, 8^o ed, 1965.
- (²) The pharmacopeia of the United States of America, XVI revision, 1960.
- (³) GRIFFIN, W. C.: *J. Soc. Cosmetic Chemists*, 1, 311 (1949).
- (⁴) GREENWALD, H. L., BROWN G. L. e FINEMAN, M. N.: *Anal. Chem.* 28, 1693 (1956).
- (⁵) GORMAN, W. G. e HALL, G. D.: *J. Pharm. Sci.* 52, 442 (1963).
- (⁶) MARTIN, A. N.: *Physical Pharmacy*, Philadelphia, 1960.
- (⁷) CHUN, A. C., JOSLIN, R e MARTIN, N.: *Drug and Cosmetic Ind.* 82, 164 e 312 (1958).
- (⁸) GALLO, U.: *Boll. Chim. Farm.* 101, 173 (1962).

DOSEAMENTO MICROBIOLÓGICO DE AMINOÁCIDOS EM MEDICAMENTOS COMPLEXOS

GERARDO MATTA

por

A. G. NOGUEIRA

Licenciados em Farmácia

Em 1965 tivemos a oportunidade de apresentar às III Jornadas Farmacêuticas Portuguesas uma curta comunicação sobre os métodos microbiológicos que usamos correntemente na titulação de algumas vitaminas do Complexo B e de um açúcar — o Inositol — em diversas preparações farmacêuticas.

Salientámos então as vantagens que esses métodos oferecem quando aplicados ao controle de medicamentos complexos em que o uso de técnicas físico-químicas se reveste de dificuldades sérias ou não permite mesmo uma boa solução do problema analítico.

No presente trabalho apresentamos agora alguns métodos microbiológicos de doseamento de Aminoácidos, nomeadamente Lisina, Metionina, Triptofano, Cistina e Cisteína.

Tal como no trabalho anterior os doseamentos decorrem em meio basal gelado semeado com o microorganismo titulador pela técnica usual já descrita.

O aminoácido em estudo e a respectiva solução padrão são colocados no interior de pequenos cilindros de porcelana (fish spine beads) ou introduzidos dentro de furos cilíndricos obtidos por perfuração da gelose. Depois da incubação a 37°, durante 24 horas procede-se à medição das zonas de crescimento, da forma habitual.

Como em determinado intervalo o diâmetro das zonas de crescimento é proporcional ao logaritmo da concentração das soluções padrão e problema, o cálculo faz-se facilmente por interpolação gráfica.

PARTE EXPERIMENTAL

1. TITULAÇÃO MICROBIOLÓGICA DA LISINA

Têm sido utilizados até hoje vários microrganismos tituladores para doseamento da Lisina. Citaremos entre outros um mutante da *Neurospora Crassa* (1), o *Streptococcus faecalis* e o *Leuconostoc Mesenteroides* P-60 (2). O *Leuconostoc* é de utilização mais fácil, permitindo técnicas de maior simplicidade e resultados com excelente precisão.

Doseámos a Lisina em preparações medicamentosas em que este aminoácido está associado a outros, como é o caso do *Trofisan* em cuja composição figuram também Triptofano, Treonina, Isoleucina, Valina, Fenilalanina, Metionina e Leucina; e ainda em soluções medicamentosas contendo também Vitaminas, tal como na Fosfolisina (xarope e gotas) em que aquele aminoácido aparece associado à Piridoxina, Vitamina B₁₂ e Adenina.

Microorganismo-test: *Leuconostoc Mesenteroides* P-60, ATCC 8042 conservado em Micro Inoculum Culture Agar Difco. Fazer repicagens bimensais com pas-



sagem prévia por caldo (Micro Inoculum Broth Difco). A temperatura de incubação é 37°.

Meio basal: Utilizamos o meio da Difco Lysine Assay Medium diluído, em partes iguais, com uma solução a 4 % de agar Difco.

Material: Caixas redondas com 14 cm de diâmetro, de fundo plano, munidas da respectiva tampa. Cilindros de porcelana do tipo «fish spine beads». Tubos de centrífuga. Balões graduados. Pipetas.

Inóculo: Na véspera do ensaio passa-se uma ansa do *Leuconostoc* para 10 cc de Micro Inoculum Broth Difco. Incuba-se a 37.° durante 24 horas. No dia do

ensaio separa-se a cultura por centrifugação e lava-se por três vezes com soro fisiológico. Suspende-se a cultura em soro fisiológico para obter o inóculo.

Solução-test: diluímos as soluções medicamentosas em estudo até obter concentrações de trabalho de 300 γ e 75 γ /cc.

Solução-padrão: a partir de um cloridrato de lisina puríssimo preparar as diluições padrão a 300 γ -75 γ /cc.

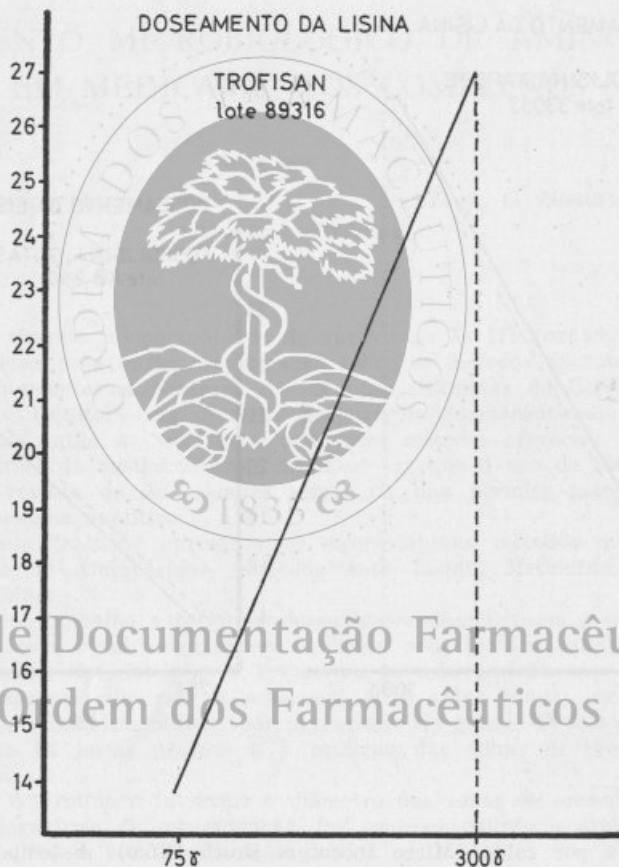


Fig. 3

Técnica: Fundir 45 cc do meio basal e arrefece-los a 40° num banho-maria termostatado. Juntar o inóculo. Misturar bem e verter na placa. Deixar solidificar. Colocar na superfície do meio solidificado os cilindros cheios por capilaridade com as soluções, dispendo-os em posições diametralmente opostas de forma a obter dois valores para cada concentração em sítios opostos da placa.

Deixar na estufa a 37° C durante 24 horas. Obtem-se zonas de crescimento bem definidas, contrastando muito bem com o meio, o que permite boas leituras.

Cálculo: No intervalo considerado o diâmetro das zonas de crescimento é proporcional ao logaritmo da concentração respectiva.

Marcar em abscissas o logaritmo das concentrações 300 γ e 75 γ e em ordenadas os diâmetros das zonas. Por interpolação gráfica pode calcular-se facilmente a concentração da lisina nas soluções medicamentosas em estudo.

Apresentamos no Quadro n.º 1 alguns dos resultados obtidos no nosso serviço de rotina laboratorial.

QUADRO I

MEDICAMENTO		Diametros das zonas correspondentes a 300 γ /cc.	Médias	Diametros das zonas correspondentes a 75 γ /cc.	Médias	Porcentagem de Lisina
FOSFOLISINA — xarope —	Test Padrão	29 — 30	29,5	20 — 20	20	107 %
		lote 33093	29,5 — 30	29,8	20,5 — 20	20,3
FOSFOLISINA — gotas —	Test Padrão	22,5 — 22,5	22,5	17,5 — 17	17,3	95 %
		lote AB 298	22,5 — 22	22,3	17 — 17	17
TROFISAN	Test Padrão	27 — 27	27	14 — 14	14	100 %
		lote 89316	27 — 27	27	14 — 14	14

Centro de Documentação Farmacêutica

2. DOSEAMENTO MICROBIOLÓGICO DA METIONINA

SHANKMAN e colaboradores (*) dosearam 8 aminoácidos, entre eles a metionina, com o auxílio do *Lactobacillus arabinosus* 17-5. Mais tarde GREENE e BLACK (*) estabelecem uma técnica semelhante mas usando o *Leuconostoc mesenteroides* P-60. BARTON WRIGHT (*), incansável investigador no campo das titulações microbiológicas, refere também aquele microrganismo, embora tenha utilizado ainda com o mesmo fim o *Lactobacillus fermenti* 36.

Vamos descrever a seguir um método semelhante ao que apresentámos para o Pantotenato de Cálcio (*), em que o microrganismo test é o *Escherichia Coli* 122/33 (*) e o meio basal o meio de Davis gelosado.

Temos usado habitualmente este método no doseamento da metionina em soluções de aminoácidos para uso parenteral (Trofisan) e no controle analítico do *Liparsan*, preparação para uso oral em que aquele aminoácido está associado à nicotilamida e ao inositol, num veículo xaroposo contendo hipossulfitos.

Microorganismo titular: *Escherichia Coli* 122/33 conservado num meio gelosado com extracto de levedura e caseína e repicado duas vezes por mês. A inoculação é feita a 37° por um período de 24 horas.

Meio basal: O meio basal é o de Davis, modificado conforme propusemos no nosso trabalho já citado (').

Material: Placas rectangulares (23×22 cm) em vidro Pirex, de fundo plano, munidas de tampa de vidro. Tubos de centrifuga. Balões graduados. Pipetas.

Inóculo: Na véspera do ensaio passa-se uma ansa do microorganismo-test para 10 cc de caldo comum. Incuba-se na estufa a 37° por 24 horas. No dia do ensaio centrifuga-se a cultura obtida e lava-se por três vezes com soro fisiológico. Torna-se a suspender a cultura em soro fisiológico, homogenizando por pipetamento para obter o inóculo.

Solução-test: a partir de uma amostra média do medicamento preparar as diluições na concentração de trabalho: 100 γ e 50 γ /cc.

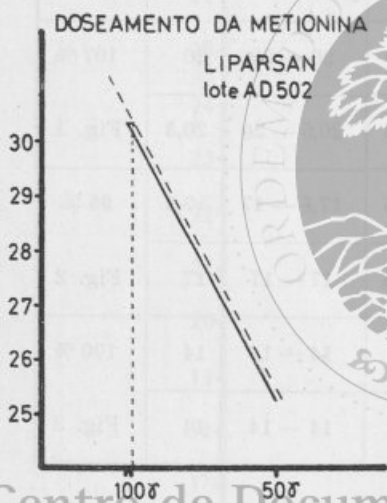


Fig. 4

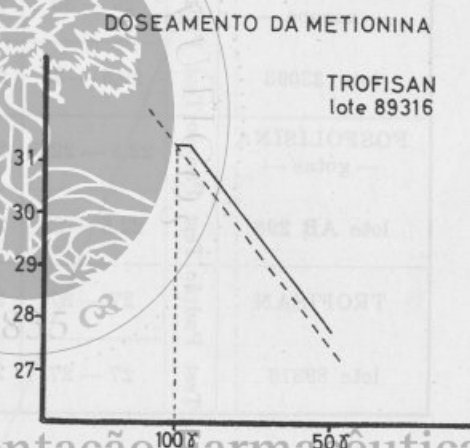


Fig. 5

Solução-padrão: preparar as soluções do padrão a 100 γ e 50 γ /cc, a partir de uma metionina puríssima.

Técnica: fundir 150 cc do meio de Davis modificado e arrefecer a 40° em banho-maria termostatado. Juntar 2 cc do soluto de glucose e 1,5 cc do soluto de cloridrato de 2-3-5-trifeniltetrazólio. Adicionar o inóculo e misturar muito bem. Verter na placa para solidificar.

Fazer perfurações rigorosamente iguais na gelose e encher essas perfurações com os solutos padrão e problema.

Colocar na estufa a 37° durante 24 horas.

Cálculo: medir as zonas de crescimento e obter por interpolação gráfica, da maneira já indicada, a concentração em metionina.

A título exemplificativo apresentamos no Quadro II alguns resultados experimentais obtidos no nosso Laboratório no controle dos preparados citados.

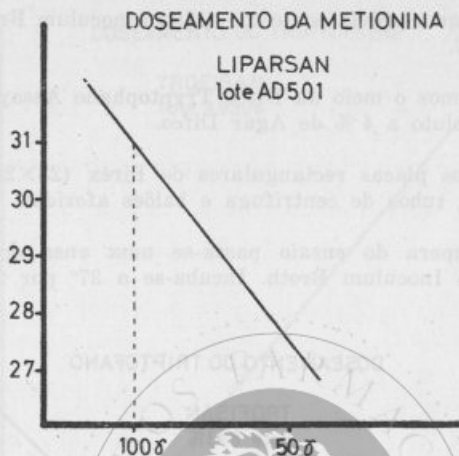


Fig. 6

QUADRO II

MEDICAMENTO		Diametros das zonas para concentrações 100y	Médias	Diametros das zonas para concentrações 50y	Médias	Oscilação
LIPARSAN	Test Padrão	30,5 — 30,5	30,5	25,5 — 25,5	25,5	98 %
lote AD 502		30,5 — 30	30,3	25,5 — 25	25,3	Fig. 4
TROFISAN	Test Padrão	31 — 31	31	27,5 — 27,5	27,5	105 %
lote 89316		31,5 — 31	31,3	27,5 — 28	27,8	Fig. 5
LIPARSAN	Test Padrão	31 — 31	31	27,5 — 27,5	27,5	100 %
lote AD 501		31 — 31	31	27,5 — 27,5	27,5	Fig. 6

3. TITULAÇÃO MICROBIOLÓGICA DO TRIPTOFANO

Doseamos o Triptofano no medicamento já citado anteriormente (*Trofisan*) empregando o mesmo microorganismo utilizado por BARTON WRIGHT⁽⁶⁾.

Microorganismo titulador: *Lactobacillus arabinosus* (plantarum) 17-5, 8014 ATCC conservado em Micro Inoculum Culture Agar Difco fazendo repicagens

bimensais com passagem prévia por caldo (Micro inoculum Broth). A temperatura de incubação é 37° C.

Meio basal: usamos o meio da Difco Tryptophane Assay Medium diluído em partes iguais com soluto a 4 % de Agar Difco.

Material: usamos placas rectangulares de Pyrex (23×22 cm) com a respectiva tampa. Pipetas, tubos de centrifuga e balões aferidos.

Inóculo: na véspera do ensaio passa-se uma ansa do microrganismo-test para 10 cc de Micro Inoculum Broth. Incuba-se a 37° por 24 horas. No dia do

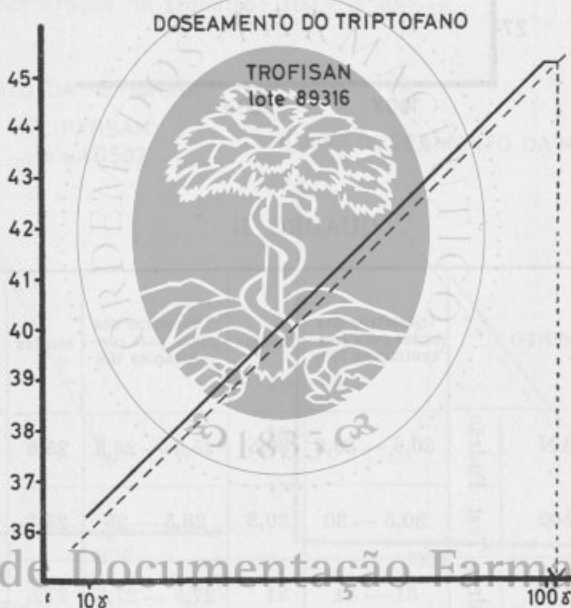


Fig. 7

ensaio centrifuga-se a cultura obtida e lava-se por três vezes com soro fisiológico. Volta a suspender-se o resíduo em soro fisiológico a fim de obter o inóculo.

Solução-test: Diluimos o *Trofisan* até obter concentrações de trabalho de 100 γ e 10 γ /cc.

Solução-padrão: partindo de d, 1 triptofano puríssimo preparamos as duas diluições padrão a 100 γ e 10 γ /cc.

Técnica: fundir 150 cc do meio basal e arrefecer a 40° em banho-maria termostatado. Juntar o inóculo e misturar muito bem. Verter na caixa de cultura. Depois de ter o meio bem solidificado praticar furos na gelose, retirando cilindros todos iguais de forma a obter as cavidades destinadas a receber as soluções padrão e test.

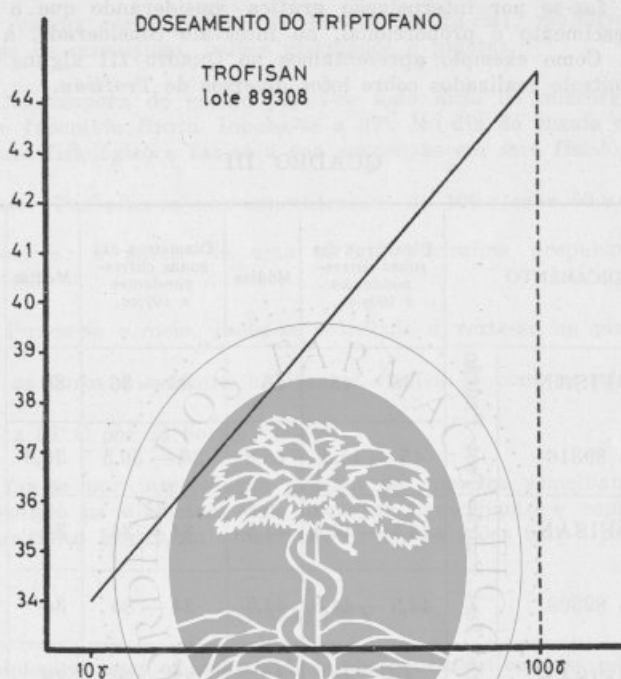


Fig. 8

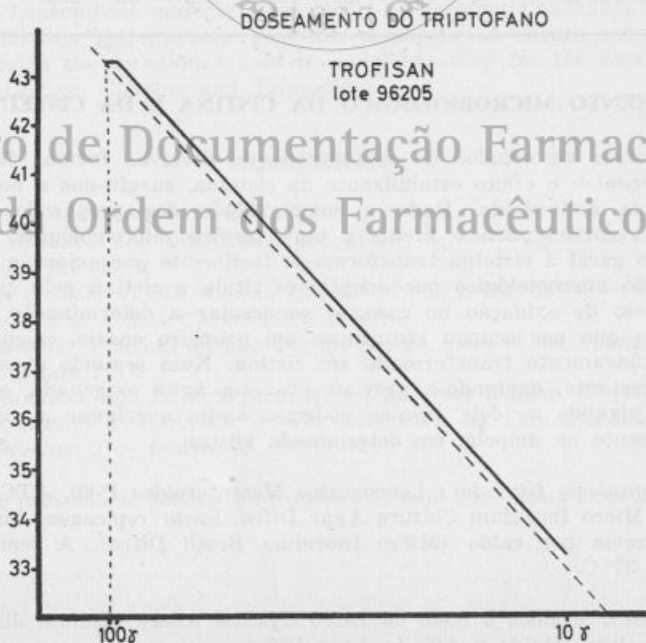


Fig. 9

Centro de Documentação Farmacêutica
da Ordem dos Farmacêuticos

Cálculo: faz-se por interpolação gráfica considerando que o diâmetro das zonas de crescimento é proporcional, no intervalo considerado, à concentração das soluções. Como exemplo apresentamos no Quadro III alguns resultados de ensaios de controle realizados sobre lotes diversos de *Trofisan*.

QUADRO III

MEDICAMENTO		Diametros das zonas correspondentes a 100y/cc.	Médias	Diametros das zonas correspondentes a 10y/cc.	Médias	Resultado
TROFISAN	Test Padrão	45 — 45	45	36 — 36	36	105 %
lote 89316		45 — 45,5	45,3	36 — 36,5	36,3	Fig. 7
TROFISAN	Test Padrão	44,5 — 44,5	44,5	34 — 34	34	100 %
lote 89308		44,5 — 44,5	44,5	34 — 34	34	Fig. 8
TROFISAN	Test Padrão	43 — 43	43	33 — 33	33	105 %
lote 96205		43,5 — 43	43,3	33,5 — 33	33,3	Fig. 9

4. DOSEAMENTO MICROBIOLÓGICO DA CISTINA E DA CISTEÍNA

No decorrer de estudos de estabilidade de diversas formas farmacêuticas em que se ensaiou o efeito estabilizante da cisteína, surgiu-nos a necessidade de titular aquele aminoácido. Dada a complexidade dos preparados em estudo tivemos de recorrer para o efeito a uma técnica microbiológica. Como é do conhecimento geral a cisteína transforma-se facilmente por oxidação em cistina.

O método microbiológico que adoptamos titula a cistina pelo que exige um primeiro passo de oxidação no caso de se desejar a determinação da cisteína. No problema que nos ocupou realizámos um primeiro ensaio, calculando a cisteína espontaneamente transformada em cistina. Num segundo ensaio doseamos a cisteína restante, oxidando-a previamente com água oxigenada, ao estado de cistina. Conjugando os dois ensaios podemos assim averiguar a quantidade de cisteína presente na ampola, em determinada altura.

Microorganismo titular: *Leuconostoc Mesenteroides* P-60, ATCC 8042 conservado em Micro Inoculum Culture Agar Difco. Fazer repicagens bimensais com passagem prévia por caldo (Micro Inoculum Broth Difco). A temperatura de incubação é 37° C.

Meio basal: usamos o meio do Difco Cystine Assay Medium dil. em partes iguais com soluto diluído a 4 % de Agar Difco.

Material: caixas rectangulares de Pirex (23×22 cm), munidas de tampas de vidro, tubos de centrifuga, balões graduados e pipetas.

Inóculo: Na véspera do ensaio passa-se uma ansa do microorganismo para 10 cc de Micro Inoculum Broth. Incuba-se a 37°. No dia do ensaio centrifuga-se, lava-se com soro fisiológico e faz-se a sua suspensão em soro fisiológico.

Solução-test: Trabalha-se nas concentrações de 100 γ /cc e 50 γ /cc.

Solução-padrão: a partir de uma cistina puríssima preparar soluções a 100 γ /cc e 50 γ /cc.

Técnica: Funde-se o meio, junta-se o inóculo e verte-se na placa. Deixa-se solidificar.

Fazem-se os furos à maneira habitual e enchem-se com as soluções padrão e problema.

Incuba-se a 37° C por 24 horas.

Cálculo: faz-se por interpolação gráfica de maneira semelhante à que já indicámos, medindo os diâmetros das zonas de crescimento e representando-os em papel logaritmico contra as concentrações das soluções test e padrão.

SUMMARY

Microbiological assay of aminoacids in pharmaceutical complex mixtures

Methods of microbiologic titration for aminoacids with therapeutic interest in association with other pharmaceuticals are described. Solid basal medium is used and *Leuconostoc mesenteroides* P-60, *Escherichia Coli* 122/33 and *Lactobacillus arabinosus* (plantarum) 17-5 are employed as titrant microorganisms.

We describe the techniques used in our laboratory for the assay of Lisine, Methionine, Cistine, Cisteíne and Triptophan.

BIBLIOGRAFIA

- (¹) DOERMAN: *J. Bacter.*, 49, 315 (1945).
- (²) BARTON WRIGHT: The microbiologic assay of the Vitamin B Complex and Aminoacids, 121 (1952).
- (³) SHANKMAN e colab.: *J. Biol. Chem.*, 150, 477 (1943); e 151, 511 (1944).
- (⁴) GREENE e BLACK: *J. Biol. Chem.*, 155, 1 (1944).
- (⁵) BARTON WRIGHT: Practical methods for the microb. assay of the Vitamin B Complex and Aminoacids. 1963.
- (⁶) SALVANI BOLZANI: Bol. Instituto Sieroterapica Milanese Belfanti, 97 (1952).
- (⁷) MATTA, GERARDO e NOGUEIRA, A. G.: *Rev. Port. de Farmácia*, 14, 322 (1964).
- (⁸) BARTON WRIGHT: *The Analyst*, 73, 330 (1948).

(Trabalho realizado no Serviço dos Estudos e Ensaios dos Laboratórios Azevedos)

ENSAIOS DE DECOMPOSIÇÃO ACELERADA DETERMINAÇÃO DA ESTABILIDADE DE TINTURAS

RUI MANUEL RAMOS MORGADO
Assistente da Faculdade de Farmácia do Porto
Bolseiro da Fundação Calouste Gulbenkian

No seu contacto diário com as preparações medicamentosas, o farmacêutico tem, além doutras preocupações, a de pensar em garantir-lhes uma estabilidade tão perfeita e longa quanto lhe seja possível. Para tal, importa saber em que condições se atinge o objectivo proposto e ainda verificar como se comporta a fórmula através do tempo, mais ou menos longo, de armazenagem. Este problema revela-se tão importante que transcende já, o âmbito do medicamento e a indústria, nomeadamente a de alimentos, preocupa-se também hoje com a verificação do comportamento dos seus produtos, frente às condições de armazenagem que lhes podem ser impostas.

Até há poucos anos, verificar um prazo de validade ou como se mantém qualquer substância em determinadas condições de temperatura e humidade só era possível efectuando ensaios de envelhecimento, à temperatura ambiente e, portanto, necessariamente demorados. Este processo não se coaduna com as exigências da moderna indústria e da vida actual em que o estudo do comportamento de determinada preparação deve ser feito com a maior rapidez possível, dado o ritmo de lançamento de novos produtos em consequência de descobertas científicas cada vez em maior número. Esses produtos deverão ser devidamente estudados antes de enquadrados no grande arsenal de combate à doença.

Graças aos trabalhos de GARRETT (1), (2), (3), (4), (5), (6), (7), (8) que relacionou os valores de degradação com as temperaturas a que havia submetido os preparados galénicos, é hoje possível determinar o prazo de validade de um medicamento por ensaios que demoram tempo infinitamente inferior às determinações feitas à temperatura ambiente. Aplicando a equação de ARRHENIUS, o citado autor demonstrou a possibilidade de calcular a alteração a longo prazo, quando conhecidas as velocidades específicas de decomposição a temperaturas mais altas que a temperatura de armazenagem.

A equação de Arrhenius mencionada permite determinar a degradação térmica em função da temperatura absoluta.

A sua expressão matemática é:

$$K = A e^{-\Delta H_a/RT}$$

em que K é a velocidade específica de degradação, R a constante dos gases perfeitos, A o chamado factor de frequência, ΔH_a o calor de activação e T a temperatura absoluta a que é executada a experiência.

Desta fórmula poder-se-á obter esta outra

$$\log K = \log A + \log e^{-\Delta H_a/RT}$$

ou

$$\log K = \log A - \frac{H_a}{2,303 \times R} \times \frac{1}{T}$$

Os valores de A e de H_a podem determinar-se se se conhecer o valor de K a diferentes temperaturas e se relacionar o seu logaritmo com $\frac{1}{T}$.

Desde que a relação entre os valores de logaritmo de K e $\frac{1}{T}$ seja, a temperaturas superiores à de armazenagem, sensivelmente linear, poder-se-á determinar a estabilidade a temperaturas mais baixas e, por consequência, verificar como se comporta o produto em estudo, quando submetido a uma dada temperatura por determinado período de tempo antes de ser usado e, portanto, qual o seu prazo de validade.

O ensaio conduzir-se-á, pois, começando por determinar a velocidade de decomposição a determinadas temperaturas. Com os resultados constroem-se gráficos usando as concentrações e os respectivos tempos. Pela interpretação dos citados gráficos, pode determinar-se facilmente de que ordem é a reacção. Assim, se houver relação linear entre as concentrações e os tempos, a reacção é de ordem zero; se a relação linear só existe entre os logaritmos das concentrações e os tempos, a reacção é de primeira ordem; se só é possível estabelecer relação entre os inversos das concentrações e os tempos, a reacção é de segunda ordem, etc.

Determinada a ordem da reacção, poder-se-á calcular facilmente a velocidade de decomposição.

Assim, para reacções de ordem zero será

$$y = y_0 - Kt \quad \text{em que}$$

y_0 é a quantidade inicial de princípio activo, K a velocidade específica de decomposição e y a quantidade de substância existente ao fim do tempo t.

Para reacções de ordem um será

$$\log y = \log y_0 - \frac{Kt}{2,303}$$

em que as letras têm significado igual ao do caso anterior.

Como facilmente se pode verificar, pode determinar-se a velocidade de decomposição por simples determinação quantitativa do princípio activo ao fim do tempo t a determinada temperatura, pois as expressões anteriores podem adquirir a seguinte forma

$$K = \frac{y_0 - y}{t} \quad \text{e} \quad K = \frac{2,303}{t} \times \log \frac{y_0}{y}$$

respectivamente para reacções de ordem zero e de primeira ordem.

Calculado o valor de K para, pelo menos, duas temperaturas, poder-se-á determinar matematicamente o valor da decomposição a uma temperatura mais baixa.

Assim, aplicando a equação

$$\log K = \log A - \frac{\Delta Ha}{2,303 \times R} \times \frac{1}{T}$$

para as temperaturas T_1 e T_2 e subtraindo $\log K_2$ de $\log K_1$ ter-se-á:

$$\log \frac{K_1}{K_2} = \frac{\Delta Ha}{2,303} \times \frac{T_1 - T_2}{T_1 \times T_2}$$

em que se conhece, como é evidente, o valor de K_1 , T_1 , K_2 e T_2 . Facilmente, pois, se pode calcular ΔHa .

Sabido este valor e o valor de A, poder-se-á determinar a velocidade específica de decomposição desde que se substitua T pela temperatura absoluta de armazenagem.

A determinação pode também ser feita usando o método gráfico. Neste caso bastará determinar o valor de K a várias temperaturas e construir um gráfico usando em ordenadas os logaritmos dos valores de K e em abcissas os inversos das temperaturas absolutas.

Para simplificar o traçado poder-se-á usar papel semi-logaritmico, em vez de vulgar papel milimétrico, empregando, nesse caso, em ordenadas, os valores de K directamente.

Depois de prolongar a linha do gráfico poder-se-á, por simples extrapolação, determinar o valor de K às várias temperaturas e, portanto, a velocidade específica da decomposição à temperatura de armazenagem.

Para as reacções de decomposição de ordem zero, que particularmente nos interessam neste caso, será

$$tm = \frac{y_0 - y}{K} \quad \text{em que}$$

tm representa o período de validade a calcular, y_0 a quantidade inicial de princípio activo, y a quantidade final de princípio activo que se tolera para que o medicamento possa ser utilizado (normalmente 90 % de y_0) e K a velocidade específica de degradação à temperatura estabelecida, como sendo a de armazenagem.

Nesta Faculdade têm sido executados trabalhos seguindo o processo atrás resumido. Os autores puderam avaliar com rigor apreciável a estabilidade de uma suspensão aquosa de acetato de axerofol e de uma solução contendo cloridrato de tiamina e cloridrato de piridoxina (*) e determinar o prazo de validade de penicilinas semi-sintéticas, quer em soluções tamponadas, quer mesmo no estado sólido (**).

Estando presentemente a proceder ao estudo de diversas formas farmacêuticas, nomeadamente as obtidas por solução extractiva, e não nos constando que o método de decomposição acelerada tenha sido já executado sobre tinturas, lembramo-nos de o aplicar a estes preparados.

Uma das plantas que nos tem ocupado é a *Genciana Lutea* L. cujo uso, como tónico amargo, é já muito antigo.

Descreve-se a existência, nas preparações galénica da raiz desta planta, de glucosídeos amargos e produtos deles derivados por hidrólise, açúcares, ácido genticico, etc. (**). O nosso estudo tem versado, além de outros aspectos, a verificação da eficiência dos métodos extractivos usados pelas diversas Farmacopeias e formulários. Isolámos um composto que supomos não ter ainda sido estudado e os nossos ensaios incidiram sobre o seu doseamento. Assim aplicamos ao citado composto o método de decomposição acelerada.

No presente trabalho apresentamos os resultados obtidos com tintura de raiz de *Genciana lutea* L. obtida por lixiviação com álcool etílico de 75°, por ter sido a que se nos revelou como extraíndo maior quantidade de produto em estudo.

O ensaio incidiu sobre o comportamento do citado composto quando a tintura foi submetida a temperaturas mais elevadas que a normal. Os doseamentos foram conduzidos por espectrofotometria, após isolar o princípio por cromatografia em camada fina de sílica.

Da análise dos resultados pode concluir-se que a alteração do composto se processa segundo uma equação de ordem zero.

PARTE EXPERIMENTAL

A tintura foi, após doseamento inicial, introduzida em recipientes fechados e colocada em estufas a 50°, 60° e 70° durante 24 dias.

Fizemos doseamentos periódicos do teor da tintura em composto que estamos a estudar.

Os resultados obtidos encontram-se no quadro seguinte:

QUANTIDADE INICIAL DE PRODUTO ACTIVO: 0,2 g/litro

Dias de ensaio	Percentagem existente a 50°	Valor de K 50°	Percentagem existente a 60°	Valor de K 60°	Percentagem existente a 70°	Valor de K 70°
1						
2						
3						
4						-1
5					81,7 %	3,66 dias
6						
7		-1		-1		
8	83 %	2,13 dias	77,8 %	2,78 dias		
9						-1
10					63,4 %	3,66 dias
11						
12						
13						
14						-1
15					44,3 %	3,71 dias
16	59,7 %	-1 2,52 dias	54,6 %	-1 2,84 dias		
17						
18						
19						
20						
21						
22						
23		-1				
24	52,5 %	1,94 dias				

K 50° médio = 2,19 dias⁻¹; K 60° médio = 2,81 dias⁻¹ e K 70° médio = 3,68 dias⁻¹

I — RESOLUÇÃO GRÁFICA

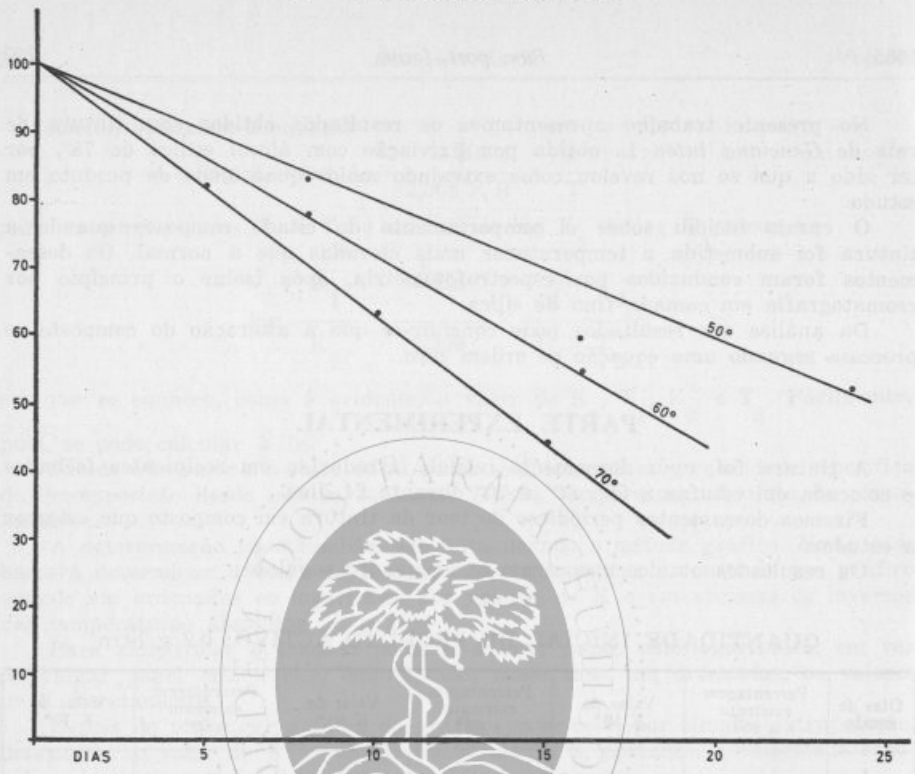


Fig. 1

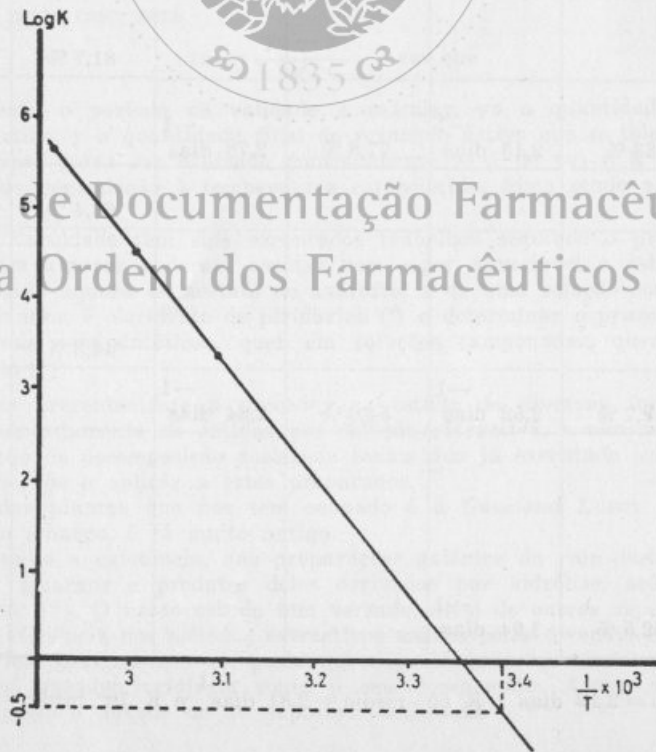


Fig. 2

Centro de Documentação Farmacêutica
da Ordem dos Farmacêuticos

Gráficamente obtemos, como se pode verificar, um valor de $-0,05$ para logaritmo de K_{20} . Por consequência temos que

K_{20} é igual a 0,891

II — RESOLUÇÃO ALGÉBRICA

a) — cálculo de ΔHa

$$\log K = \log A - \frac{\Delta Ha}{2,303.R} \times \frac{1}{T}$$

$$\log \frac{K_{70^\circ}}{K_{50^\circ}} = \frac{\Delta Ha}{2,303 \times R} \times \frac{T_{70} - T_{50}}{T_{70} \times T_{50}}$$

$$0,5658 - 0,3404 = \frac{\Delta Ha}{4,57} \times \frac{20}{110,789}$$

$$\Delta Ha = 5,6947 \text{ Kcal. mol}^{-1} \text{ grau}^{-1}$$

b) — cálculo do logaritmo de A

$$\log K_{70^\circ} = \log A - \frac{5,6947 \times 10^4}{4,57} \times \frac{1}{343}$$

$$0,5658 = \log A - \frac{5,6947 \times 10^4}{1567,5}$$

$$\log A = 4,1658$$

c) — Cálculo de K_{20}

$$\log K_{20} = 4,1658 - \frac{5694,7}{4,57} \times \frac{1}{293}$$

$$\log K_{20} = -0,0842$$

$$K_{20} = 0,824$$

Os valores de K_{20} são de 0,824 e 0,891 obtidos respectivamente por cálculo e pelo método gráfico.

Aplicando a expressão

$$T_m = \frac{Y_0 - Y}{K}$$

teremos como período de validade

$$T_m = \frac{100 - 90}{0,824} = 12,1 \text{ dias}$$

$$T_m = \frac{100 - 90}{0,891} = 11,2 \text{ dias}$$

sendo o primeiro valor obtido a partir do cálculo e o segundo do método gráfico.

SUMMARY

Accelerated decomposition tests. Determination of stability of some tinctures

It is possible to calculate the long time's alteration of a given compound which is embodied in a pharmaceutical preparation since the works of Garret who related the degradation with the temperatures at which were exposed the products he studied. Applying Arrenius's equation ($K = A. e^{-\frac{\Delta H_a}{Rt}}$) it is calculated specific velocity of degradation, since it was determined degradation's rate at higher temperatures than those we wish (two at the least).

The author applied those notions to the study of stability of tinctures of *Gentiana Lutea L.* aiming at a new compound which he isolated and whose structure he is trying to determine.

The preparation were submitted to temperatures of 50-60 and 70° C in stoves and after a determined time were performed U.V. spectrophotometrical determination. The decomposition of the compound follow an equation of order zero and the author verified that tincture loses 10 % of its rate of active product, at the end of 12 days, when kept at 20° C.

BIBLIOGRAFIA

- (1) MÜNZEL: *Pharm. Acta Helv.* **34**, 453 (1959).
- (2) SCHON: *Pharm. Acta Helv.*, **34**, 309 (1959).
- (3) WHITTET: *Pharm. Acta Helv.* **34**, 489 (1959).
- (4) GARRETT e CARPER: *J. Amer. Pharm. Ass., Sc. Ed.* **44**, 515 (1955).
- (5) GARRETT: *J. Amer. Pharm. Ass., Sc. Ed.* **45**, 171 (1956).
- (6) GARRETT: *J. Amer. Pharm. Ass., Sc. Ed.* **45**, 470 (1956).
- (7) GARRETT: *J. Amer. Pharm. Ass., Sc. Ed.* **46**, 584 (1957).
- (8) GARRETT: *J. Amer. Pharm. Ass., Sc. Ed.* **48**, 169 (1959).
- (9) NOGUEIRA PRISTA, L.; ROQUE DA SILVA, A. e PAIXÃO E MELO, A.: *Anais Fac. Farm. Porto*, **22**, 67, (1962).
- (10) NOGUEIRA PRISTA, L.; ROQUE DA SILVA, A. e DAURTE FERREIRA, S.: *Rev. Port. Farm.* **14**, 397 (1964).
- (11) TREASE: *Text-Book of Pharmacognosy*, 8.º Ed., 458-60, 1961.

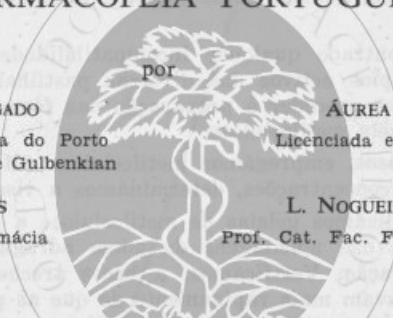
A METILCELOSE COMO SUBSTITUTO DA GOMA ADRAGANTA DAS PASTILHAS INSCRITAS NA FARMACOPEIA PORTUGUESA

por
R. RAMOS MORGADO
Assistente Fac. Farmácia do Porto
Bojseiro da Fund. Calouste Gulbenkian

ÁUREA CRUZ
Licenciada em Farmácia

ISABEL MATOS
Licenciada em Farmácia

L. NOGUEIRA PRISTA
Prof. Cat. Fac. Farmácia do Porto



A forma farmacêutica pastilhas (tablettae) tem sido injusta, mas progressivamente abandonada, a favor dos comprimidos, por razões de ordem económica e pela onda de industrialização que é característica dos tempos presentes. Efectivamente, e salvo raros casos, os comprimidos não apresentam evidentes vantagens terapêuticas em relação às pastilhas.

O modo de preparação destas, por moldagem de uma massa elástica contendo açúcar e mucilagem de gomas, é fácil e permite resolver as necessidades de diverso receituário magistral. A libertação, regra geral lenta, dos seus princípios, inspirou, afinal, a prática corrente das formas de acção prolongada.

Na Farmacopeia Portuguesa vigente inserevem-se 6 espécies de pastilhas, todas elas preparadas com mucilagem da goma adraganta. Tendo deparado com a dificuldade de conseguir, no nosso país, goma adraganta legítima que habitualmente é substituída por goma de Karaya, pensámos em ensaiar a preparação de pastilhas com geleias de metilcelulose.

*
*
*

O uso de metilcelulose como excipiente aglutinante em comprimidos está desde há muito introduzido na prática corrente. Foi também proposto por TROTTER, HAWKINS e PARROTT, para a formulação de pastilhas (1).

Na realidade o processo por estes autores empregado não foi o da moldagem, que caracteriza esta forma farmacêutica, mas a compressão em máquina adequada, havendo sempre a necessidade de recorrer a lubrificantes.

Se bem que os autores do processo designem a forma galénica obtida por «troches» que tem o significado de «pastilhas» na verdadeira acepção da palavra, o método de preparação seguido é, afinal, o empregado para os comprimidos destinados a desagregar na cavidade bucal.

Não tendo conhecimento de outras publicações sobre o assunto, julgamos por isso, que pela primeira vez se descreve o processo de obtenção de pastilhas moldadas, utilizando-se metilcelulose em lugar da clássica mucilagem de goma arábica ou adragante.

Numerosos investigadores demonstraram a tolerância farmacológica do organismo para a metilcelulose (1, 2, 3, 4). O seu gosto, quando associada ao açúcar, é agradável, não apresenta qualquer inconveniente e a viscosidade que confere à saliva obriga o próprio princípio activo a contactar por mais tempo com a mucosa oral.

Estas são, em resumo, as principais vantagens da metilcelulose que, a todos os títulos, nos parece mais inócua do que as gomas. Claramente que, do ponto de vista da compatibilidade farmacêutica, a metilcelulose, como as gomas, apresenta as suas limitações. É porém compatível com o álcool, com os álcalis, que apenas podem incrementar a sua viscosidade e com os sabões, ao contrário do que sucede com as gomas. Como estas, é precipitada facilmente por alguns cations pesados.

Não tendo encontrado qualquer incompatibilidade potencial entre a metilcelulose e os princípios activos das diversas pastilhas citadas na Farmacopeia Portuguesa, decidimos proceder à preparação das fórmulas inscritas, substituindo a goma adragante pela metilcelulose.

Em todos os casos, empregámos metilcelulose (Methocel), de cujas soluções aquosas, em várias concentrações, determinámos a viscosidade.

Inicialmente utilizámos geleias de metilcelulose a 10 %, numa simples tentativa de substituição das mucilagens da goma adragante empregada pela F.P., na mesma concentração. Verificámos, a breve trecho, que as pastilhas assim obtidas se desagregavam mais rapidamente do que as preparadas com mucilagem de goma. Após novos ensaios, em que se utilizou uma geleia a 20 % de metilcelulose, que igualmente não conferia um grau de desagregabilidade consentâneo com as exigências da forma farmacêutica, procedemos à incorporação do Methocel no açúcar das pastilhas, em diversas concentrações. Este último processo deu origem a pastilhas, cujos tempos de desagregação eram equiparáveis aos das pastilhas clássicas com gomas, sendo particularmente aconselhável a concentração de 30 % de metilcelulose em relação à totalidade da massa a moldar.

A manipulação das pastilhas processou-se segundo os moldes clássicos, levando os pós à massa de consistência adequada, por intermédio de água, a 40°. A moldagem foi perfeita, não havendo necessidade de outro lubrificante que não o próprio açúcar.

Prepararam-se todas as fórmulas inscritas na F.P.: pastilhas de bicarbonato de sódio, pastilhas de carvão, pastilhas de clorato de potássio, pastilhas de hortelã-pimenta, pastilhas de santonina e pastilhas balsâmicas.

Indicam-se as durezas (aparelho de Monsanto), friabilidade (aparelho de Roche) e velocidades de desagregação (aparelho da Erweka) para todas as pastilhas preparadas. Inclui-se também um ensaio de cedência aplicado às pastilhas de bicarbonato de sódio e de carvão, em que se determinaram quais as quantidades de princípio activo cedidas no teste de Erweka, em períodos de tempo determinados.

PARTE EXPERIMENTAL

Trabalhámos com metilcelulose cuja viscosidade, determinada experimentalmente em diversas concentrações, apresentou os valores que se encontram consignados na figura 1.

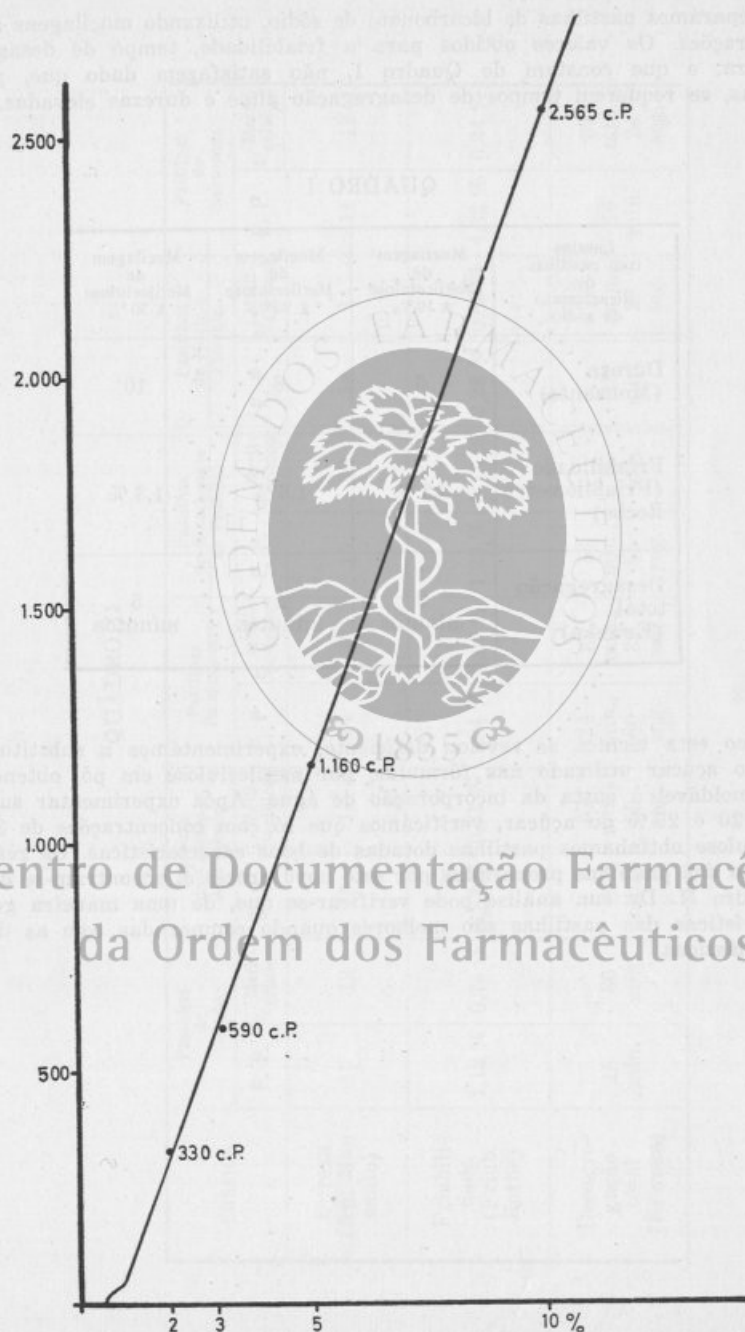


Fig. 1

Centro de Documentação Farmacêutica
da Ordem dos Farmacêuticos

Tentámos a substituição da goma adragante por essa metilcelulose, usando a técnica descrita pela F.P.

Preparámos pastilhas de bicarbonato de sódio, utilizando mucilagens a várias concentrações. Os valores obtidos para a friabilidade, tempo de desagregação e dureza, e que constam do Quadro I, não satisfazem dado que, para as pastilhas, se requerem tempos de desagregação altos e durezas elevadas.

QUADRO I

Ensaio com pastilhas de Bicarbonato de sódio	Mucilagem de Metilcelulose a 10%	Mucilagem de Metilcelulose a 20%	Mucilagem de Metilcelulose a 30%
Dureza (Monsanto)	6	8	10
Friabilidade (Friabilómetro Roche)	3,3 %	1,6 %	1,3 %
Desagregação total (Erweka)	3 minutos	4 minutos	5 minutos

Como esta técnica se revelou deficiente, experimentámos a substituição de parte do açúcar utilizado nas fórmulas, por metilcelulose em pó, obtendo uma massa moldável à custa da incorporação de água. Após experimentar substituir 10, 15, 20 e 25 % do açúcar, verificámos que só com concentrações de 30 % de metilcelulose obtínhamos pastilhas dotadas de boas características. Os resultados do ensaio das pastilhas preparadas por este novo processo, encontram-se descritos no Quadro II. Da sua análise pode verificar-se que, de uma maneira geral, as características das pastilhas são melhores quando comparadas com as das fórmulas clássicas.

QUADRO II

ENSAIOS	Pastilhas de Carvão		Pastilhas de Clorato de Potássio		Pastilhas Balsâmicas		Pastilhas de Bicarbonato de Potássio		Pastilhas de Horteiã Pimentã		Pastilhas de Santonina	
	F. P.	Metil- c/ celulose	F. P.	Metil- c/ celulose	F. P.	Metil- c/ celulose	F. P.	Metil- c/ celulose	F. P.	Metil- c/ celulose	F. P.	Metil- c/ celulose
Dureza (Ap. Mon- santo)	15	12	13	13	14	8	10	12	12	14	11	12
Friabili- dade (Friab. Rorhe)	1,12 %	0,74 %	1,83 %	0,31 %	1,84 %	0,69 %	1,23 %	0,18 %	2,28 %	0,89 %	4,32 %	0,34 %
Desagre- gação total (Erweka)	18 min.	80 min.	18 min.	57 min., 55 seg.	24 min., 30 seg.	35 min., 39 seg.	18 min., 55 seg.	45 min.	18 min.	73 min., 28 seg.	16 min.	37 min., 24 seg.

Para verificar como se processava a cedência do princípio activo, preparámos pastilhas de carvão e pastilhas de bicarbonato de sódio observando, assim, a cedência de um princípio insolúvel e de outro solúvel.

De cada uma das duas fórmulas, submetemos 5 pastilhas a ensaio e fizemos doseamentos após tempos determinados e até à desagregação total. Para determinar a quantidade de bicarbonato de sódio cedida usámos, como método de doseamento, o inscrito na F.P. na monografia daquele composto. Para as pastilhas de carvão procedemos do seguinte modo: cada fracção de cedência foi centrifugada, em tubo previamente seco e tarado; decantado o líquido sobrenadante, secou-se o resíduo na estufa a 100° e pesou-se; a diferença de peso forneceu a quantidade de carvão cedida na fracção do tempo.

Os resultados obtidos encontram-se indicados no Quadro III e Figura 2, nos quais é possível verificar uma cedência bastante regular, mais exacta no caso das pastilhas de bicarbonato, dado tratar-se de um princípio activo solúvel.

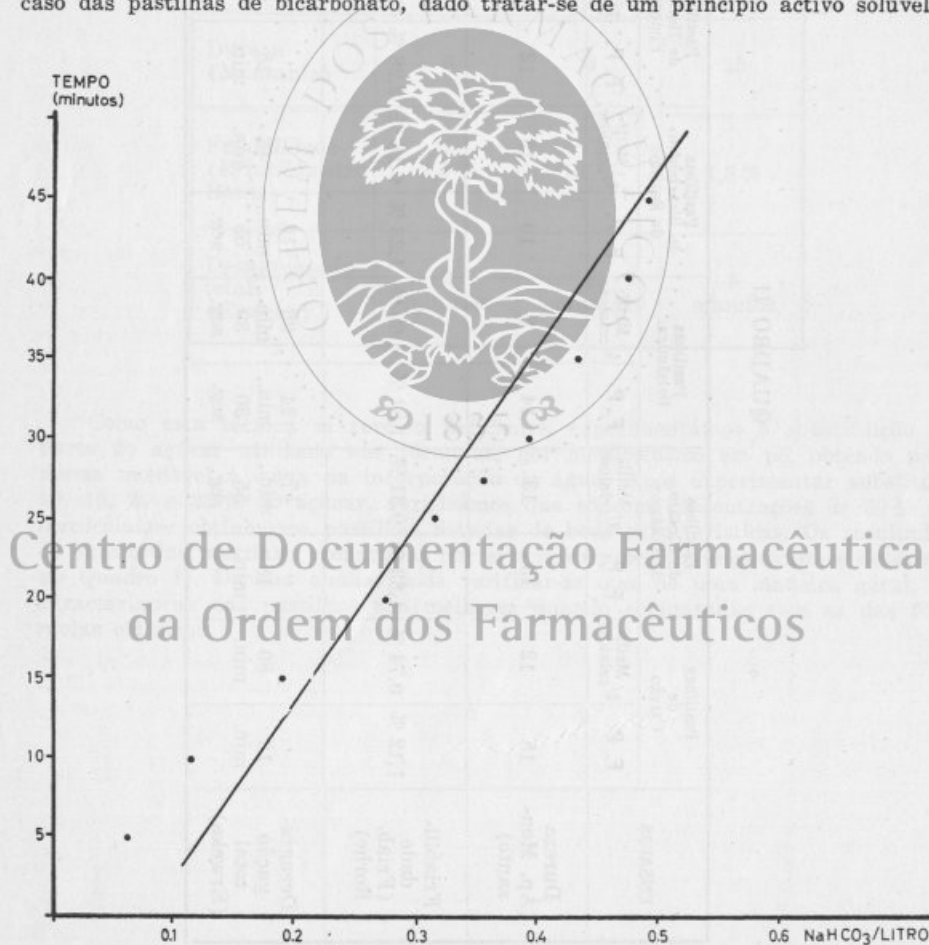


Fig. 2

QUADRO III
CARVÃO — DESAGREGAÇÃO

10 minutos	0,04 grs.
20 minutos	0,12 grs.
50 minutos	0,66 grs.
80 minutos	1,10 grs.

SUMMARY

The use of methylcellulose as substitute of tragacanth as raw material for the manufacture of troches from The Portuguese Pharmacopoeia

Since it is very difficult today to find true tragacanth on the market the authors describe a method of troches manufacture in which tragacanth is replaced by methylcellulose.

Using methylcellulose at 30 % the method was efficient.

A comparative study between the hardness friability and dissotiation speed of the troches from the portuguese pharmacopoeia when manufactured with tragacanth or according to the new method was performed.

The rate of release of an hydrosoluble compound (sodium bicarbonate) and of an hydroinsoluble compound (coal) was still studied.

Centro de Documentação Farmacêutica
da Ordem dos Farmacêuticos

BIBLIOGRAFIA

- (¹) TROTTER, G. F., HAWKINS, D. B. e PARROT, E. L.: *Am. J. Pharm. Ass.* **128**, 50 (1956).
 (²) KNIGHT, H. C., HODGE JR., H. C., SAMSEL, E. P., DEHAP, R. E. e MCCOLLISTER, D. D.: *J. Am. Pharm. Ass.* **41**, 427 (1952).
 (³) MCCOLLISTER, D. D. e OYEN, F.: *J. Am. Pharm. Ass.* **43**, 664 (1954).
 (⁴) PATEL, K. S. e GUTH, E. P.: *J. Am. Pharm. Ass.* **43**, 754 (1954).

NOTA SOBRE A APLICAÇÃO DA CROMATOLOGRAFIA EM CAMADA DELGADA À DIAGNOSE DE TINTURAS DA FARMACOPEIA PORTUGUESA

por
M. I. RODRIGUES MATOS
Licenciada em Farmácia

Se bem que o fundamento da cromatografia em camada delgada seja conhecido desde longa data (1), o processo só recentemente se desenvolveu, depois da padronização do aparelho e adsorventes necessários (2).

Nos últimos anos, o método tem sido aplicado à separação de numerosos compostos, como flavonóides (3) e alcalóides (4) (5), mas não conhecemos nenhum estudo em que se tenha empregado na diagnose de tinturas.

Tratando-se de um processo muito rápido, que permite na maioria das vezes conseguir uma separação perfeita e eluição de compostos puros, pensámos em o empregar na identificação de alcalóides de algumas tinturas da Farmacopeia Portuguesa.

Tendo, inicialmente, utilizado placas de alumina e sílica G, verificamos, a breve trecho, serem as primeiras mais aconselháveis para o ensaio.

Todas as tinturas empregadas foram acidificadas a pH 3-4, com ácido clorídrico N/1. Procedeu-se à deposição de cerca de 10 microlitros da tintura em exame, em placas de alumina, activadas a 100° C., por duas horas. Como líquido de desenvolvimento, empregaram-se o n-butanol saturado de água, o acetato de etilo e o clorofórmio.

As placas deixaram-se desenvolver até que o líquido atingisse 10 cm do ponto de aplicação da tintura.

A revelação foi efectuada com reagente de Dragendorff modificado e, apenas no caso da tintura de cola, com iodo. Em todos os ensaios empregaram-se padrões de cloridrato de alcalóide ou alcalóides existentes nas tinturas. O quadro junto mostra os resultados obtidos com 14 tinturas da Farmacopeia Portuguesa.

O ensaio permite, muito rapidamente, identificar qualquer das tinturas em questão e torna ainda possível apreciar até que ponto pode ter havido alteração durante a armazenagem.

Tinturas	Alcaloides ensaiados	Coloração com Reag. Dragendorff	Valores de Rf com os líquidos de desenvolvimento		
			Butanol aquoso	Cloro-fórmio	Acetato de Etilo
ACONITO	ACONITINA	ALARANJADA	0,85	—	—
BELADONA	ATROPINA	ALARANJADA	0,62	—	—
	HIOSCIAMINA	ALARANJADA	0,62	—	—
CALUMBA	BERBERINA	VIOLETA	0,80	—	—
COCA	COCAINA	ALARANJADA	0,78	—	0,95
COLA (*)	CAFEINA	ALARANJADA	0,93	0,72	—
	TEOBROMINA	ALARANJADA	—	0,05	—
COLQUICO	COLQUICINA	ALARANJADA	0,86	—	—
FAVA DE SANTO INÁCIO	BRUCINA	ALARANJADA	0,89	—	0,25
	ESTRICNINA	ALARANJADA	0,90	—	0,48
HIDRASTE	BERBERINA	VIOLETA	0,82	0,02	—
	HIDRASTINA	AMARELO	0,82	0,86	0,83
IPECACUANHA	PSICOTERINA	ALARANJADA	0,55	—	—
	EMETINA	ALARANJADA	0,92	—	—
	CEFALINA	ALARANJADA	0,98	—	—
JABORANDI	PILOCARPINA	ALARANJADA	0,66	—	—
LOBELIA	LOBELINA	ALARANJADA	0,77	—	—
MEIMENDRO	ATROPINA	ALARANJADA	0,62	—	—
	HIOSCIAMINA	ALARANJADA	0,62	—	—
	ESCOPOLAMINA	ALARANJADA	0,86	—	—
NOZ VÔMICA	BRUCINA	ALARANJADA	0,89	—	0,25
	ESTRICNINA	ALARANJADA	0,90	—	0,48
ÓPIO	MORFINA	ALARANJADA	—	—	0,09
	CODEINA	ALARANJADA	—	—	0,33
	TEBAINA	ALARANJADA	—	—	0,66
	PAPAVERINA	ALARANJADA	—	—	0,93
	NARCEINA	ALARANJADA	—	—	0,97

(*) — A Teobromina só foi possível detectar, utilizando o Iodo como revelador.

SUMMARY

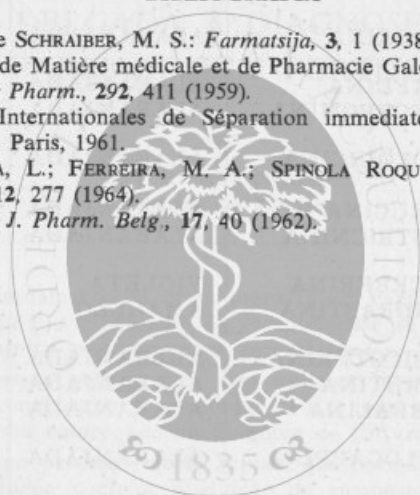
Application of the thin layer's chromatography to the diagnostic of some tinctures from the portuguese pharmacopoeia

Several alkaloid-containing tinctures registered on the Portuguese Pharmacopoeia were essayed in alumina's thin layer using several development mixtures.

The chromatograms were developed with modified Dragendorff's reagent, comparing the R_f obtained from the spots with standard values obtained from pure alkaloids.

BIBLIOGRAFIA

- (¹) ISMAILOV, N. A. e SCHRAIBER, M. S.: *Farmatsija*, **3**, 1 (1938) Seg. R. Paris — Travaux des Laboratoires de Matière médicale et de Pharmacie Galénique, Paris, 1964.
- (²) STAHL, E.: *Archiv Pharm.*, **292**, 411 (1959).
- (³) PARIS: Journée Internationales de Séparation immédiate et de chromatographie, 195. G. A. M. S., Paris, 1961.
- (⁴) NOGUEIRA PRISTA, L.; FERREIRA, M. A.; SPINOLA ROQUE e CORREIA ALVES, A.: *Garcia de Orta*, **12**, 277 (1964).
- (⁵) VAN SEVEREN J.: *J. Pharm. Belg.*, **17**, 40 (1962).



Centro de Documentação Farmacêutica
da Ordem dos Farmacêuticos

ENSAIOS DE DECOMPOSIÇÃO ACELERADA

III — AVALIAÇÃO DA ESTABILIDADE DE UMA SUSPENSÃO AQUOSA DE ÁCIDO ACETILSALICÍLICO

por

A. ROQUE DA SILVA
Assistente Fac. Farmácia
do Porto
Bolseiro do I. A. C.

M. LEMA PIRES DOS SANTOS
Licenciada em Farmácia

L. NOGUEIRA PRISTA
Prof. Cat. Fac. Farmácia
do Porto

Pode dizer-se que o ácido acetilsalicílico continua a apresentar todo o seu interesse inicial como medicamento, apesar da descoberta das suas propriedades se situar há já largas dezenas de anos.

Desde que a sua difusão se principiou a fazer, um dos problemas galénicos que imediatamente surgiu foi o da obtenção de fórmulas líquidas estáveis. Efectivamente, o ácido acetilsalicílico é facilmente hidrolisável em meio aquoso, produzindo-se ácidos acético e salicílico. A cinética da hidrólise é dependente, entre outros factores, do pH do líquido aquoso e de se tratar de uma solução ou suspensão. Assim, as suspensões, degradam-se segundo equações de zero ordem, enquanto que as soluções a pH inferior a 7, acusam uma hidrólise que segue um processo de decomposição de 1.^a ordem (1). Quando a solução apresenta reacção alcalina, o processo degradativo é dependente da concentração em ácido acetilsalicílico e de hidroxiliões presentes, regendo-se por uma equação de 2.^a ordem. Verificou-se também que as soluções aquosas apresentam a sua máxima estabilidade a pH 2,5 (1), valor que corresponde à saturação.

Dados os factos a que acima fazemos referência é compreensível que, de preferência, se tenham utilizado suspensões de aspirina, já que a sua taxa de hidrólise (reacção de zero ordem) é regra geral inferior às registadas nas soluções. Efectivamente, BOWEY (2) tendo ensaiado diversos tampões e solubilizantes da «aspirina» verificou que a solução que considerou mais estável continha 4,4 % de ácido acetilsalicílico solubilizado e tamponado por 8,8 % de citrato de potássio. Mesmo assim, esta fórmula origina 25 % de hidrólise, quando conservada durante 8 dias à temperatura ambiente.

CLARK (3) aconselha o retardamento da hidrólise pela acção simultânea da sacarose e de citratos, considerando como mais adequada a mistura de 3 partes de citrato de potássio com 1 de ácido acetilsalicílico em solução saturada de açúcar.

A utilização de líquidos não aquosos tem sido tentada, sem grande sucesso, tendo sido preconizada a glicerina, o propilenoglicol e o polietilenoglicol 400 (4). SCHWARTZ e colaboradores propuseram uma fórmula em que a «aspirina» se

emprega na concentração de 2,5 % num dissolvente terciário constituído por água, álcool e polietilenoglicol 400 (15:20:60). A preparação, cujo gosto não é agradável, é edulcorada com sacarina que, ao contrário do seu sal sódico, não afecta a hidrólise do princípio activo.

No domínio das suspensões, as tentativas efectuadas têm sido mais frutuozas. JAMES (*) observa que a suspensão de «aspirina» em água cloroformada, inscrita no British Pharmaceutical Codex se hidrolisa na taxa de 1-4 %, em 8 dias de armazenagem, à temperatura ambiente. Esta suspensão é favorecida pela presença de goma adraganta, processo já de há muito utilizado em farmácia de oficina.

Trabalhos de SEYMOUR BLANG e J. WESOLOWSKY (°) demonstram o efeito de vários aditivos na preparação de suspensões de ácido acetilsalicílico, concluindo que o sorbitol a 50 %, a polivinilpirrolidona a 1 % e o polietilenoglicol 6.000 a 3 % originam fórmulas em que a «aspirina» é pouco hidrolisada. Se bem que a menor velocidade específica de decomposição se tenha obtido com o PEG 6.000 e seguidamente com a PVP, os autores dão a preferência ao sorbitol a 50 % que não origina, como as anteriores, a formação de precipitados gomosos.

Também LEVY e JONES (°) propuseram uma suspensão aquosa extemporânea de ácido acetilsalicílico em que utilizaram o sorbitol como veículo principal e a etilcelulose como agente suspensor. A fórmula era aromatizada com essência de framboesas (*) e continha metil e propilparabenos como agentes antimicrobianos. A suspensão proposta emprega a mistura de sorbitol em pó (70 g) com a «aspirina» (6 g), à qual se associa a etilcelulose (Cellosize WP-300), a essência, o metilparabeno e o propilparabeno, na proporção de, respectivamente, 1 : 1 : 0,12 : 0,02 g. A suspensão forma-se no momento de emprego, pela simples agitação da mistura de pós com 56 ml de água destilada. Segundo os autores do método, a suspensão apresenta uma estabilidade apreciável, cifrando-se a hidrólise do ácido acetilsalicílico em cerca de 6,6 % quando conservada durante um mês à temperatura ambiente.

Tendo nós tido ocasião de comparar várias fórmulas de suspensão de «aspirina» destinadas a pediatria e verificado que a suspensão apresentada por LEVY tinha gosto mais agradável do que as restantes, decidimos adoptar aquela fórmula aos hábitos tradicionais do nosso país. Nesta conformidade substituímos a essência de framboesas pela vanilina, cujo gosto está muito mais generalizado entre nós. A quantidade de vanilina que produziu a fórmula mais agradável foi de 0,2 %.

Dadas estas modificações da suspensão inicial tivemos necessidade de apreciar se a vanilina influiria na degradação hidrolítica do ácido acetilsalicílico. O estudo da hidrólise do composto foi efectuado mediante determinações acidimétricas, por volumetria com soda N/10 à luz de Wood e utilizando como indicador de viragem a umbeliferona.

A estabilidade da «aspirina» foi estudada por técnica de decomposição acelerada, quando a suspensão era submetida a aquecimentos a 50°, 60°, 70° e 80° C., durante alguns dias. Aplicando a equação de Arrhenius para a degradação térmica, foi fácil calcular a velocidade específica de decomposição do produto, à temperatura ambiente e estabelecer o prazo de validade da suspensão.

O cálculo executado, foi o que se descreve em notas anteriores (*) (°).

A decomposição hidrolítica da «aspirina» na suspensão, processou-se segundo uma equação de zero ordem.

A velocidade específica de degradação a 20° era de 0,631 (K₂₀) e o período

(*) Aromalok (TM) — Raspberry imitation, Fritsche Brothers Inc., New York.

de validade da suspensão acabada era de 16 dias, admitindo uma quebra aceitável de 10 % de ácido acetilsalicílico.

Comparando os nossos resultados com os de LEVY e JONES, observamos que a fórmula modificada apresenta uma estabilidade ligeiramente inferior à admitida por aqueles autores.

PARTE EXPERIMENTAL

I. PREPARAÇÃO DA SUSPENSÃO

Prepararam-se suspensões de ácido acetilsalicílico por agitação de uma mistura de pós com água destilada.

A mistura de pós apresentava a seguinte composição:

— Ácido acetilsalicílico	6,0 g
— Vanilina	0,2 g
— Etilcelulose (Cellosize WP - 300)	1,0 g
— D-Sorbitol em pó (Atlas Powder C°)	70,0 g
— Parahidroxibenzoato de metilo	0,12 g
— Parahidroxibenzoato de propilo	0,02 g

Todas as substâncias foram reduzidas a pó fino e misturadas em almofariz.

A mistura preparada, foram adicionados 56 ml de água destilada, procedendo-se à sua agitação, até perfeita dispersão.

2. ENSAIOS DE DECOMPOSIÇÃO ACELERADA

Em estufas termoreguladas, foram aquecidas 4 amostras de suspensão aquosa, às temperaturas de 50°, 60°, 70° e 80°.

Em intervalos regulares, procedeu-se ao doseamento dessas amostras, seguindo o processo volumétrico já mencionado.

Para que as rectas dos gráficos obedecessem ao aspecto convencional, não podíamos exprimir os resultados em valores de soda 0,1 N gasta, visto que as curvas resultariam ascendentes. Resolvemos por isso exprimir os resultados em termos de ácido clorídrico 0,1 N necessário para neutralizar o remanescente de 10 ml de soda 0,1 N adicionada inicialmente à amostra a analisar. Isto tem o mesmo significado, como aliás verificámos experimentalmente, que dosear directamente com soda 0,1 N e subtrair de 10 o volume gasto. Assim, em ensaios prévios, verificámos que doseando directamente a suspensão inicial e utilizando a soda 0,1 N, gastávamos 5,9 ml. Adicionando a uma outra fracção da suspensão, 10 ml dessa mesma soda e determinando o excesso pelo ácido clorídrico 0,1 N, encontrámos um gasto de ácido de 4,12 ml o que corresponde a 5,88 ml de soda consumida ($10 - 4,12 = 5,88$) Em outros 3 ensaios de comprovação os resultados foram sempre concordantes. A este mesmo valor de ácido clorídrico inicial (4,1 ml) fizémos corresponder 100 % de aspirina.

Os resultados dos doseamentos, encontram-se no quadro seguinte:

DIAS	50°		60° C		70° C		80° C	
	HCl gasto	Aspirina %	HCl gasto	Aspirina %	HCl gasto	Aspirina %	HCl gasto	Aspirina %
0	4,1 ml	100 %	4,1 ml	100 %	4,1 ml	100 %	4,1 ml	100 %
1	—	—	3,4 ml	82,9 %	2,6 ml	63,4 %	1,5 ml	36,6 %
2	3,3 ml	80,5 %	2,9 ml	70,7 %	1,5 ml	36,6 %	—	—
3	—	—	2,5 ml	60,9 %	0,2 ml	4,9 %	—	—
4	2,6 ml	63,4 %	1,8 ml	44 %	—	—	—	—

As velocidades específicas de degradação, foram as seguintes:

$$K_{50^{\circ}} = 9,45 \text{ dias}^{-1}; K_{60^{\circ}} = 14,68 \text{ dias}^{-1}; K_{70^{\circ}} = 38,3 \text{ dias}^{-1}; K_{80^{\circ}} = 63,4 \text{ dias}^{-1}$$

Na figura 1, encontram-se relacionadas as taxas de hidrólise em função das temperaturas e tempos. Como se vê, o processo de decomposição é de zero ordem.

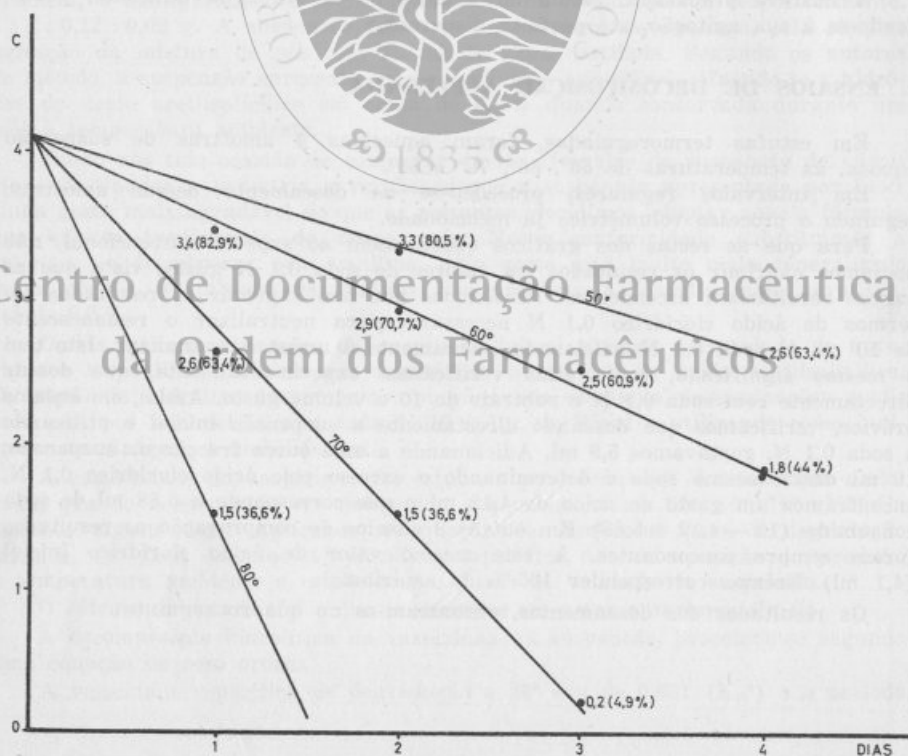


Fig. 1

Com os valores das velocidades específicas de degradação determinadas, relacionámos, segundo a equação de Arrhenius, os logaritmos desses mesmos valores com o inverso das temperaturas absolutas.

Na figura 2 encontra-se expressa a referida relação.

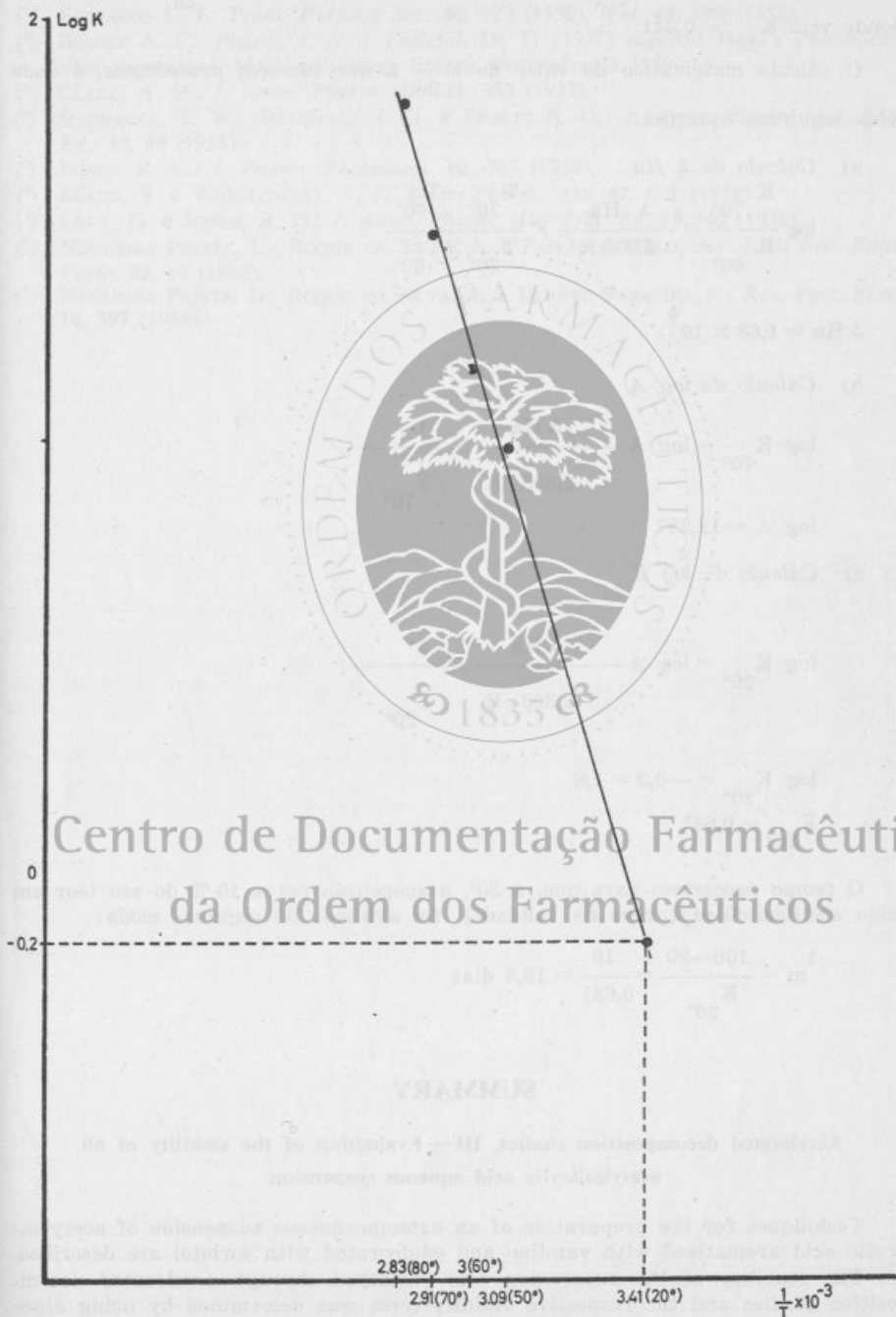


Fig. 2

Por extrapolação gráfica determinou-se a velocidade de decomposição a 20°, como se indica na Fig. 2, encontrando-se o valor de $\log K_{20^\circ} = -0,2 = 1,8$.

Donde vem $K_{20^\circ} = 0,631$.

O cálculo matemático do valor de K_{20° a que também procedemos, é dado pelas seguintes equações:

a) Cálculo de ΔHa

$$\log \frac{K_{70^\circ}}{K_{60^\circ}} = \frac{\Delta Ha}{2,303.R} \times \frac{T_{70^\circ} - T_{60^\circ}}{T_{70^\circ} \times T_{60^\circ}}$$

$$\Delta Ha = 1,68 \times 10^4$$

b) Cálculo de $\log A$

$$\log K_{70^\circ} = \log A - \frac{\Delta Ha}{2,303.R} \times \frac{1}{T_{70^\circ}}$$

$$\log A = 12,287$$

c) Cálculo de $\log K_{20^\circ}$

$$\log K_{20^\circ} = \log A - \frac{\Delta Ha}{2,303.R} \times \frac{1}{T_{20^\circ}}$$

$$\log K_{20^\circ} = -0,2 = 1,8$$

$$K_{20^\circ} = 0,631$$

O tempo necessário para que, a 20°, a suspensão perca 10% do seu teor em ácido acetilsalicílico (prazo de validade), foi avaliado do seguinte modo:

$$t_m = \frac{100-90}{K_{20^\circ}} = \frac{10}{0,631} = 15,8 \text{ dias}$$

SUMMARY

Accelerated decomposition studies, III — Evaluation of the stability of an acetylsalicylic acid aqueous suspension

Techniques for the preparation of an extemporaneous suspension of acetylsalicylic acid aromatized with vaniline and edulcorated with sorbitol are described.

The stability of the suspension was evaluated through accelerated decomposition studies and the respective validity term was determined by using algebraic and graphic methods.

BIBLIOGRAFIA

- (¹) EDWARDS L. J., *Trans. Faraday Soc.* **46**, 723 (1950), *ibid.* **48**, 696 (1952).
- (²) BOWEY A. E.: *Pharm. J. New Zealand*, **19**, 11 (1957) segundo Husa's Pharmaceutical Dispensing, Mack publishing Easton, Pennsylvania 1959.
- (³) CLARK, A. H.: *J. Amer. Pharm. Ass.* **21**, 383 (1932).
- (⁴) SCHWARTZ, T. W.; SHVEMAR, N. G. e ENALDI R. G.: *J. Amer. Pharm. Ass. Prat. Ed.*: **19**, 40 (1958).
- (⁵) JAMES, K. C.: *J. Pharm. Pharmacol.* **10**, 363 (1958).
- (⁶) BLAUG, S. e WESOLOWSKI, J.: *J. Amer. Pharm. Ass.* **47**, 691 (1958).
- (⁷) LEVY, G. e JONES, R. D.: *J. Amer. Pharm. Ass. Prat. Ed.* **19** 546 (1958).
- (⁸) NOGUEIRA PRISTA, L.; ROQUE DA SILVA, A. e PAIXÃO E MELO, A.: *Anais Fac. Farm. Porto*, **22**, 67 (1962).
- (⁹) NOGUEIRA PRISTA, L.; ROQUE DA SILVA, A. e DUARTE FERREIRA, S.: *Rev. Port. Farm.* **14**, 397 (1964).



Centro de Documentação Farmacêutica da Ordem dos Farmacêuticos

IDENTIFICAÇÃO E DOSAGEM DOS COMPRIMIDOS DUM NOVO QUIMIOTERÁPICO DERIVADO DA 1,8-NAFTIRIDINA

por
MANUEL J. J. VIEIRA DA SILVA

MARIA TEREZINHA C. NOGUEIRA

Licenciados em Farmácia

Ácido nalidíxico é o nome genérico conferido a um derivado da naftiridina, novo agente quimioterápico inteiramente distinto, do ponto de vista químico, das sulfamidas, das nitrofurazonas e dos antibióticos.

Quimicamente é o ácido 1-etil-7-metil-1,8-naftiridino-4-ona-3-carboxílico, produto sintetizado por LESHNER⁽¹⁾, que mostrou ser fortemente activo contra as bactérias gram-negativas⁽²⁾ e, além disso, dotado de baixa toxicidade⁽³⁾. A ausência de quaisquer dados analíticos, além do conhecimento que tínhamos das solubilidades e do seu ponto de fusão⁽⁴⁾, levou-nos a estudar as suas características físico-químicas, ensaios de identificação e de doseamento, e, bem assim, os ensaios qualitativos e quantitativos da substância na forma em comprimidos. Deste modo traçámos os espectros de absorção, da substância pura, no U.V., em solução 0,1 N de OHNa e em clorofórmio, os quais apresentaram máximos e mínimos de absorção característicos, procedendo de igual modo para a substância depois de convenientemente extraída dos comprimidos. Traçámos também os espectros de I.V., quer com a substância pura, quer com o produto isolado dos comprimidos, os quais apresentaram aspecto semelhante e característico. Deste modo pudemos identificar e dosear com segurança o produto em estudo.

PARTE EXPERIMENTAL

1. CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS

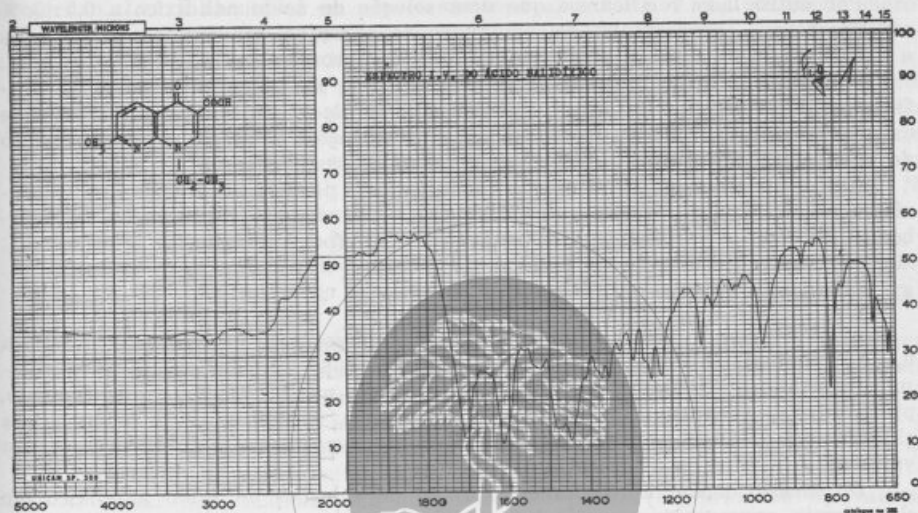
O ácido nalidíxico é um pó branco a amarelo-pálido, cristalino; inodoro e insípido; solúvel no clorofórmio e nos álcalis diluídos, parcialmente solúvel no dioxano e ligeiramente solúvel na água, no etanol, no metanol e no éter.

Funde com decomposição entre 226-230° C, com mudança de cor para vermelho-romã.

2. ESPECTROFOTOMETRIA NO I.V.

Fizemos uma dispersão com 1 mg de ácido nalidíxico em 150 mg de BrK e traçámos em espectrofotómetro Unicam SP 200, dotado de prisma de C1Na o

espectro entre 2μ e 15μ , verificando a existência de fortes bandas de absorção características a 1610 cm^{-1} , entre 1700 cm^{-1} e 1710 cm^{-1} e a 1440 cm^{-1} (Fig. 1).



3. ESPECTROFOTOMETRIA NO U.V.

Uma solução da substância a $0,4 \text{ mg } \%$, em $\text{OHNa } 0,1 \text{ N}$, apresentou em espectrofotómetro SP 500, em célula de 1 cm de espessura, dois máximos de absorção, sendo um a $258 \pm 1 \text{ m}\mu$ e outro a $333 \pm 1 \text{ m}\mu$ e ainda dois mínimos de absorção, sendo um a cerca de $238 \text{ m}\mu$ e o outro a cerca de $280 \text{ m}\mu$, (Fig. 2).

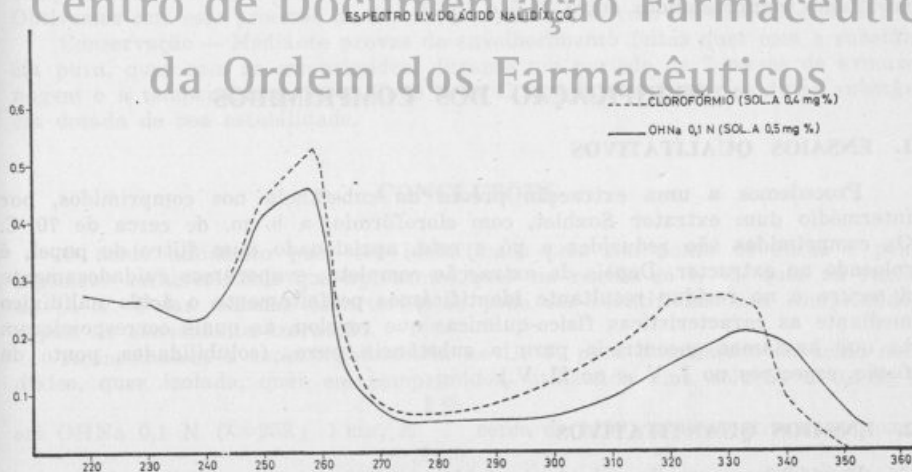


Fig. 2

Verificámos que a $258 \pm 1 \mu\mu$ a Lei de Beer é seguida, dada a proporcionalidade existente entre as concentrações utilizadas (0,6 mg %, 0,4 mg % e 0,2 mg %) e as extinções lidas. Neste comprimento de onda encontrámos para E (1 %, 1 cm) um valor à volta de 1150.

Por outro lado verificámos que uma solução de ácido nalidíxico a 0,5 mg % em clorofórmio, apresentava dois máximos de absorção, sendo um a $259 \pm 1 \mu\mu$ e o outro a $330 \pm 1 \mu\mu$ e ainda um mínimo de absorção a $279 \pm 1 \mu\mu$, (Fig. 2).

Utilizando três diluições diferentes, 0,25 mg %, 0,5 mg % e 1 mg %, verificámos que a $259 \pm 1 \mu\mu$, era seguida a Lei de Beer, dada a proporcionalidade existente entre as concentrações usadas e as extinções lidas. Neste comprimento de onda obtivemos para E (1 %, 1 cm) um valor igual a cerca de 1060.

Ainda como achega, se bem que pouco valiosa, para identificação da substância, aquecemos uma pequena quantidade desta em contacto com solução de bicarbonato de sódio e verificámos a libertação de CO_2 (por turvação da água de cal).

4. DETERMINAÇÕES QUANTITATIVAS

Aproveitando o facto do ácido nalidíxico apresentar, em solução de OHNa 0,1 N, um máximo de absorção característico a $258 \pm 1 \mu\mu$ e seguir neste comprimento de onda a Lei de Beer, pudemos por esse motivo doseá-lo perfeitamente, preparando para tal uma solução a 0,4 mg % em OHNa 0,1 N e lendo a sua absorção naquele comprimento de onda. Encontramos para a substância pura um valor de E (1 %, 1 cm) à volta de 1150.

Do mesmo modo, aproveitando o facto de soluções de ácido nalidíxico em clorofórmio apresentarem um máximo de absorção característico a $259 \pm 1 \mu\mu$, no qual seguem a Lei de Beer, podemos deste modo doseá-lo perfeitamente, para o que bastará preparar uma solução da substância pura a 0,5 mg % em clorofórmio e ler a sua absorção naquele comprimento de onda. Encontrámos para a substância pura um valor de E (1 %, 1 cm) à volta de 1060.

Titulamos ainda o ácido nalidíxico pelo seguinte processo: pesar rigorosamente cerca de 250 mg da substância num Erlenmeyer de 200 ml; adicionar 25 ml de OHNa 0,1 N, rigorosamente medidos, agitar até dissolver; adicionar depois 50 ml de água destilada e V gotas de fenoltaleína. Titular o excesso de OHNa pelo SO_3H_2 0,1 N. Sabendo que 1 ml de OHNa 0,1 N equivale a 23,22 mg de ácido nalidíxico, deduzimos facilmente a pureza da substância em análise. Obtivemos resultados compreendidos entre 98,6 e 100 %.

VERIFICAÇÃO DOS COMPRIMIDOS

1. ENSAIOS QUALITATIVOS

Procedemos a uma extracção prévia da substância nos comprimidos, por intermédio dum extrator Soxhlet, com clorofórmio, a b. m. de cerca de 70°C . Os comprimidos são reduzidos a pó e este, aprisionado num filtro de papel, é colocado no extractor. Depois da extracção completa, evaporámos cuidadosamente à secura e no resíduo resultante identificámos perfeitamente o ácido nalidíxico mediante as características físico-químicas que revelou, as quais corresponderam às que havíamos encontrado para a substância pura, (solubilidades, ponto de fusão, espectros no I. V. e no U. V.)

2. ENSAIOS QUANTITATIVOS

Para doseamento da substância ácido nalidíxico nos comprimidos, utilizámos quatro técnicas diferentes: 1.ª Pesam 10 comprimidos, reduzi-los a pó e tomar

uma quantidade desse pó equivalente a 50 mg de ácido nalidíxico; extrair com várias porções de clorofórmio, filtrando-as através dum G3 para um balão aferido de 100 ml e completar o volume final com mais clorofórmio. Pipetar 1 ml desta solução para outro balão aferido de 100 ml e completar o volume final com clorofórmio. Ler a absorção, em espectrofotómetro, a $259 \pm 1 \mu$, utilizando clorofórmio como branco. Neste comprimento de onda o E (1 %, 1 cm) para a substância pura é igual a cerca de 1060.

2.^a Pesar rigorosamente uma quantidade de pó dos comprimidos equivalente a cerca de 40 mg de ácido nalidíxico; extrair com clorofórmio, filtrando através dum G3 para um recipiente apropriado; evaporar cuidadosamente à secura e transferir o residuo assim obtido, integralmente e à custa de OHNa 0,1 N, para um balão aferido de 100 ml; completar o volume final com mais OHNa 0,1 N. Medir rigorosamente 1 ml desta solução para um balão aferido de 100 ml e completar nele, com OHNa 0,1 N, o volume final de 100 ml.

Ler em espectrofotómetro, a $258 \pm 1 \mu$ a absorção dada por esta solução, utilizando OHNa 0,1 N como branco. Neste comprimento de onda o E (1 %, 1 cm) é cerca de 1150.

3.^a Aprisionar uma quantidade de pó dos comprimidos, equivalente a cerca de 1 g de ácido nalidíxico, num filtro de papel, introduzir num Soxhlet e extrair a b. m. de 70° C, com clorofórmio, para um balão previamente seco e tarado. Evaporar à secura até peso constante. Pesar. O peso de residuo obtido equivale à quantidade de ácido nalidíxico presente na amostra tomada e revela todas as suas características físico-químicas.

4.^a Pesar num matraz uma quantidade de pó dos comprimidos equivalente a cerca de 250 mg da substância pura; adicionar 25 ml de OHNa 0,1, rigorosamente medidos; agitar até dissolver, juntar 50 ml de água destilada e V gotas de fenoltaleína. Titular com SO₂H₂ 0,1 N o excesso de OHNa 0,1 N e deduzir daí a quantidade desta, necessária para neutralizar o ácido nalidíxico. Sabendo que 1 ml de OHNa 0,1 N equivale a 23,22 mg de ácido nalidíxico, determinamos com segurança a quantidade desta substância presente na amostra tomada.

Os três primeiros processos de doseamento indicados, resultam satisfatórios sempre que o excipiente dos comprimidos não contenha qualquer substância solúvel no clorofórmio, que possa interferir.

Com o quarto processo indicado, torna-se necessário que o excipiente dos comprimidos não contenha substâncias que consumam qualquer dos titulantes. Obtivemos com este processo de doseamento resultados com um erro inferior a 2 %.

Conservação — Mediante provas de envelhecimento feitas quer com a substância pura, quer com os comprimidos, durante um período de 7 meses de armazenagem e a temperaturas de 40-50-60 e 70° C, concluímos tratar-se duma substância dotada de boa estabilidade.

CONCLUSÕES

O ácido nalidíxico pode ser identificado pelo seu ponto de fusão e pelos espectros característicos que apresenta, quer na região do I. V., quer na região do U. V. Pelas mesmas características pode ser identificado nos comprimidos, depois de conveniente extração.

Aconselhamos a espectrofotometria no U. V. para doseamento do ácido nalidíxico, quer isolado, quer em comprimidos, utilizando uma solução a 0,4 mg %

em OHNa 0,1 N ($\lambda=258 \pm 1 \mu$; E ^{1 %} cerca de 1150) e alternativamente, como ^{1 cm}

método de rotina, por acidimetria indirecta em meio aquoso com OHNa 0,1 N e titulação à fenoltaleína.

SUMMARY

The Nalidix acid present on I.R., in dispersion of 1 mg in 150 mg BrK, a spectrum with characteristic appearance.

The Nalidix acid presents on U.V. in solution of 0.4 mg in 100 ml of NaOH 0.1 N an absorption maximum at $258 \pm 1 \mu$, with the E value (1%, 1 cm) equal to 1150.

The Nalidix acid presents on U.V. in solution of 0.5 mg in 100 ml of chloroform an absorption maximum at $259 \pm 1 \mu$, with E value (1%, 1 cm) equal to 1060.

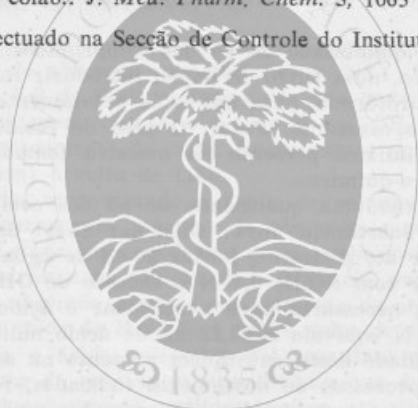
BIBLIOGRAFIA

(¹) LESHAR, G. Y.: Pat. Belg. 612258, 3 de Julho (1962).

(²) CARROL, GRAYSON: *J. Urol.* **90**, 476 (1963).

(³) LESHAR, G. Y. e colab.: *J. Med. Pharm. Chem.* **5**, 1063 (1962).

(Trabalho efectuado na Secção de Controle do Instituto Luso-Fármaco)



Centro de Documentação Farmacêutica da Ordem dos Farmacêuticos

IDENTIFICAÇÃO E DOSAGEM DA DIMEFLINA E DOS SEUS PREPARADOS GALÉNICOS

por

M. J. VIEIRA DA SILVA
M. T. CARVALHO NOGUEIRA

M. M. LEITE INÁCIO
A. MARQUES LEAL

Licenciados em Farmácia

A dimeflina é um novo analéptico respiratório de grande interesse clínico, estudado sobretudo por investigadores italianos (1, 2, 3), do grupo das aminometilcromonas, precisamente o cloridrato de 3-metil-7-metoxi-8-dimetil-amino-metilflavona.

O interesse terapêutico deste fármaco levou-nos a pensar na sua industrialização, para o que tivemos de estudar o seu ensaio de pureza e a estabilidade dos preparados galénicos.

Quando iniciámos esses ensaios, as referências bibliográficas sobre esta matéria limitavam-se apenas ao ponto de fusão, solubilidades, uma reacção de identificação com ácido sulfúrico e uma dosagem colorimétrica baseada na reacção obtida com o ácido sulfúrico após redução com o ácido clorídrico e zinco a quente (4).

Os ensaios que seguidamente referimos na parte experimental, dizem sobretudo respeito a reacções de identificação e estudo dos espectros no U. V. (em vários solventes) e no I. V.; e ainda a alguns métodos de doseamento (anidrovolumetria, gravimetria com ácido silicotúngstico, argentimetria e espectrofotometria) aplicáveis também aos preparados galénicos.

PARTE EXPERIMENTAL

I. PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMICAS

O cloreto de dimeflina é um pó branco ou ligeiramente amarelado, cristalino cujo ponto de fusão referido na literatura é 213-214° com decomposição. Verificámos no entanto uma certa influência da velocidade de aquecimento do banho e da temperatura de colocação do tubo capilar, tendo obtido valores vizinhos de 221-223° com aquecimento desde cerca de 210° e valores próximos de 210-214° com aquecimento desde $\pm 200^\circ$.

É muito solúvel na água, no álcool e no clorofórmio; insolúvel no éter, acetona e benzeno.

Não cora pela soda nem pelo ácido azótico, mas cora de amarelado com o ácido sulfúrico (5 mg + 1 ml) observando-se leve fluorescência azul (4). Aquecido com o iodo em meio alcalino dá iodofórmio. A solução aquosa a 0,5 %

precipita com os reagentes gerais dos alcalóides (ácido silicotungstico, cloreto mercúrico, Nessler, iodo, iodeto de potássio, ácido picrico e sal de Reinecke).

Pareceram-nos de especial interesse para a identificação do composto, as seguintes reacções:

a) com o iodeto de potássio (5 ml da solução a 0,5% + 2 ml do reagente a 20%) — formação quase imediata de pp. branco, abundante, micro-cristalino (agulhas finas, isoladas ou agrupadas); o precipitado (que é solúvel no álcool e na acetona) lavado com água e seco a $\pm 60^\circ$, funde com decomposição a cerca de 213-215°.

Na figura 1 apresenta-se o espectro no I. V. do produto obtido que deve tratar-se do iodeto da base.

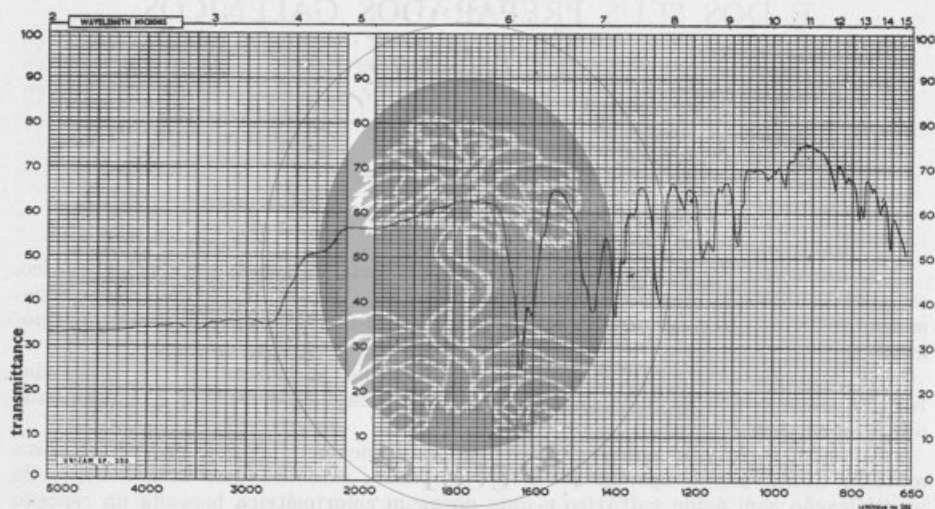


Fig. 1

b) com o iodo (10 ml de solução a 0,5% + 1 ml de ácido clorídrico diluído + 5 ml de iodo 0,1 N) — obtenção de pp. castanho-escuro quase imediato, que deposita rapidamente e é solúvel na acetona e menos no álcool. O exame microscópico não mostrou interesse especial.

c) com o ClH e Zn (2 ml da solução a 1% + IV gotas ClH + 20 mg Zn em pó; filtrar ao fim de alguns minutos) — o líquido apresenta cor amarela.

d) com o ácido picrico (5 ml de solução a 1% + 10 ml solução aquosa saturada do reagente) — turvação imediata, com formação de pp. micro-cristalino ao fim de alguns minutos (agulhas muito finas que lembram madeixas de cabelos); o pp. lavado com água e seco (60°) funde a cerca de 205°.

★

Os espectros no U.V. foram traçados em solução aquosa, alcoólica e cloro-fórmica e ainda em ácido clorídrico 0,1 N e soda 0,1 N.

As curvas obtidas com a solução ácida e alcalina não mostraram interesse especial em relação ao espectro da solução aquosa.

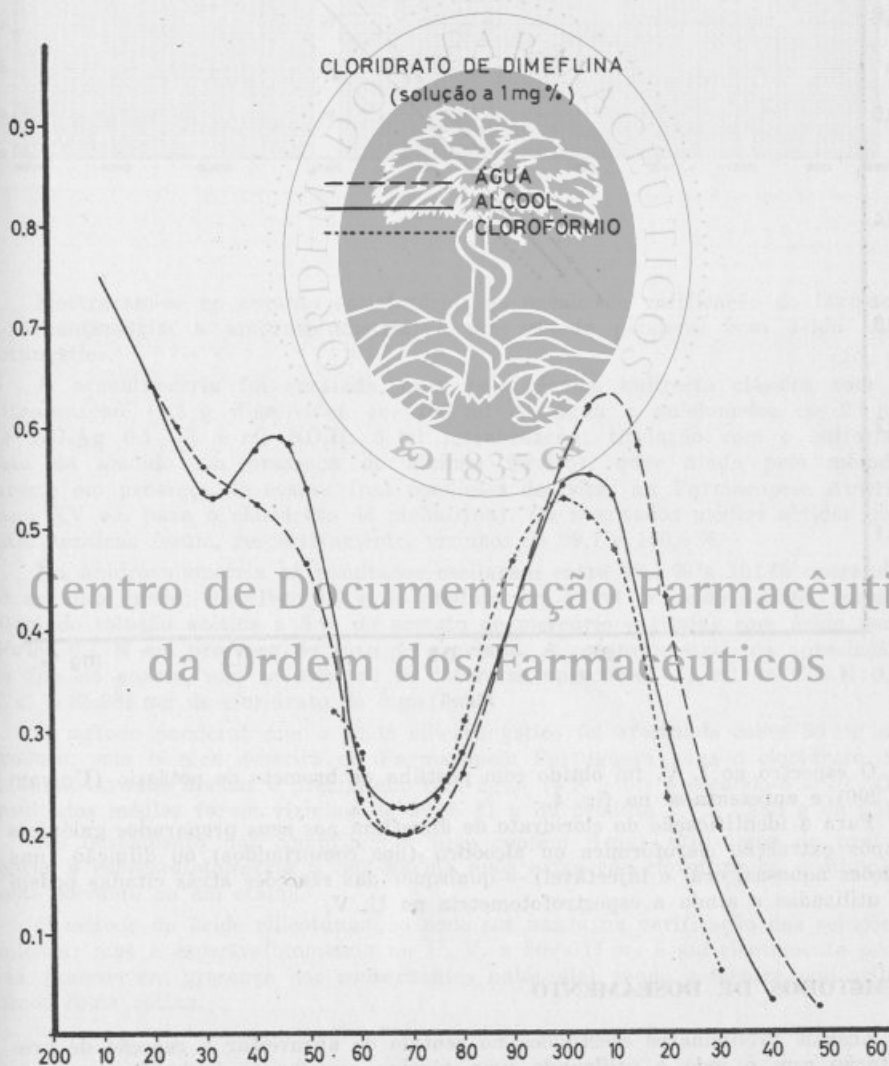
Na água, em solução a 1 mg% obtém-se um máximo a 309-311 m μ ($E_{1\%}^{1\text{cm}} = 630 \pm 5$) e um mínimo de 268-270 m μ .

O espectro no clorofórmio apresenta também um só máximo, a cerca de 300 $m\mu$ ($E_{1\%}^{1\text{cm}} = 530 \pm 5$) e um mínimo a 265-268 $m\mu$.

Pelo contrário, o espectro no álcool apresenta dois máximos, um a 244 $m\mu$ ($E_{1\%}^{1\text{cm}} = 590 \pm 10$) e outro a 303-305 $m\mu$ ($E_{1\%}^{1\text{cm}} = 540 \pm 20$) e dois mínimos um a 231-232 $m\mu$ e outro a 267-268 $m\mu$.

Quer com a solução aquosa (a 310 $m\mu$) quer com a solução etanólica (a 244 $m\mu$ e 303-305 $m\mu$), observa-se a lei de Beer entre 0,5 mg a 1,2 mg %.

Na fig. 2 apresentamos os espectros nos principais dissolventes e na fig. 3 as linhas de calibração nos comprimentos de onda mencionados.



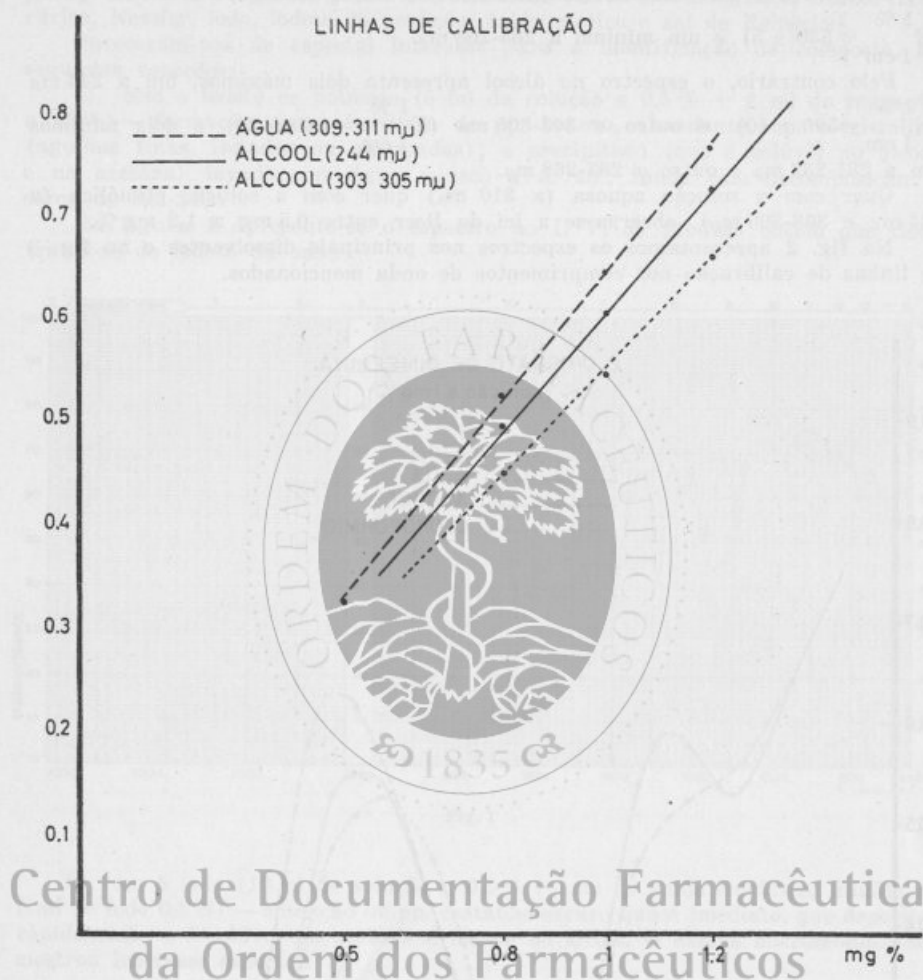


Fig. 3

O espectro no I. V. foi obtido com pastilha de brometo de potássio (Unicam Sp 200) e apresenta-se na fig. 4.

Para a identificação do cloridrato de dimeflina nos seus preparados galénicos — após extração clorofórmica ou alcoólica (nos comprimidos) ou diluição (nas soluções aquosas, oral e injectável) — quaisquer das reacções atrás citadas podem ser utilizadas e ainda a espectrofotometria no U. V.

2. MÉTODOS DE DOSEAMENTO

Ensaio preliminares efectuados no sentido de aproveitar a reacção de precipitação com o iodo e utilizando uma técnica semelhante à da Farmacopeia Portuguesa para o sulfatiazol, deram resultados disparatados.

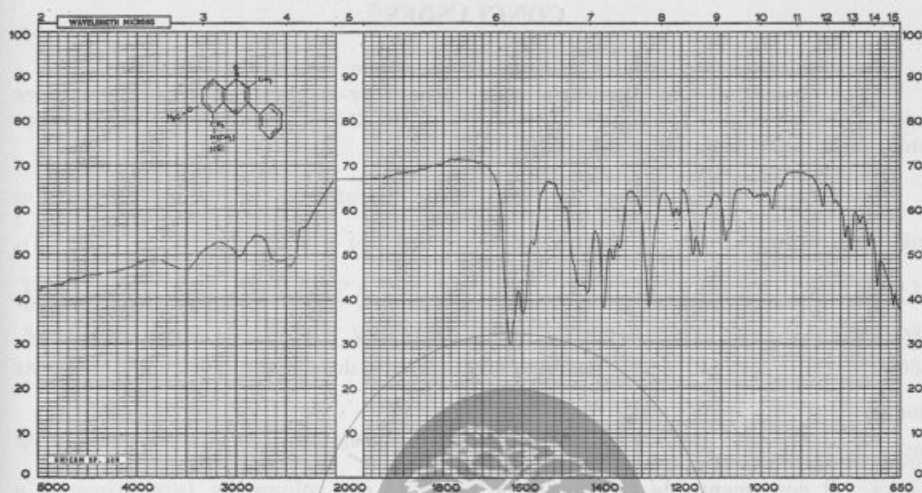


Fig. 4

Mostraram-se no entanto satisfatórios no ensaio de verificação do fármaco a argentimetria, a anidrovolumetria, e um método ponderal com ácido silicotungstico.

A argentimetria foi ensaiada, quer pela técnica indirecta clássica com o nitrobenzeno (0,3 g dissolvidos em 100 ml de água e adicionados de 20 ml de NO_2Ag 0,1 N, 5 ml NO_2H , 5 ml nitrobenzeno; titulação com o sulfocianeto de amónio em presença do alumen férrico), quer ainda pelo método directo em presença de eosina (nas condições descritas na Farmacopeia Americana XV ed. para o cloridrato de piridoxina). Os resultados médios obtidos por estas técnicas foram, respectivamente, vizinhos de 99,7 e 100,5 %.

Na anidrovolumetria os resultados oscilaram entre 98,1 % e 101 % operando do seguinte modo: dissolver 0,3 g do produto em 30 ml de ácido acético, juntar 10 ml de solução acética a 5 % de acetato de mercúrio e titular com ácido perclórico 0,1 N em presença do roxo de genciana. A potenciometria, na apreciação do fim do ensaio, não se mostrou de interesse apreciável. (1 ml de ClO_4H 0,1 N \leftrightarrow 35,986 mg de cloridrato de dimeflina).

O método ponderal com o ácido silicotungstico foi efectuado sobre 50 mg do produto, pela técnica descrita na Farmacopeia Portuguesa para o cloridrato de tiamina, lavando apenas o precipitado com água (4×5 ml) e secando-o a 70° . Os resultados médios foram vizinhos de 99 % (1 g do produto \leftrightarrow 2,883 g de pp).

No doseamento dos comprimidos (que contêm 8 mg) utilizámos de preferência a espectrofotometria a 303-305 $m\mu$ após extracção clorofórmica e diluição neste solvente ou em etanol.

O método do ácido silicotungstico pode ser usado na verificação das soluções aquosas; mas a espectrofotometria no U. V. a 309-311 $m\mu$ é suficientemente precisa (mesmo em presença dos conservantes habituais) sendo a técnica que utilizamos como rotina.

CONCLUSÕES

Os resultados dos ensaios efectuados permitem concluir o seguinte:

1. O cloridrato de dimeflina pode identificar-se facilmente pelas reacções microquímicas com o IK (pp. branco, de pf = 213-215°) e com o ácido pícrico (pp. amarelo que funde a cerca de 205°).

2. O espectro no U. V. em água e no clorofórmio apresenta apenas um máximo, respectivamente a 309 m μ ($E_{1\text{ cm}}^{1\%} = 630 \pm 5$) e a 300 m μ ($E_{1\text{ cm}}^{1\%} = 530 \pm 5$).

Em álcool apresenta 2 máximos, a 244 m μ ($E_{1\text{ cm}}^{1\%} = 590 \pm 10$) e a 303-305 m μ ($E_{1\text{ cm}}^{1\%} = 540 \pm 20$), podendo efectuar-se o doseamento em qualquer destas zonas.

3. O espectro no I. V. é característico e levemente diferente do espectro do produto obtido com o iodeto de potássio.

4. O doseamento do fármaco pode ser feito por volumetria (argentimetria e anidrovolumetria) técnica ponderal (com o ácido silicotúngstico) e espectrofotometria no U. V., sendo esta última a aconselhável na verificação dos preparados galénicos.

SUMMARY

Identification and assay of dimeflin and its pharmaceutical preparations

The AA. studied the main physic and chemical properties and the methods of determination of this new respiratory analeptic (which is the hydrochloride of 3-methyl-7-methoxy-8-dimethylaminemethylflavone) with the purpose of testing the purity of the drug and assaing its galenic preparations (oral solution, injections and coated tablets).

As identification method there were specially studied two microchemical reactions (with picric acid and potassium iodide) that originate cristaline precipitates with a well-defined melting point.

They were also presented the U.V. spectra (in water, ethanol, chloroform, 0,1 N and 0,1 N) and the I.R. spectra (BrK dispersion).

From the assay methods, beyond classic techniques (argentimetry and Silicotungstic acid precipitation), there were satisfactorily performed the anidrovolumetry (with perchloric acid, and methyl violet as indicator) and the U.V. spectrophotometry.

This would be the better technic for the assay of pharmaceutical preparations of dimeflin.

BIBLIOGRAFIA

- (1) DA RE P. e colab.: *Arzn. Forsch.* **10**, 800 (1960).
- (2) BAILEY e BRIN KAN: *Am. J. Med. Sci.* **247**, 744 (1962).
- (3) SETNIKAR e colab.: *J. Med. Pharm. Chem.* **3**, 471 (1961).
- (4) Medicamentos de Actualidad., **3**, 1963.

(Trabalho efectuado nas secções de Verificação e Estudos do Instituto Luso-Farmacológico e do Laboratório da Companhia Portuguesa Higiene)

ENSAIO DE PUREZA E VERIFICAÇÃO DOS COMPRIMIDOS DE 2-ACETAMIDO-4-(5-NITRO-2-FURIL)-TIAZOL

por

MANUEL J. J. VIEIRA DA SILVA MARIA AURÉLIA A. SANTOS MARÍLIA G. C. MARIANO
Licenciados em Farmácia

Desde as investigações iniciais de DODD, STILLMAN e MARQUIS⁽¹⁾ sobre a nitração dos furanos, muitos investigadores se têm interessado pelo assunto, isolando produtos nitrofurânicos cada vez mais puros.

A actividade antimicrobiana destes produtos está ligada à presença do nitro-grupo (-NO₂) na posição 5 e à presença duma cadeia lateral na posição 2. A cadeia lateral é susceptível de amplas variações e a ela estão ligadas as diversas propriedades físico-químicas e farmacológicas destes derivados.

O 2-acetamido-4-(5-nitro-2-furil)-tiazol, o mais recente quimioterápico neste género de produtos⁽²⁾, não se pode definir como um nitrofurano em sentido rígido, visto que possui apenas o anel do furano sem a cadeia lateral. Trata-se pois dum derivado que se diferencia nitidamente dos outros nitrofuranos da mesma série, porque ao grupo característico do furano, com um nitrogrupo na posição 5, se une directamente um anel tiazólico, sem a ponte (-CH=) metínica, característica de todos os furanos.

Do ponto de vista bacteriológico, farmacológico e clínico, este quimioterápico é caracterizado por possuir actividades bactericida e bacteriostática, elevadíssimas sendo por outro lado dotado de reduzidíssima toxicidade aguda e crónica.

A ausência de quaisquer dados analíticos sobre este produto, à excepção do conhecimento que tínhamos de algumas das suas solubilidades⁽³⁾ e do seu ponto de fusão⁽⁴⁾, levou-nos a estudar as suas características físico-químicas e alguns métodos de doseamento, que permitissem a verificação da sua pureza, e bem assim a sua dosagem e identificação na forma em comprimidos.

Deste modo, no intuito de identificar e dosear este quimioterápico, como matéria-prima e nos comprimidos, traçámos os espectros de absorção no U. V. em dimetilformamida, em etanol absoluto e em acetona, que apresentaram máximos e mínimos de absorção característicos. Traçámos os espectros de I. V., quer com a substância pura, quer com o produto isolado dos comprimidos, os quais apresentaram aspecto semelhante e característico. Pudemos deste modo dosear perfeitamente e identificar com segurança o produto em estudo.

PARTE EXPERIMENTAL

O 2-acetamido-4-(5-nitro-2-furil)-tiazol é um pó amarelo, cristalino, que escurece por exposição ao ar e à luz; solúvel na acetona e na dimetilformamida, pouco solúvel no metanol e no etanol, praticamente insolúvel na água, no éter e no clorofórmio.

Funde com decomposição entre 295-296° C⁽⁵⁾, depois de recristalizado do etanol.

1. ESPECTROFOTOMETRIA NO I.V.

Fizemos uma dispersão com 1 mg da substância pura em 150 mg de BrK e traçamos num aparelho Unicam SP 200, dotado de prisma de ClNa, o espectro entre 2 μ e 15 μ , verificando a existência de bandas de absorção características a 1650 cm⁻¹, a 1550 cm⁻¹, a 1360 cm⁻¹, a 1070 cm⁻¹ e a 750 cm⁻¹ (Fig. 1).

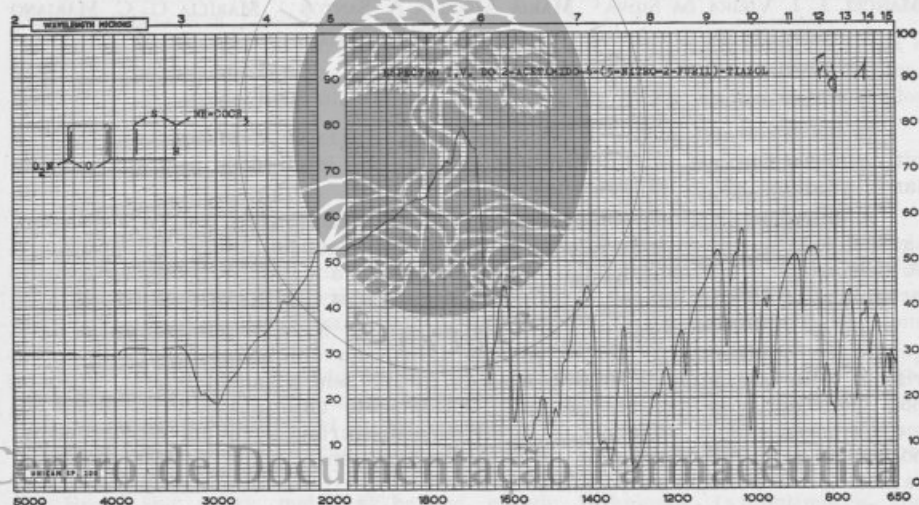


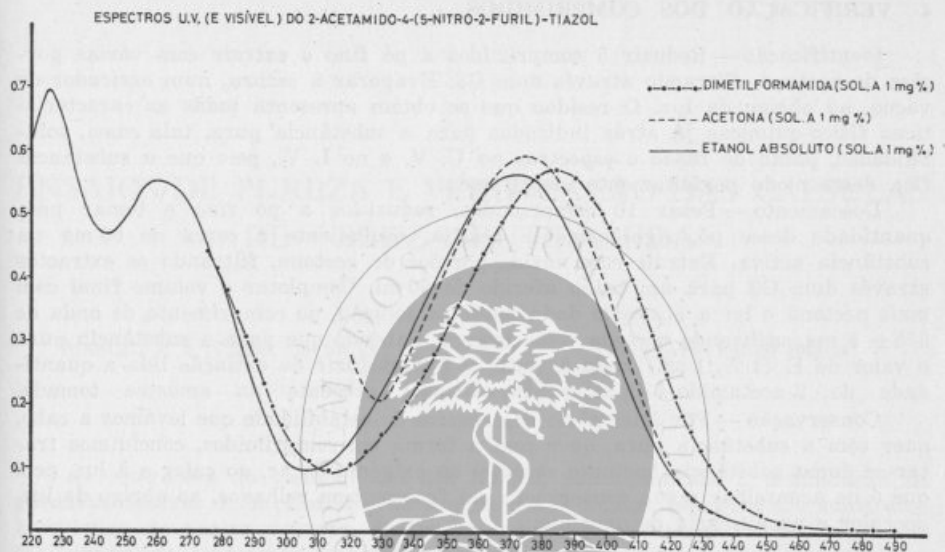
Fig. 1

2 ESPECTROFOTOMETRIA NO U.V.

Na região do U. V. estudamos as curvas de absorção dadas por soluções da substância em dimetilformamida, em etanol absoluto e em acetona, num aparelho Unicam SP 500, em células de 1 cm de espessura. Todas as soluções utilizadas eram rigorosamente da ordem dos 0,001 % de substância activa. Assim verificamos que uma solução da substância a 1 mg % em dimetilformamida apresentava um máximo de absorção a $383 \pm 1 m\mu$ e um mínimo a $315 \pm 1 m\mu$. O valor de E (1 %, 1 cm) a $383 \pm 1 m\mu$ veio igual a cerca de 570 (Fig. 2).

Verificamos, ainda, que uma solução da substância a 1 mg % em etanol absoluto apresentava três máximos de absorção, sendo um a $372 \pm 1 m\mu$, outro a $260 \pm 1 m\mu$ e o terceiro a $226 \pm 1 m\mu$ e ainda dois mínimos, sendo um a $306 \pm 1 m\mu$ e o outro a $244 \pm 1 m\mu$. O E (1 %, 1 cm) a $372 \pm 1 m\mu$ veio igual a cerca de 565 (Fig. 2).

Finalmente, verificámos que uma solução da substância a 1 mg % em acetona, apresentava um máximo de absorção a $375 \pm 1 \text{ m}\mu$ e um mínimo a $329 \pm 1 \text{ m}\mu$, sendo o valor de E (1 %, 1 cm) encontrado igual a cerca de 595 (Fig. 2).



3. DETERMINAÇÕES QUANTITATIVAS NA SUBSTÂNCIA PURA

Utilizámos três alternativas por espectrofotometria no U. V.

1.^a As soluções de 2-acetamido-4-(5-nitro-2-furil)-tiazol em dimetilformamida apresentaram um máximo característico a $383 \pm 1 \text{ m}\mu$, seguindo neste comprimento de onda a Lei de Beer, o que pudemos verificar com soluções a 0,25 mg %, 0,5 mg %, 1 mg % e 1,25 mg %, dada a proporcionalidade entre estas concentrações e as extinções lidas. Para o doseamento da substância pura bastará preparar uma solução da substância a 1 mg % em dimetilformamida e ler a sua absorção a $383 \pm 1 \text{ m}\mu$. Encontrámos para E (1 %, 1 cm) um valor à volta de 570 (Fig. 2).

2.^a As soluções de 2-acetamido-4-(5-nitro-2-furil)-tiazol em etanol absoluto apresentaram três máximos de absorção, sendo o mais característico a $372 \pm 1 \text{ m}\mu$, seguindo neste comprimento de onda a Lei de Beer, o que pudemos verificar com soluções a 0,25 mg %, 0,5 mg %, 1 mg % e 1,25 mg %, dada a proporcionalidade existente entre estas concentrações e as extinções lidas. Para o doseamento da substância pura não temos mais que preparar uma solução a 1 mg % em etanol absoluto e ler a sua absorção a $372 \pm 1 \text{ m}\mu$. O valor para E (1 %, 1 cm) encontrado anda à volta de 565.

3.^a As soluções de 2-acetamido-4-(5-nitro-2-furil)-tiazol em acetona apresentaram um máximo de absorção característico a $375 \pm 1 \text{ m}\mu$, seguindo neste comprimento de onda a Lei de Beer, como pudemos verificar com soluções a 0,25 mg %, 0,5 mg %, 1 mg % e 1,25 mg %, dada a proporcionalidade existente entre estas concentrações e as extinções lidas. Para o doseamento da substância pura bastará preparar uma solução a 1 mg % em acetona e ler a sua absorção a $375 \pm 1 \text{ m}\mu$. Encontrámos para E (1 %, 1 cm) um valor à volta de 595.

Como complemento dos processos que acabamos de descrever, pudemos ainda lançar mão das determinações de azoto e de enxôfre, na substância pura, pelos métodos clássicos, para verificação da sua pureza.

4. VERIFICAÇÃO DOS COMPRIMIDOS

Identificação — Reduzir 5 comprimidos a pó fino e extrair com várias porções de acetona, filtrando através dum G3. Evaporar à secura, num exsiccador de vácuo, ao abrigo da luz. O resíduo que se obtém apresenta todas as características físico-químicas já atrás indicadas para a substância pura, tais como, solubilidades, ponto de fusão e espectros no U. V. e no I. V., pelo que a substância fica deste modo perfeitamente identificada.

Doseamento — Pesar 10 comprimidos, reduzi-los a pó fino e tomar uma quantidade desse pó, rigorosamente pesada, equivalente a cerca de 50 mg da substância activa. Extrair com várias porções de acetona, filtrando os extractos através dum G3 para um balão aferido de 50 ml. Completar o volume final com mais acetona e ler a absorção dada por esta solução, no comprimento de onda de $375 \pm 1 \text{ m}\mu$, utilizando acetona como branco. Sabendo que para a substância pura o valor de E (1%, 1 cm) anda à volta de 595, deduzir da extinção lida a quantidade de 2-acetamido-4-(5-nitro-2-furil)-tiazol presente na amostra tomada.

Conservação — Por intermédio dos ensaios de estabilidade que levámos a cabo, quer com a substância pura, quer com a forma em comprimidos, concluímos tratar-se duma substância bastante sensível ao oxigénio do ar, ao calor e à luz, pelo que é de aconselhar a sua conservação em frascos bem rolhados, ao abrigo da luz, do calor e na ausência de oxigénio.

CONCLUSÕES

O 2-acetamido-4-(5-nitro-2-furil)-tiazol pode ser identificado pelo seu ponto de fusão e pelos espectros característicos que apresenta, quer na região do U. V., quer na zona do I. V. Pelas mesmas características pode ser identificado nos comprimidos, depois de convenientemente extraído.

Aconselhamos a espectrofotometria no U. V., para doseamento da substância, quer isolada, quer nos comprimidos, utilizando uma solução a 1 mg % em acetona ($\lambda = 375 \pm 1 \text{ m}\mu$; E $\frac{1\%}{1 \text{ cm}}$ cerca de 595).

SUMMARY

The 2-acetamide-4-(5-nitro-2-furyl)-thiazole presents in I.R., in dispersion of 1 mg in 150 mg BrK, a spectrum with characteristic appearance.

The 2-acetamide-4-(5-nitro-2-furyl)-thiazole presents on U.V., in solution of 1 mg in 100 ml of acetone an absorption maximum at $375 \pm 1 \text{ m}\mu$ and an absorption minimum at $329 \pm 1 \text{ m}\mu$. The E value (1%, 1 cm) at $375 \pm 1 \text{ m}\mu$ is equal to 595).

BIBLIOGRAFIA

- (¹) DODD M. C., STILLMAN W. B.: *J. Pharm. Exp. Ther.*, **82**, 11 (1944).
- (²) RUSSO e colab.: *Min. Med.*, **54**, 2433 (1963).
- (³) ZANGRANDO, O. e G. CORRADI: *Min. Med.*, **54**, 2438 (1963).
- (⁴) DICKSON, DONAL E.: *Chem. Abst.*, **56**, 475 (1962).
- (⁵) U. S. P. O. 2999 225, 11 de Julho (1961).

ENSAIOS DE PUREZA E VERIFICAÇÃO DAS CÁPSULAS DE β -BENZALBUTIRAMIDA

por
MANUEL J. J. VIEIRA DA SILVA

IMELDA PALHARES BRAGA

Licenciados em Farmácia

As alterações do metabolismo dos lípidos, nomeadamente a acumulação de gorduras neutras e de colesterol no sangue e nos tecidos, constituem o substracto bioquímico de várias doenças, dentre as quais se salienta a aterosclerose. Por tal motivo as tentativas terapêuticas, com base bioquímica têm continuado a fazer-se em ritmo crescente, e assim aparece-nos agora um novo membro da série dos inibidores da síntese do colesterol no organismo, hipocolesterolémico de síntese, denominado β -benzalbutiramida ou mais propriamente a 3-metil-4-fenil-3-butenamida, novo membro da série dos fenilderivados de ácidos alifáticos. Como a maioria das referências a esta substância eram de natureza clínica, propusemo-nos estudar não só as suas características físico-químicas, mas também métodos analíticos que se ajustassem à forma em cápsulas. (1) (2).

Deste modo, no intuito de identificar e dosear esta substância, como matéria-prima e nas cápsulas, traçámos o seu espectro de absorção no U. V. em metanol, o qual apresentou um máximo e um mínimo de absorção característico. Traçámos ainda o espectro de I. V., quer com a substância pura, quer com o produto extraído das cápsulas, os quais apresentaram aspecto semelhante e característico. Pudemos por esta forma identificar com segurança e dosear perfeitamente o produto em estudo.

PARTE EXPERIMENTAL

1. CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS

A β -benzalbutiramida é um pó branco, cristalino; inodoro; solúvel no etanol absoluto, no clorofórmio, no metanol e no ácido acético; quase insolúvel na água.

Funde entre 131,5-133,5° C.

Traçámos o espectro da substância no I. V., partindo duma dispersão de 1 mg de β -benzalbutiramida em 150 mg de BrK. O espectro apresentou fortes bandas

de absorção características a 1655 cm⁻¹, a 1410 cm⁻¹ e a 1190 cm⁻¹.

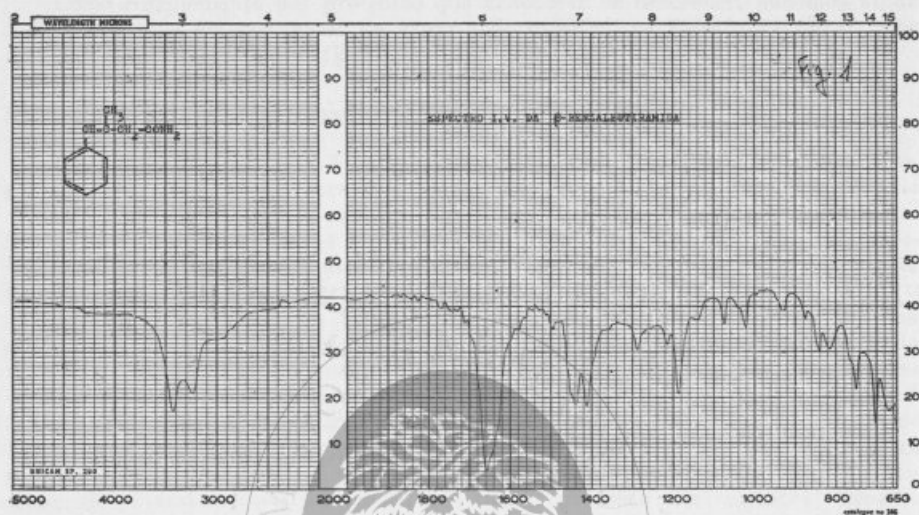


Fig. 1

Traçámos também o espectro da substância no U. V., a partir duma solução a 0,5 mg de β -benzalbutiramida em 100 ml de metanol, no qual verificámos a existência de um máximo de absorção a $246 \pm 1 m\mu$ e de um mínimo a $223 \pm 1 m\mu$.

Verificámos, ainda, que a substância aquecida em contacto com OHNa a 10 %, libertava amoníaco e que aquecida em contacto com MnO_4K 0,1 N, desenvolvia benzaldeído.

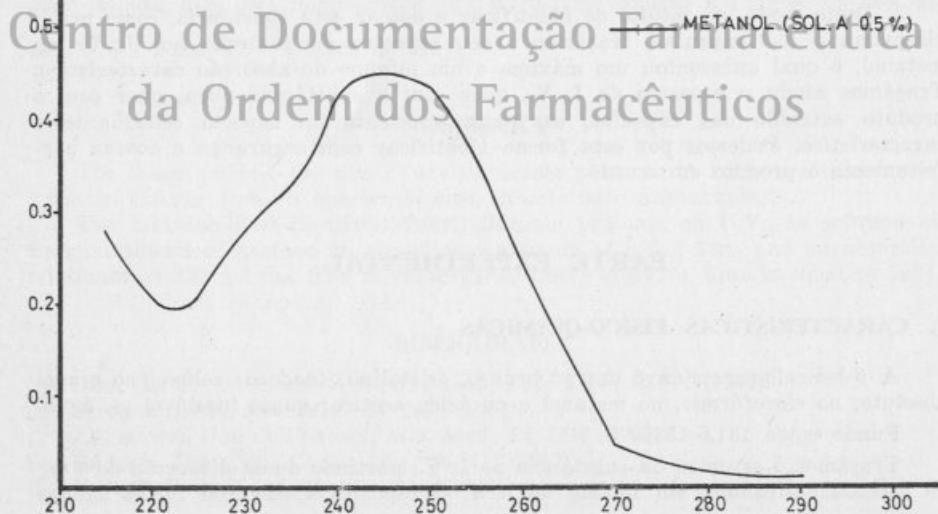
ESPECTRO U.V. β -BENZALBUTIRAMIDA

Fig. 2

2. DETERMINAÇÕES QUANTITATIVAS

As soluções de β -benzalbutiramida em metanol, apresentam um máximo de absorção característico a $246 \pm 1 m\mu$, seguindo neste comprimento de onda a Lei de Beer, como tivemos ensejo de verificar em concentrações de 0,25 mg %, 0,5 mg % e 0,75 mg % da substância pura em metanol, nas quais se verificou a existência de proporcionalidade entre as concentrações utilizadas e as extinções lidas. Desta forma, para o doseamento da substância preparámos uma solução a 0,5 mg de β -benzalbutiramida em 100 ml de metanol e lemos a absorção a $246 \pm 1 m\mu$. Obtivemos, neste comprimento de onda, para E (1%, 1 cm) um valor à volta de 900.

Como complemento da verificação de pureza da substância podemos fazer uma determinação do azoto total pelo método clássico de KJELDAHL.

VERIFICAÇÃO DAS CÁPSULAS

1. ENSAIOS QUALITATIVOS

Recolher o pó contido em cinco cápsulas e extrair com clorofórmio; filtrar por G3 e evaporar cuidadosamente até à secura, a temperatura não superior a 70° C. O residuo assim obtido revelou todas as características físico-químicas já atrás indicadas para a substância pura (solubilidades, ponto de fusão, espectros no U. V. e no I. V., libertação de amoníaco e desenvolvimento de benzaldeído).

2. ENSAIOS QUALITATIVOS

Retirar integralmente o conteúdo a 10 cápsulas, pesar e tomar uma quantidade de pó ou granulado equivalente a 50 mg de β -benzalbutiramida, extrair com várias porções de metanol, filtrando sucessivamente, através dum G3, para um balão aferido de 50 ml; completar o volume final com mais metanol. Medir rigorosamente 1 ml desta solução para um balão aferido de 100 ml e completar o volume final com metanol.

Ler a absorção dada por esta solução, a $246 \pm 1 m\mu$, utilizando metanol como branco. Para a substância pura, neste comprimento de onda, o E (1%, 1 cm) é igual a cerca de 900. Daqui se conclui, por intermédio da extinção lida, a quantidade de β -benzalbutiramida presente na amostra tomada.

Também uma determinação do azoto total, num peso conhecido das cápsulas após extracção com clorofórmio, pode servir como complemento de dosagem das mesmas.

Conservação — Os ensaios de estabilidade que levámos a efeito, quer com a substância pura, quer com as cápsulas, revelaram tratar-se dum fármaco dotado de boa estabilidade.

CONCLUSÕES

A β -benzalbutiramida pode ser identificada pelo seu ponto de fusão, pelos espectros característicos que apresenta, quer na região do I. V., quer na região do U. V. e ainda por desenvolver amoníaco em contacto com OHNa e benzaldeído em contacto com MnO.K. Pelas mesmas características pode ser identificada nas cápsulas, depois de conveniente extracção.

A espectrofotometria no U. V. pode ser utilizada para doseamento da substância, quer isolada, quer após extracção das cápsulas, utilizando uma solução a

0,5 mg % em metanol, ($\lambda=246 \pm 1 m\mu$; E $\frac{1\%}{1\text{ cm}}$ cerca de 900).

SUMMARY

The β -benzalbutyramide presents in I.R., in dispersion of 1 mg in 150 mg BrK, a spectrum with characteristic appearance.

The β -benzalbutyramide presents on U.V., in solution of 0.5 mg in 100 ml of metanol an absorption maximum at $246 \pm 1 m\mu$ and an absorption minimum at $223 \pm 1 m\mu$. The E value (1%, 1 cm) at $246 \pm 1 m\mu$ is equal to 900.

BIBLIOGRAFIA

- (¹) BROGLIA F.: *Min. Med.* 54, 2902 (1963).
 (²) SCARSELLI V., SERVIDA E.: *Il Farmaco Ed. P.* XVI, 7, 311 (1961).

(Trabalho efectuado na Secção de Controlo do Instituto Luso-Farmacó)



Centro de Documentação Farmacêutica da Ordem dos Farmacêuticos

CONCLUSÃO

A β -benzalbutyramide pode ser identificada pelo seu ponto de fusão, pelo seu espectro de absorção no infravermelho, pelo seu ponto de ebulição de 170°C, pelo seu ponto de fusão de 170°C e ainda por demonstrar a presença de um grupo funcional aldeído em contacto com o grupo β -hidroxi. Estas mesmas características podem ser identificadas nas análises de controlo de qualidade.

A β -benzalbutyramide no U.V. pode ser utilizada para o diagnóstico de falsificações, pois apresenta um espectro de absorção característico.

SEPARAÇÃO, IDENTIFICAÇÃO E DOSAGEM, DOS DERIVADOS DA 1,4-BENZODIAZEPINA: CLORDIAZEPÓXIDO HCl, DIAZEPAM E OXAZEPAM

L. DUARTE RODRIGUES

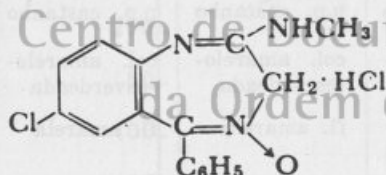
M. A. PAIVA ALVES

Licenciados em Farmácia

Como consequência do êxito alcançado na terapêutica psicotrópica com o uso do clordiazepóxido, passou a dedicar-se especial atenção à síntese de novos compostos derivados do 1,4-benzodiazepina, com o fim de se descobrirem produtos dotados de actividade semelhante e que apresentassem vantagens sobre aquele (9).

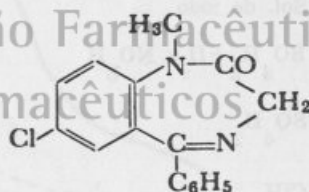
Assim, passado pouco tempo foi preparado e ensaiado o 7-cloro-1-metil-5-fenil-1,3-dihidro-2H-1,4-benzodiazepina-2-ona que passou a ser designado por diazepam e que pelos estudos a que foi submetido demonstrou possuir além da actividade psicotrópica, efeitos miorrelaxantes e anticonvulsivos.

Actualmente outros derivados estão a merecer a atenção dos investigadores, sobretudo o oxazepam (1, 2 e 11) ou seja o 7-cloro-1,3-dihidro-3-hidroxi-5-fenil-2H-1,4-benzodiazepina-2-ona, que pelos estudos realizados até agora mostrou possuir uma actividade terapêutica semelhante ao clordiazepóxido, mas com efeitos laterais muito diminuídos.



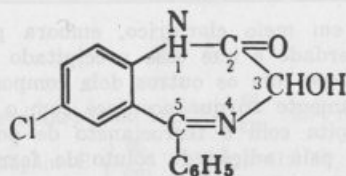
Clordiazepóxido HCl.

Fig. 1



Diazepam

Fig. 2



Oxazepam

Fig. 3

Foram estes compostos, o cloridrato de clordiazepóxido, o diazepam e o oxazepam que mereceram também a atenção do nosso estudo, pois dada a sua semelhante estrutura química, pareceu-nos ter interesse a separação, identificação e dosagem destes três derivados da 1,4-benzodiazepina.

O clordiazepóxido já hoje se encontra descrito no N.F.XII. de 1965 (*) e noutros livros da especialidade (' e '), mas dos outros compostos, não considerando um trabalho feito por um de nós, sobre o diazepam (') pouco se conhece quanto a reacções de identificação e métodos de dosagem (') motivo pelo que nos parece ter interesse o estudo comparativo efectuado.

Começaremos por apresentar um quadro onde se podem observar os resultados das reacções ensaiadas, do qual podemos concluir que há reacções que permitem caracterizar os compostos indicados.

REAGENTES	Clordiazepóxido HCL	Diazepam	Oxazepam
	EM MEIO CLORÍDRICO		
Sol. ácido silicotungstico	p.p. branco	p.p. branco	p.p. branco sol. excesso
Reag. Nessler	p.p. amarelo	p.p. amarelo	p.p. amarelo
Sol. bromo	p.p. laranja	p.p. laranja	p.p. laranja
Sol. aq. cloreto de mer- cúrio	não p.p.	não p.p.	não p.p.
Sol. ferrocianeto de po- tássio	não p.p.	p.p. branco- -amarelado	não p.p.
Sol. ferricianeto de po- tássio	p.p. amarelo- -alaranjado	não p.p.	não p.p.
Sol. sat. Sal de Reinecke	p.p. róseo	p.p. róseo	p.p. róseo
Sol. de iodo $SO_4 H_2 + II g. NO_3 H_3$	p.p. castanho- col. amarelo- -esverdeada	p.p. castanho col. amarelo- -esverdeada	p.p. castanho col. amarelo- -esverdeada
$SO_4 H_2$	fl. dourada + OH Fl. azul 2	fl. amarela	fl. amarela
ClH	fl. dourada	fl. amarela	fl. amarela
$NO_3 H_3$	fl. dourada	fl. amarela	fl. amarela

Assim, o oxazepam em meio clorídrico, embora precipite pela adição do ácido silicotungstico, a verdade é que esse precipitado é solúvel em excesso de reagente, o que não acontece com os outros dois compostos.

O diazepam contrariamente ao que acontece com o cloridrato de clordiazepóxido e oxazepam precipita com o ferrocianeto de potássio e o cloridrato de clordiazepóxido precipita pela adição do soluto de ferricianeto de potássio, que não precipita os outros compostos.

Experimentámos ainda outras reacções que merecem ser mencionadas pelo interesse que têm para a caracterização destes produtos.

Assim o pó destes derivados quando submetido à acção dos vapores de ácido clorídrico mostra no caso do diazepam e oxazepam intensa fluorescência amarela à luz de Wood, enquanto que o cloridrato de clordiazepóxido apresenta uma fluorescência quase imperceptível de cor azulada.

Finalmente estudámos a reacção destes derivados com os ácidos fortes concentrados, o que nos permitiu verificar que o clordiazepóxido HCl quando tratado pelo ácido sulfúrico concentrado e adicionado de água adquire uma fluorescência azul intensa à luz de Wood.

Os pontos de fusão são também bastante distintos pois encontramos:

Clordiazepóxido HCl = 214° C. (com decomposição)

Diazepam = 124° C.

Oxazepam = 206° C.

A partir dos solutos a 0,5 mg % em álcool absoluto, HCl N/10, HCl N/10 com 0,5 % de álcool absoluto, e SO₂.H₂N/10 alcoólico, traçámos as curvas espectrofotométricas as quais mostram que quando isolados os três derivados são suscep-

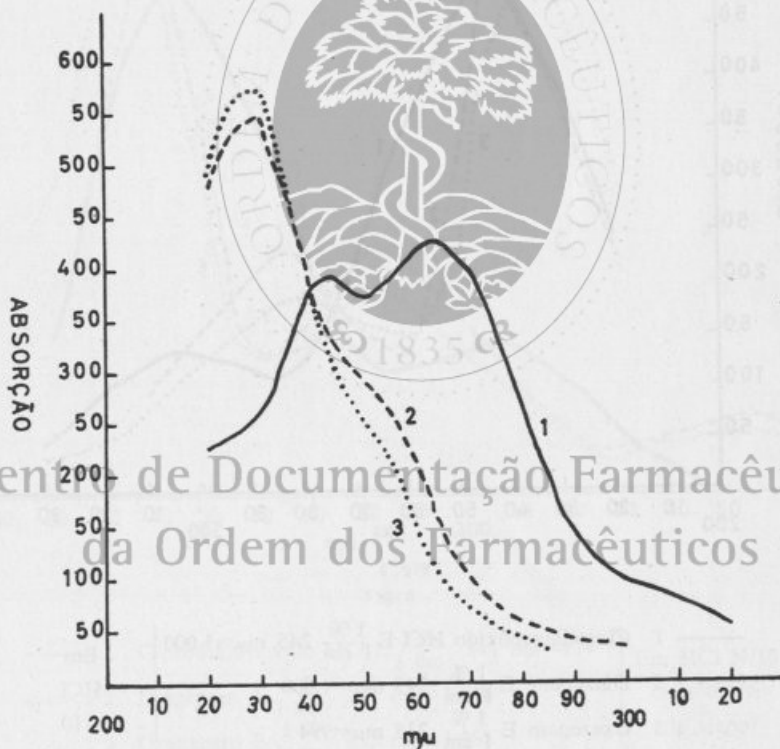


Fig. 4

— 1	Clordiazepóxido HCl E	1 %	264 mμ=860
- - - 2	Diazepam E	1 %	230 mμ=1.100
..... 3	Oxazepam E	1 %	230 mμ=1.150

Em
álcool
absoluto

Curvas traçadas com solutos a 0,5 mg %

tíveis de ser caracterizados e até doseados em função do seu espectro de absorção, mas que quando em conjunto o problema se torna difícil pela influência que uns compostos exercem sobre os outros o que pode levar a resultados erróneos.

É curioso notar que a presença do álcool permite a distinção dos máximos de absorção dos três compostos.

A dosagem do oxazepam isolado como acontece com o cloridrato de clorodiazepóxido e diazepam (*), pode também ser efectuada por anidrovolumetria em presença do acetato de mercúrio.

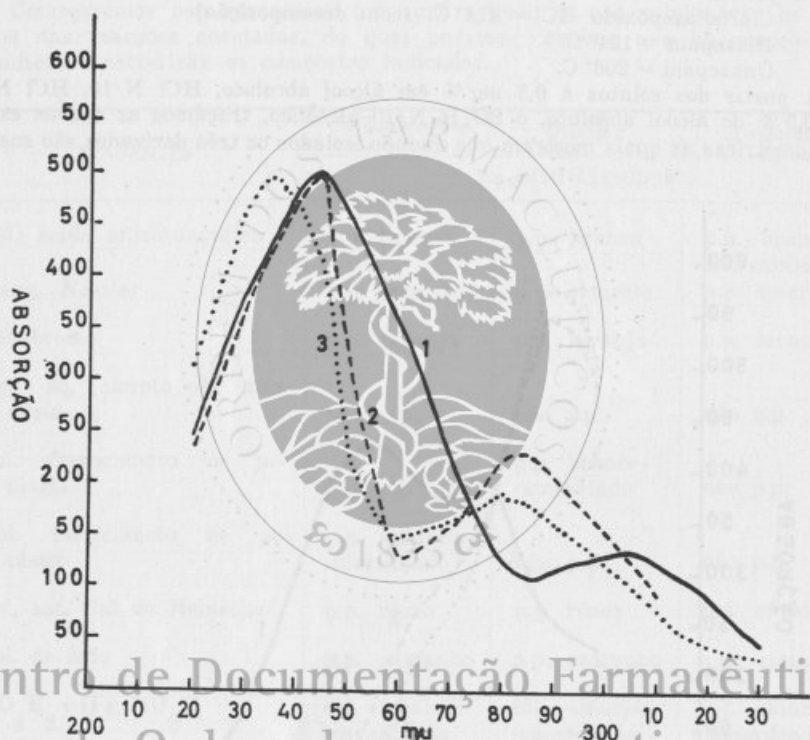


Fig. 5

—	1	Clorodiazepóxido HCl E	1 %	245 mμ=1.000	Em HCl N/10
- - -	2	Diazepam E	1 %	245 mμ=1.000	
.....	3	Oxazepam E	1 %	235 mμ=994	

Curvas traçadas com solutos a 0,5 mg %

Uma vez que nenhum dos métodos utilizados é susceptível de fazer a dosagem em conjunto dos três compostos, procurámos efectuar a sua separação, para o que lançámos mão da cromatografia em camada fina⁽¹⁰⁾.

Depois de ensaios efectuados com vários solventes conseguimos com a mistura: benzeno 90 metanol 10 e amónia conc. 1, em placas de gel de sílica, separar nitidamente os três compostos.

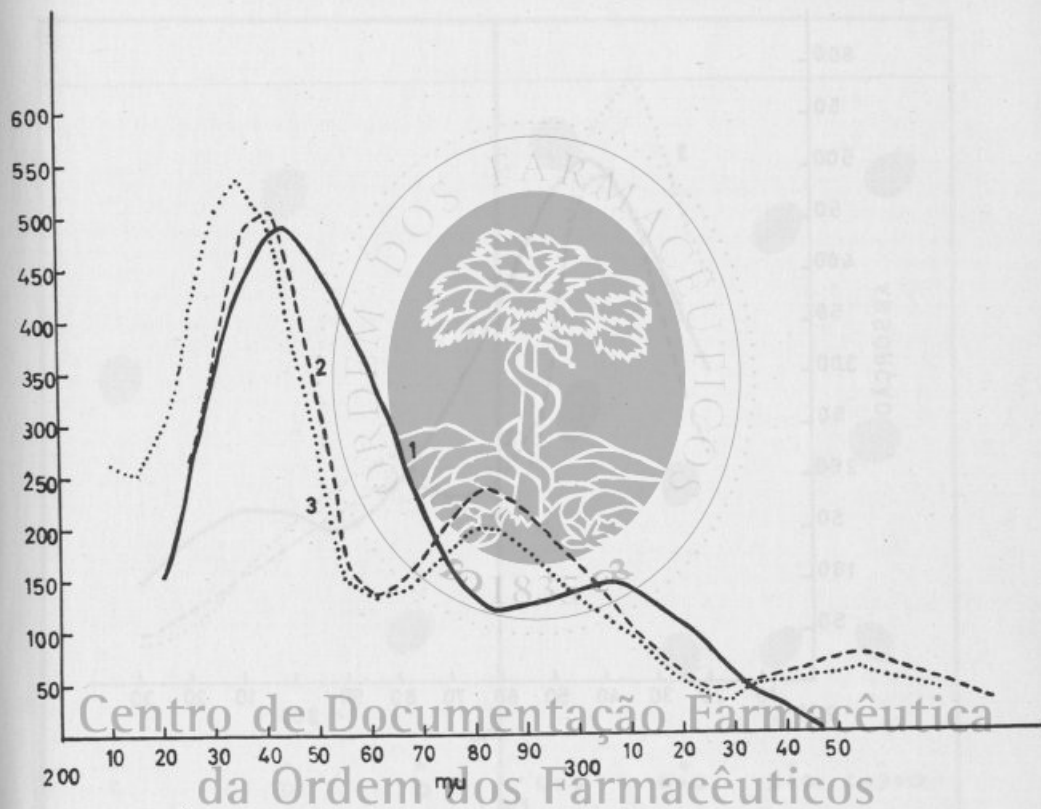
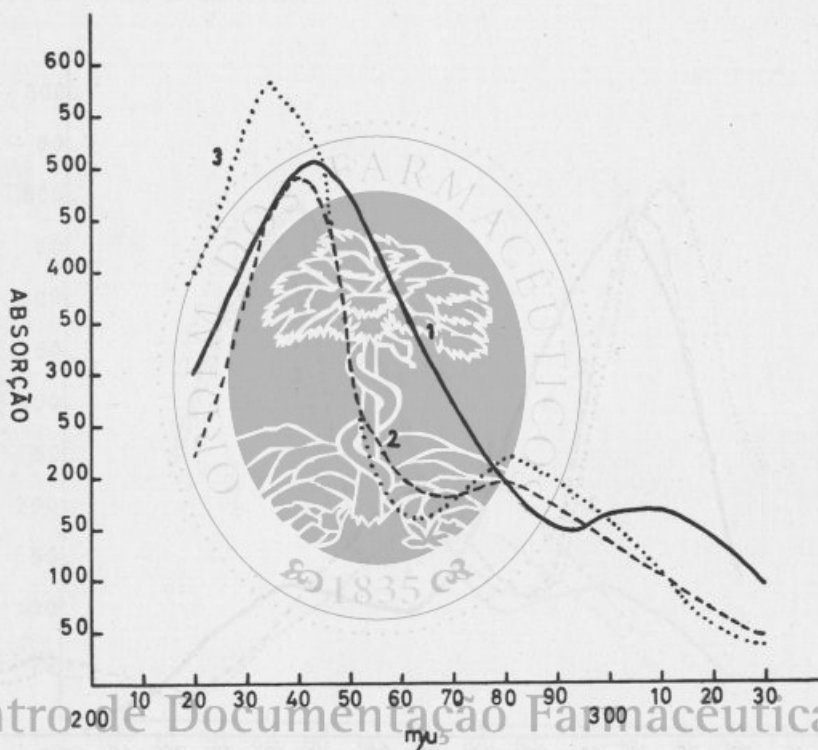


Fig. 6

—	1	Clordiazepóxido HCl E 1%	244 m μ =974	Em HCl N/10 com 0,5 % de álcool
- - -	2	Diazepam E 1%	241 m μ =1.010	
.....	3	Oxazepam E 1%	235 m μ =1.064	

Curvas traçadas com solutos a 0,5 mg %



Centro de Documentação Farmacêutica
da Ordem dos Farmacêuticos

Fig. 7

—	1	Clordiazepóxido HCl E 1%	244 m μ =1.016
- - -	2	Diazepam E 1%	241 m μ =984
.....	3	Oxazepam E 1%	235 m μ =1.170

Em
SO₂ H₂ N/10
alcoólico

Curvas traçadas com solutos a 0,5 mg %

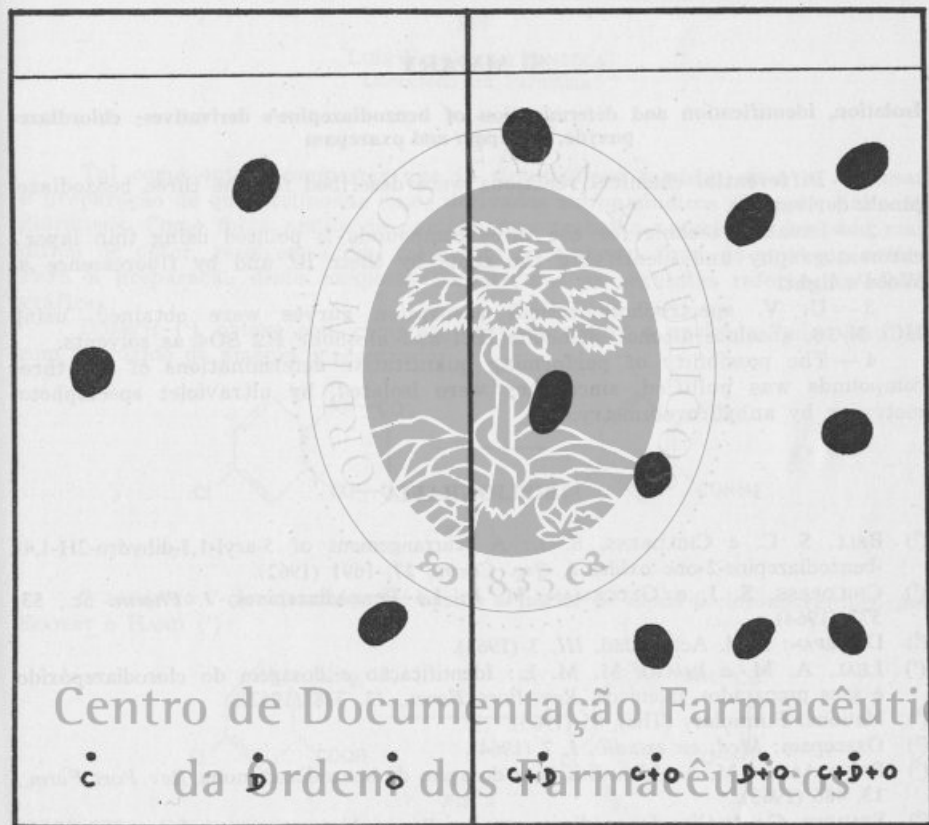


Fig. 8

Solvente:

C — Clorodiazepóxido HCl
D — Diazepam
O — Oxazepam

Benzeno 90
Metanol 10
Amónia 1

Revelador:

Vapores de HCl

A revelação das manchas é também extremamente simples, pois basta submeter as placas aos vapores de HCl dentro duma câmara, para que elas adquiram uma intensa fluorescência azul à luz de Wood.

Dadas as pequeníssimas quantidades com que trabalhamos não nos era possível fazer a sua dosagem quer por espectrofotometria quer por anidrovolumetria e estamos presentemente a procurar efectua-la por fluorometria baseando-nos na formação de metabolitos fluorescentes (2-amino-5-clorobenzofenona) pela hidrólise ácida dos derivados da 1,4-benzodiazepina⁽¹⁾.

SUMMARY

Isolation, identification and determination of benzodiazepine's derivatives; chlordiazepoxyde, diazepam and oxazepam

1 — Differential chemical reactions were described for the three benzodiazepine's derivatives.

2 — Isolation technic for the three compounds is pointed using thin layer's chromatography and identifying the spots by their Rf and by fluorescence at Wood's light.

3 — U. V. spectrophotometrical absorption curves were obtained, using HCl N/10, absolute alcohol, alcoholic HCl and alcoholic H₂ SO₄ as solvents.

4 — The possibility of performing quantitative determinations of the three compounds was pullified, since they were isolated, by ultraviolet spectrophotometry or by anhydrovolumetry.

BIBLIOGRAFIA

- (¹) BELL, S. C. e CHILDRESS, S. J.: A rearrangement of 5-aryl-1,3-dihydro-2H-1,4-benzodiazepine-2-one oxides *J. Org. Chem.*, **27**, 1691 (1962).
- (²) CHILDRESS, S. J. e GLUCKMAN, M. I.: 1,4 Benzodiazepines, *J. Pharm. Sc.*, **53**, 577 (1964).
- (³) DIACEPAN: *Med. Actualidad*, **III**, 3 (1963).
- (⁴) LEAL, A. M. e INÁCIO, M. M. L.: Identificação e dosagem do clordiazepóxido e seus preparados galénicos, *Rev. Port. Farm.*, **12**, 338 (1962).
- (⁵) National Formulary (The), 85 (1965).
- (⁶) Oxacepam: *Med. en estudio*, **I**, 7 (1964).
- (⁷) PAIVA ALVES, M. A.: Identificação e dosagem de benzodiazepinona, *Rev. Port. Farm.*, **13**, 486 (1963).
- (⁸) STAINIER, C.: *Análise des médicaments*, Les Presses Universitaires de Liège, 387 (1964).
- (⁹) STERNBACH, L. H., RANDALL, L. O. e GUSTAFSON, S. R.: 1,4-Benzodiazepines (Chlordiazepoxide and related compounds-Psychofarmacological, Agents, Vol. I, Academic Press, 137 a 224 (1964).
- (¹⁰) THOMAS, J. J. e DRYON, L.: Identification de médicaments psychotropes par chromatographie sur couche mince, *J. Pharm. Belg.*, **19**, 481 (1964).
- (¹¹) WALKENSTEIN, S. S. WISER, R. e outros: Absorption, metabolism and excretion of oxazepam and its succinate half-ester *J. Pharm. Sc.*, **53**, 1181 (1964).

PREPARAÇÃO DA 2-AMINO-5-CLOROBENZAMIDA

por

LUÍS FALCÃO DA FONSECA
Licenciado em Farmácia

Tal como outros compostos que já sintetizámos também estes se destinam à preparação de quinazolinonas cujos derivados sulfonamídicos são potencialmente diuréticos. Como foi a amida de partida dum trabalho anterior o derivado mais difícil de obter, resolvemos que fosse este o composto final do presente artigo. Para a preparação deste composto encontramos as seguintes referências bibliográficas:

DORSCH (2) obteve este composto fazendo reagir o anidrido 7-cloroisatínico com hidróxido de amónio concentrado:



Fig. 1

O anidrido 7-cloroisatínico foi obtido a partir do ácido 5-cloroantranílico por BOGERT e HAND (3):

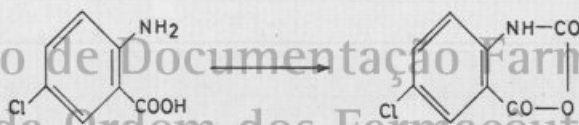


Fig. 2

O esquema do trabalho que nos propusemos realizar é o que se segue:

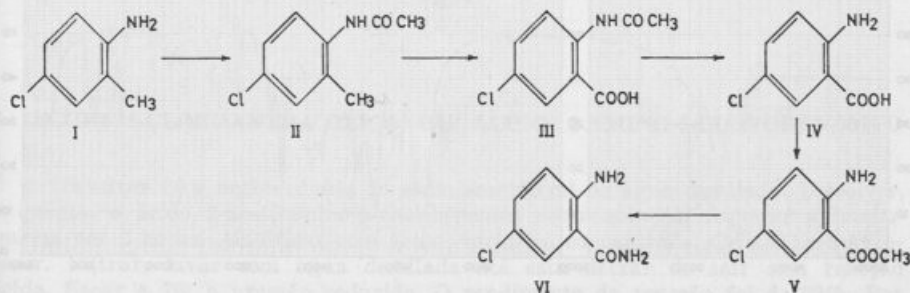


Fig. 3

O processo de obtenção do ácido 2-amino-5-clorobenzoico (IV) a partir de (II) está descrito na patente alemã n.º 152.484. No nosso processo procuramos isolar III e como foi negativa a pesquisa de amina livre cremos tê-lo conseguido. O 2-amino-5-clorobenzoato de metilo (V) foi obtido por FREUNDLER (*) por esterificação de IV com etanol em presença de ácido clorídrico. No nosso caso utilizámos ácido sulfúrico e obtivemos maior rendimento reaccional. Apesar de estes compostos estarem descritos apresentamos as técnicas da preparação por ser difícil obter a descrição das apresentadas na bibliografia e por estas serem algo diferentes das nossas que tiveram, essencialmente em vista, o aspecto quantitativo.

Os pontos de fusão por nós encontrados condizem com os descritos pelos autores que os obtiveram pela primeira vez.

PARTE EXPERIMENTAL

1. 2-METIL-4-CLOROACETANILIDA OU 2-ACETILAMINO-5-CLOROTOLUENO

Liquefazer 240 g de 2-amino-5-clorotolueno (fornecido pela Pfister Chemical Works, Inc.). Adicionar, gota a gota, 400 ml de anidrido acético. Aquecer a banho-maria fervente durante 2 horas. Despejar esta solução ainda quente, pouco a pouco e com agitação, em 2 litros de água gelada. Deixar 15 horas em contacto para destruir o excesso de anidrido. Arrefecer e filtrar. Lavar com água destilada até esta deixar de sair com reacção ácida. Secar a 70° a pressão reduzida. Rendimento reaccional=96%. Obtêm-se agulhas brancas que recristalizadas do metanol quente — água apresentam p. f.=144-5°.

Para $C_9H_{10}N O Cl$

Calculado C=55,82%; H=5,02%; N=7,23%; Cl=18,31%;
Encontrado C=55,62%; H=4,76%; N=7,47%; Cl=18,76%;

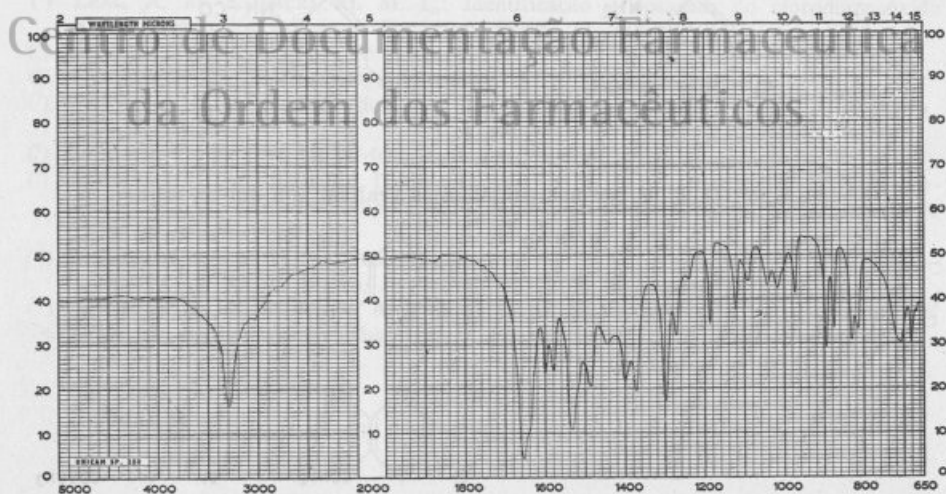


Fig. 4

2. ÁCIDO 2-ACETILAMINO-5-CLOROBENZÓICO

Suspender 19,3 g de 2-metil-4-cloroacetanilida em 200 ml de água. Aquecer em banho-maria fervente. Adicionar, pouco a pouco, 32 g de permanganato de potássio. Adicionar ácido clorídrico concentrado pouco a pouco para neutralizar o excesso de hidróxido de sódio formado. Finda a libertação de oxigénio filtrar a quente e lavar o bióxido de manganésio, retido no filtro, com solução aquosa de hidróxido de sódio a 5 %. Precipitar o ácido 2-acetilamino-5-clorobenzóico com ácido clorídrico concentrado. Arrefecer na mistura frigorífica até 2-3°. Filtrar a pressão reduzida. Lavar com água destilada até esta deixar de sair com reacção ácida. Secar na estufa a 70° a pressão reduzida. Rendimento reacional é 90 %. Por recristalização do metanol quente-água obtêm-se agulhas brancas de p. f. = 200-2°.

Para C, H, N, O, Cl

Calculado C=48,33%; H=3,66%; N=6,27%; Cl=15,86%
 Encontrado C=48,12%; H=3,98%; N=6,71%; Cl=15,42%

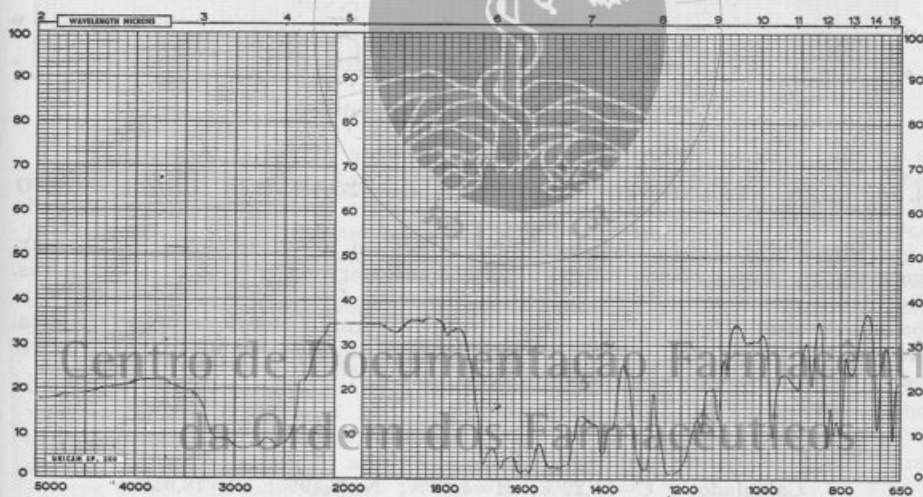


Fig. 5

3. ÁCIDO 5-CLOROANTRANÍLICO OU ÁCIDO 2-AMINO-5-CLOROBENZÓICO

Dissolver 30 g de hidróxido de sódio em 150 ml de água destilada. Dissolver, a quente, o ácido 2-acetilamino-5-clorobenzóico nesta solução. Aquecer a banho-maria por 2 horas. Acidificar com ácido clorídrico concentrado. Cristalizar. Arrefecer. Filtrar, lavar com água destilada até esta deixar de sair com reacção ácida. Secar a 70° a pressão reduzida. O rendimento da reacção foi de 99%. Por recristalização do metanol quente-água obtêm-se agulhas brancas de p. f. = 213-4°.

Para C, H, N, O, Cl

Calculado C=48,99%; H=3,52%; N=8,15%; Cl=20,69%
 Encontrado C=47,83%; H=3,75%; N=7,87%; Cl=20,93%

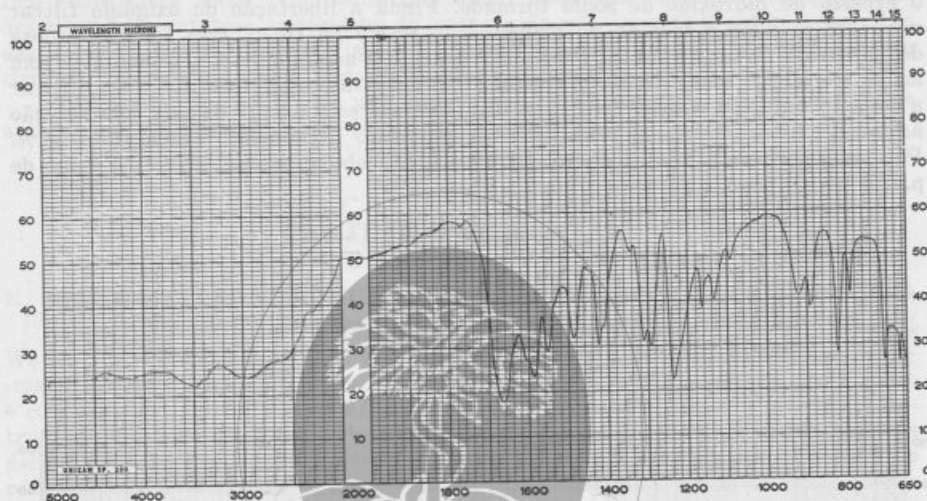


Fig. 6

4. 5-CLOROANTRANILATO DE METILO OU 2-AMINO-5-CLOROBENZOATO DE METILO

Dissolver 17,3 g de ácido 5-cloroantranílico em 100 ml de metanol. Adicionar, gota a gota, 20 ml de ácido sulfúrico concentrado. Ferver a refluxo durante 5 horas. Destilar a maior parte do álcool. Diluir com água destilada. Alcalinizar com carbonato de sódio e extrair com éter etílico. Evaporar o éter à secura. Cristaliza. Rendimento da reacção = 67%. O produto recristalizado do metanol-água apresenta-se na forma de agulhas brancas de p.f. = 68-70°.

Para C, H, N, O, Cl

Calculado C=51,22%; H=4,29%; N=7,49%; Cl=18,91%
 Encontrado C=50,98%; H=4,04%; N=7,85%; Cl=19,27%

5. 5-CLOROANTRANILAMIDA OU 2-AMINO-5-CLORO-BENZAMIDA

Arrefecer a -15° 100 ml de amónia concentrada. Adicionar 10 g de 5-cloroantranilato de metilo. Deixar 10 a 15 dias a esta temperatura. Ao fim deste tempo, filtrar para recuperar algum 5-cloroantranilato de metilo que se não dissolveu. Concentrar à secura a pressão reduzida. Cristalizar do metanol-água. Formam-se agulhas brancas de p.f. = 172-3°. Rendimento da reacção = 62%.

Para C, H, N, O, Cl

Encontrado C=48,72%; H=4,08%; N=16,23%; Cl=20,54%
 Calculado C=48,54%; H=4,73%; N=16,02%; Cl=20,78%

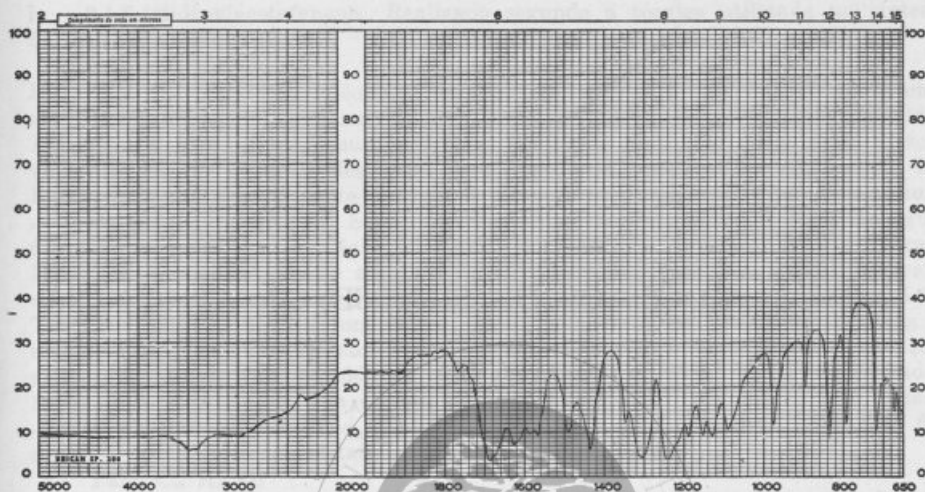


Fig. 7

SUMMARY

Preparation of 2-amine-5-chlorobenzamide

The author begins by a brief introduction about the possible interest of this product as a departure to the synthesis of potentially diuretic substances. Then he refers the method of preparation used, not described in literature. As raw-material it was used 2-amine-5-chlorotoluene or 2-methyl-4-chloroaniline from which 2-acetylamine 5-chlorotoluene or 2-methyl-4-chloroacetoaniline was obtained by simple acetylation. From this compound is prepared 2-acetylamine-5-chlorobenzoic acid and by hydrolysis of the amide radical to 5-chloro anthranilic acid or 2-amine-5-chlorobenzoic acid.

By methylation, in sulphuric medium, the 5-methyl-chloroanthranilate or 2-amine-5-methyl-chlorobenzoate is synthesized. By reaction of the last compound with concentrated ammonia 2-amine-5-chlorobenzamide is obtained. The author describes the conditions of preparation, the melting point, the determination of carbon, hydrogen, nitrogen, and chlorine, the reactional profit and the infrared spectra of all this compounds.

BIBLIOGRAFIA

- (¹) BOGERT e HAND: *J. Am. Chem. Soc.*, **24**, 1.031 (1902).
 (²) DORSCH: *J. Prakt. Chem.*, **33** (2), 50 (1886).
 (³) FREUNDLER: *Compt Rend.*, **143**, 910 (1949).

NOVOS PROCESSOS DE SÍNTESE DA APIGENINA

por

L. FALCÃO DA FONSECA
Licenciado em Farmácia

A apigenina é como o nome indica uma genina, que se obtém por hidrólise ácida ou enzimática do heterosido respectivo, a apiina. Esta substância, que é quimicamente a 4',5,7-triidroxiflavona, é a responsável pela pigmentação amarela das flores de várias plantas nomeadamente a dália.

A apigenina foi isolada e sintetizada por vários químicos. É a CZAJKOWSK, KOSTANECKI e TAMBOR (1) que se devem as duas primeiras sínteses. Na primeira destas partiram do éter trimetilico da apigenina e libertaram-se dos grupos metoxilos por saponificação com ácido iodídrico concentrado. Na segunda partiram da 2,4,6-trimetoxi- ω -[4-metoxibenzóil]-acetofenona e trataram esta também com ácido iodídrico concentrado. Mais tarde MAHESH e SESHADRI (3) utilizaram a naringenina ou 4',5,7-triidroxiflavanona como produto de partida. Refluíram este composto com ácido acético glacial ao mesmo tempo que iam adicionando lentamente uma solução acética de iodo. O triacetato de apigenina assim obtido foi, em seguida, hidrolizado a apigenina. HUTCHINS e WHEELER (2) bromaram, em primeiro lugar, a 2-hidroxi-4,6-dimetoxifenil-p-metoxiestirilcetona e obtiveram a 5-bromo-2-hidroxi-4,6-dimetoxifenil- α , β -dibromo- β -p-anisiletiletona. Aquecendo esta alguns graus acima do seu ponto de fusão, a pressão reduzida, conseguiram isolar a 6-bromo-5,7,4'-trimetoxiflavona que por acção do ácido iodídrico concentrado, em presença de anidrido acético deu origem a apigenina.

Para o nosso trabalho baseamo-nos nas variadíssimas técnicas e reacções aplicadas a este tipo de compostos. Deste modo pudemos estabelecer o seguinte programa:

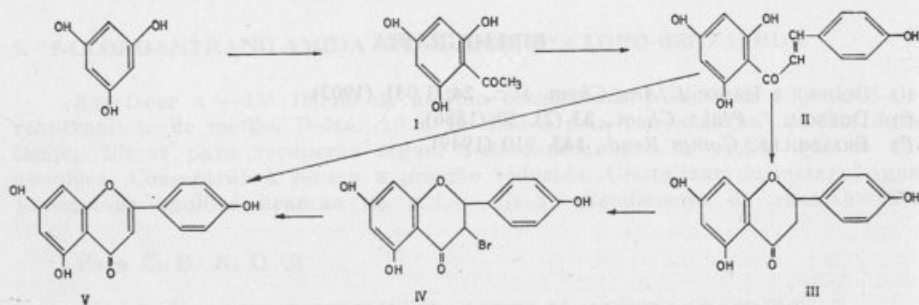


Fig. 1

I 2,4,6-triidroxiacetofenona Realizado segundo a técnica utilizada na síntese da crisina.

II 2',4',6',4-tetraidroxicalcona Dissolver 16,8 g de 2,4,6-triidroxiacetofenona em 140 ml de etanol e nessa solução dissolver 12,2 g de p-hidroxibenzaldeído. Arrefecer a 0° e juntar, pouco a pouco, 175 ml de hidróxido de potássio dissolvidos em 400 ml de água destilada, de modo que a temperatura não exceda 5°. Deixar com agitação durante 5 horas à temperatura ambiente e, por fim refluir a banho-maria durante 15 horas. Ao fim deste tempo juntar 1 litro de água destilada e acidificar com ácido clorídrico concentrado. Arrefecer a 5° e filtrar. Dissolver o resíduo gomoso amarelo do filtro em 50 ml de éter etílico. Extrair a solução etérea com 3 vezes 20 ml solução aquosa de hidróxido de sódio a 15 %. Tratar a solução aquosa com ácido clorídrico concentrado até reacção ácida e extrair esta com 50 ml de éter etílico. Tratar este com 3 vezes 25 ml de solução aquosa de bicarbonato de sódio a 10 % e 2 vezes com 25 ml de água destilada. Secar a solução etérea com cloreto de cálcio anidro e levar à secura a banho-maria. Cristalizar o resíduo obtido de etanol-água. O rendimento da reacção foi de 37 %. Obtiveram-se cristais amarelos de p.f. = 173-4°.

Para C ₁₅ H ₁₂ O ₅	
encontrado	C = 66,35 %; H = 4,28 %
calculado	C = 66,17 %; H = 4,44 %

III 5,7,4'-triidroxiflavanona (Naringenina)

Ferver durante 10 horas 27,2 g de 2',4',6',4-tetraidroxicalcona (11) com uma mistura de 500 ml de etanol e 100 ml de ácido clorídrico concentrado. Destilar até 1/5 do volume. Juntar igual volume de água destilada e arrefecer. Filtrar o precipitado formado e secar a 60° a pressão reduzida. Rendimento da reacção = 82 %. Cristalizar do etanol-água depois de tratamento com carvão activado. Obtem-se deste modo cristais amarelos de p.f. = 249-51°.

Para C ₁₅ H ₁₂ O ₅	
encontrado	C = 66,85 %; H = 4,68 %
calculado	C = 66,17 %; H = 4,44 %

IIIa 5,7,4'-triacetilflavanona

Refluir a banho de ar 5 g de 5,7,4-triidroxiflavanona em 20 ml de anidrido acético e em presença de 5 g de acetato de sódio, durante 5 horas. Despejar em 50 ml de água destilada. Deixar ½ hora em contacto e filtrar. Lavar com água destilada até esta deixar de sair ácida. Cristalizar do etanol-água após fervera com carvão activado. Obtem-se deste modo agulhas amarelas de p.f. = 52-3°.

Para C ₂₁ H ₁₈ O ₅	
encontrado	C = 63,15 %; H = 4,31 %
calculado	C = 63,32 %; H = 4,55 %

IV 5,7,4'-triidroxi-3-bromoflavanona

Dissolver 10 g de 5,7,4'-triidroxi-flavanona em 150 ml de clorofórmio. Juntar 200 ml de solução clorofórmica de bromo a 10 %.

Deixar à temperatura ambiente durante 3 horas.

Evaporar à secura a banho-maria a pressão reduzida.

Recristalizar do etanol-água depois de tratamento com carvão activado.

Rendimento da reacção: 83 %.

Obtem-se agulhas brancas de p.f. = 196-200°.

Para $C_{15} H_{11} Br O_5$

Encontrado C = 51,27 %; H = 2,97 %; Br = 22,94 %

Calculado C = 51,30 %; H = 3,15 %; Br = 22,75 %

V 4',5,7-triidroxiflavona a partir de 5,7,4'-triidroxi-3-bromoflavanona (IV).

Refluir durante 3 horas 5 g de 5,7,4'-triidroxi-3-bromoflavanona com 50 ml de solução aquosa de hidróxido de sódio a 50 %. Ao fim deste tempo acidificar com ácido clorídrico concentrado. Arrefecer a 5°, filtrar e lavar com água até esta deixar de sair com reacção ácida. Secar a 70° a pressão reduzida.

Rendimento da reacção: 82 %.

Recristalizar do etanol quente-frio, depois de fervura com carvão activado durante 15 minutos.

Obtem-se agulhas amarelas de p.f. = 343-5°.

Para $C_{15} H_{10} O_5$

Encontrado C = 66,85 %; H = 3,97 %

Calculado C = 66,67 %; H = 3,73 %

V a 4',5,7-triacetoxiflavona

Refluir durante 3 horas 3 g de 4',5,7-triidroxiflavona com 30 ml de anidrido acético. Findo este tempo verter a solução ainda quente em 120 ml de água gelada, mas apenas por pequenas porções. Filtrar a pressão reduzida. Lavar com água até esta deixar de sair ácida. Secar a 70° a pressão reduzida. Rendimento da reacção = 94 %. Recristalizar do etanol-água. Formam-se agulhas de p.f. = 178-80°.

Para $C_{21} H_{18} O_8$

Encontrado C = 63,15 %; H = 4,68 %

Calculado C = 63,32 %; H = 4,55 %

V 4',5,7-triidroxiflavona a partir da 2',4',6',4-tetraidroxicalcona (II)

Dissolver 5 g de 2',4',6',4-tetraidroxicalcona (II) em 75 ml de álcool isoamílico anidro. Adicionar 5 g de dióxido de selénio e refluir durante 15 horas. Filtrar quente. Concentrar à secura a pressão reduzida.

Retomar o resíduo com etanol e recristalizar por adição de água, depois de fervura com carvão activado.

Rendimento da reacção = 73 %.

Obtiveram-se agulhas amarelas de p.f. = 343-5°

Para $C_{15} H_{10} O_5$

Encontrado C = 66,36 %; H = 3,35 %

Calculado C = 66,67 %; H = 3,73 %

V b 4',5,7-triacetoxiflavona

Refluir 3 g de 4',5,7-triidroxiflavona com 3 ml de anidrido acético. Após 3 horas de aquecimento despejar o líquido ainda quente em 120 ml de água fria. Filtrar e lavar o resíduo com água até esta deixar de sair com reacção ácida. Secar a 70° a pressão reduzida.

Rendimento da reacção = 95 %.

Recristalizar do etanol-água. Formam-se agulhas amarelas de p.f. = 178-80°.

Para $C_{12} H_{18} O_8$

Encontrado C = 63,48 %; H = 4,39 %

Calculado C = 63,32 %; H = 4,55 %

V 4',5,7-triidroxiflavona a partir de 4',5,7-triidroxiflavanona (III)

Refluir 10 g de 4',5,7-triidroxiflavanona (III) com 50 ml de anidrido acético em presença de 10 g de dióxido de selénio. Arrefecer. Adicionar 30 ml de ácido sulfúrico concentrado e aquecer duas horas. Despejar com agitação em 200 ml de água. Arrefecer. Filtrar e lavar com água até esta deixar de dar reacção ácida. Secar a 60° a pressão reduzida. Rendimento da reacção = 57 %.

Recristalizar do etanol-água, depois de tratamento com carvão activado. Obtem-se cristais amarelos com p.f. = 343-5°.

Para $C_{15} H_{10} O_5$

Encontrado C = 66,95 %; H = 3,45 %

Calculado C = 66,67 %; H = 3,73 %

Vc 4',5,7-triacetoxiflavona

Refluir 3 g de 4',5,7-triidroxiflavona com 30 ml de anidrido acético. Após 3 horas de aquecimento despejar a mistura reaccional ainda quente em 120 ml de água fria. Filtrar e lavar o resíduo com água até esta deixar de sair com reacção ácida. Secar a 70° a pressão reduzida.

Rendimento da reacção = 91 %.

Recristalização do etanol-água. Formam-se agulhas de p.f. = 178-80°.

Para $C_{21} H_{18} O_8$

Encontrado C = 63,27 %; H = 4,88 %

Calculado C = 63,32 %; H = 4,55 %

V 4',5,7-triidroxiflavona a partir do cloreto do ácido p-hidroxibenzoico e p-hidroxibenzoato de sódio

Aquecer a 190-200° durante ½ hora uma mistura de 45 g de cloreto de p-cloro-benzoilo e 40 g de p-hidroxibenzoato de sódio. Decorrido este espaço de tempo adicionar, pouco a pouco, g de 2,4,6-triidroxiacetofenona. Continuar a aquecer por mais 10 horas. Arrefecer. Retomar a massa resultante da reacção com 200 ml de solução aquosa de hidróxido de sódio a 15 %.

Deixar algum tempo (½ hora) em contacto para hidrolizar o derivado tribenzoilado formado. Acidificar com ácido acético glacial para passar o composto à forma de fenol livre. Filtrar. Lavar o precipitado com éter e secar a pressão reduzida a 70°.

Rendimento da reacção = 59 %.

Por recristalização do etanol-água, formam-se agulhas amarelas de p.f. = 343-5°.

Para $C_{15} H_{10} O_5$

Encontrado C = 66,85 %; H = 3,52 %

Calculado C = 66,67 %; H = 3,73 %

Vd 4',5,7-triacetoxiflavona

Refluir a banho-de-ar 5 g de 4',5,7-triidroxiflavona com 50 ml de anidrido acético. Após 3 horas de aquecimento verter a solução ainda quente numa mistura de 150 ml de água e de 50 g de gelo pisado. Esta adição deve ser efectuada pouco a pouco e com agitação. Filtrar a pressão reduzida e lavar o resíduo com água destilada até esta deixar de sair com reacção ácida. Secar a 60° a pressão reduzida. Rendimento da reacção = 93 %. Recristalizar do etanol-água. Formam-se agulhas amarelas de p.f. = 178-80°.

Para $C_{21} H_{18} O_8$

Encontrado C = 63,68 %; H = 4,79 %

Calculado C = 63,32 %; H = 4,55 %

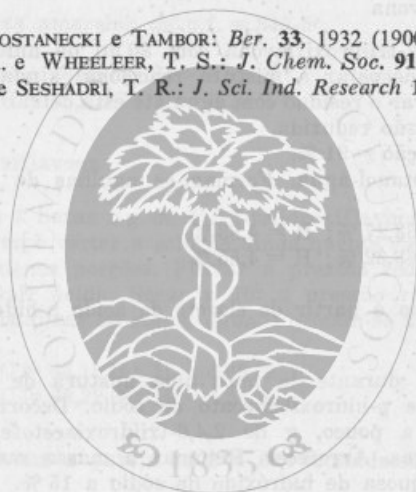
SUMMARY

New methods of synthesis of apigenine

The article begins with the list of the formely methods described for the synthesis of crisine and refers the general lines of the experimental work, including technics of preparation, melting points and determination of carbon and hydrogen in the following substances: 2',4',6',4-tetrahydroxycalcone; 5,7,4'-flavanone; 5,7,4'-acetyl flavanone; 5,7,4'-triacetoxyflavone. The last two of the listed substances were obtained by 4 different methods.

BIBLIOGRAFIA

- (1) CZAIKOWSKI, KOSTANECKI e TAMBOR: *Ber.* **33**, 1932 (1900).
(2) HUTCHINS, W. A. e WHEELER, T. S.: *J. Chem. Soc.* **91-A**, 1939 (1907).
(3) MAHESH, V. B. e SESHADRI, T. R.: *J. Sci. Ind. Research* **14B**, 608-9 (1955).



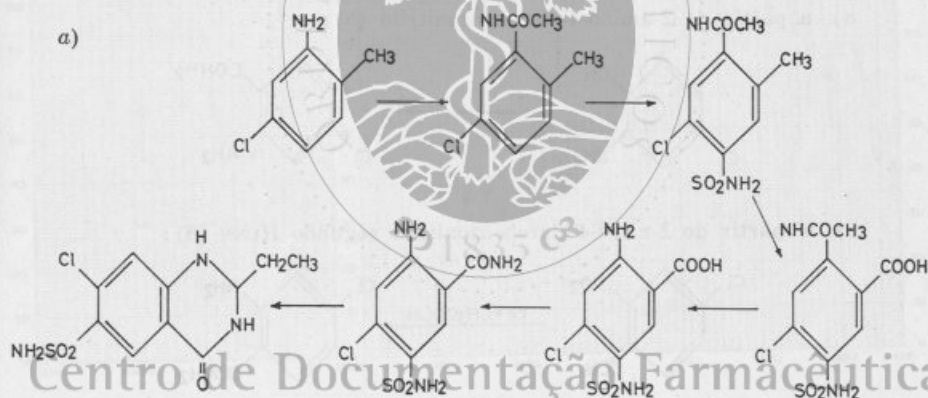
Centro de Documentação Farmacêutica
da Ordem dos Farmacêuticos

ALGUMAS SÍNTESES NO GRUPO DAS QUINAZOLINONAS

por

LUÍS FALCÃO DA FONSECA
Licenciado em Farmácia

O emprego dos derivados sulfonamídicos das quinazolinonas como diuréticos veio chamar a atenção para os métodos de fabrico das quinazolinonas. Os primeiros derivados sulfonamídicos de que temos notícia foram obtidos por COHEN (3) e (2) segundo os seguintes esquemas:



A novidade do nosso trabalho provém do facto de ser diferente o caminho que se seguiu na obtenção dos compostos descritos:

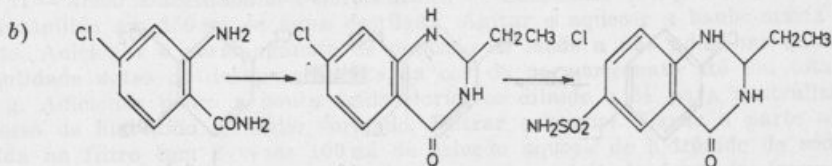
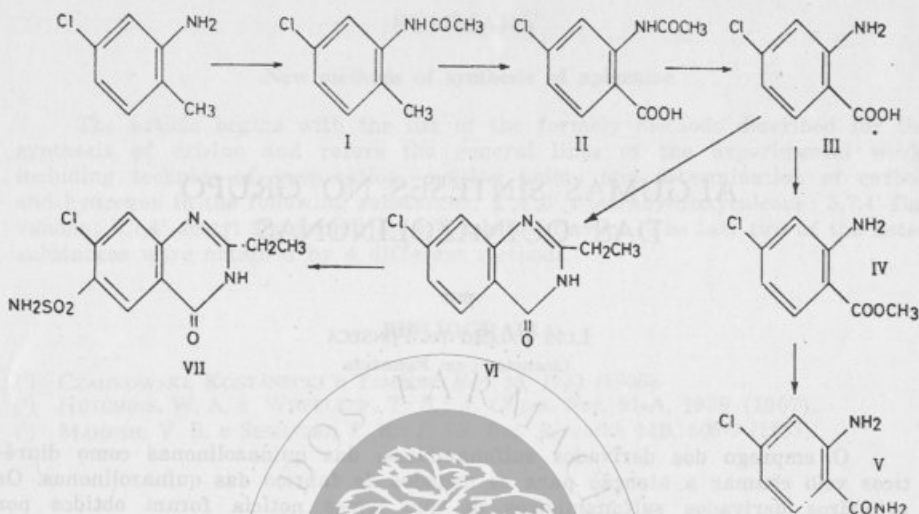


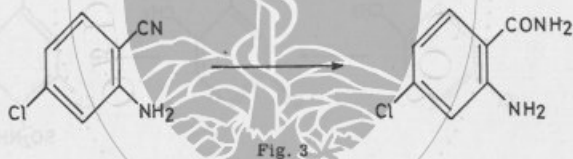
Fig. 1

Alguns dos compostos por nós apresentados não se encontram descritos na literatura e aqueles que se encontram foram obtidos por processos diferentes.

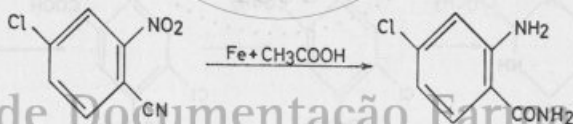
O nosso principal objectivo foi o de preparar a 4-cloroantranilamida ou 2-amino-4-clorobenzamida (V) que seria ponto de partida para grande número de outros compostos. Para a síntese deste composto encontramos os seguintes processos:



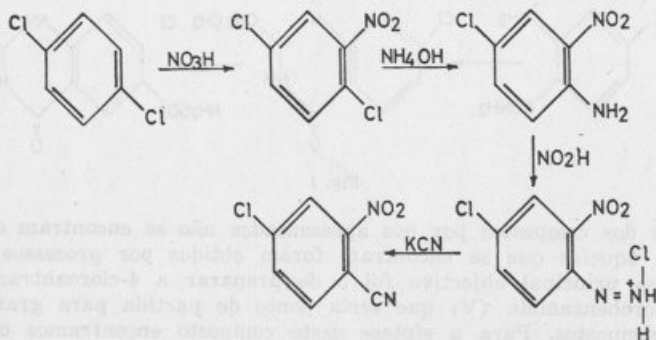
a) a partir de 2-amino-4-clorobenzonitrilo (5):



b) a partir do 2-nitro-4-clorobenzonitrilo segundo HUNN (6):



que por sua vez se obtém a partir do di-p-diclorobenzeno segundo BOGERT e HAND (1)



PARTE EXPERIMENTAL

I — 2-metil-5-cloroacetanilida ou 2-acetilamino-5-clorotolueno — Liquefazer 84 g de 2-amino-4-clorotolueno (fornecido pela L. Light), adicionar, pouco a pouco, 150 ml de anidrido acético. Refluir durante 2 horas. Despejar o líquido quente, pouco a pouco e com agitação, em 350 ml de água destilada. Deixar uma noite em contacto para decompor o excesso de anidrido. Arrefecer e filtrar. Lavar os cristais com água destilada até as águas de lavagem deixarem de passar ácidas. Secar na estufa a 50° a pressão reduzida. O rendimento da reacção foi de 98 %. Recristalizar do etanol quente-frio ou do etanol-água depois de prévia fervura com carvão activado. Obtém-se desta maneira agulhas brancas de p.f. = 140-1°.

Para $C_9 H_{10} N O Cl$

Encontrado	C = 55,47 %; H = 4,98 %; N = 6,87 %; Cl = 18,79 %
Calculado	C = 55,82 %; H = 5,20 %; N = 7,23 %; Cl = 18,31 %

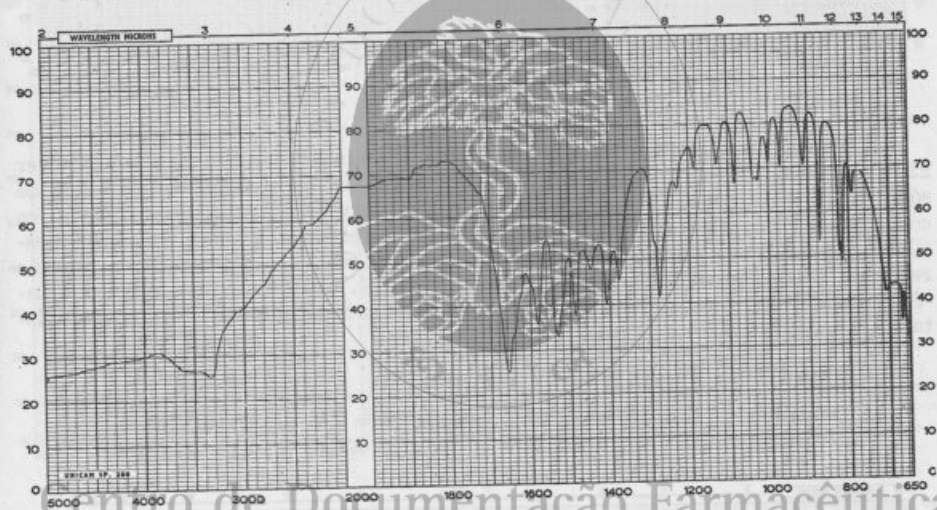


Fig. 6

da Ordem dos Farmacêuticos

II — Ácido 2-acetilamino-4-clorobenzoico — Suspender 75,6 g de 2-metil-5-cloroacetanilida em 150 ml de água destilada. Agitar e aquecer a banho-maria fervente. Adicionar o permanganato de potássio de modo a não adicionar qualquer quantidade antes do desaparecimento da cor do permanganato até um total de 100 g. Adicionar pouco a pouco ácido clorídrico diluído a 1/2 para neutralizar o excesso de hidróxido de sódio formado. Filtrar a quente. Lavar a parte sólida retida no filtro com 2 vezes 100 ml de solução aquosa de hidróxido de sódio a 15 %. Acidificar o filtrado a pH = 4, filtrar o precipitado formado, lavar com água destilada até as águas de lavagem deixarem de sair ácidas. Secar a pressão reduzida a 50°. O rendimento reaccional foi de 95 %. Cristalizar do metanol quente-frio depois de fervura com carvão activado. Formaram-se cristais brancos de p.f. = 220-1°.

Para $C_8 H_8 N O_2 Cl$

Encontrado	C = 48,76 %; H = 3,23 %; N = 5,84 %; Cl = 16,03 %
Calculado	C = 48,33 %; H = 3,66 %; N = 6,27 %; Cl = 15,86 %

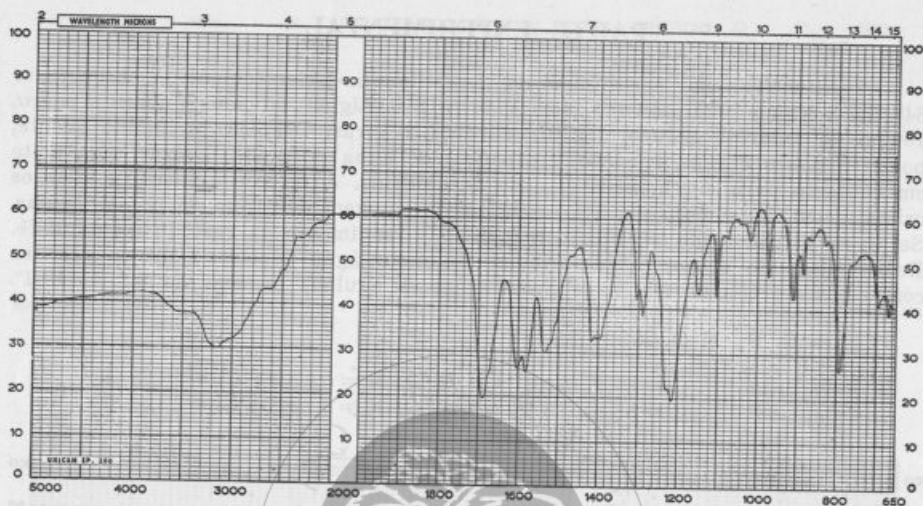


Fig. 7

III — Ácido 4-cloroantranílico ou ácido 2-amino-4-clorobenzoico — Dissolver 22,3 g de ácido 2-acetilamino-4-clorobenzoico em 70 ml de solução de hidróxido de sódio a 15%. Aquecer 3 horas a banho-maria fervente. Juntar ácido clorídrico concentrado até pH = 3-4. Filtrar o precipitado formado. Lavar com água destilada até as águas de lavagem não apresentarem reacção ácida. Secar a pressão reduzida a 50°. O rendimento reaccional é de 90%. Cristalizar do etanol quente-frio ou do etanol-água. Depois de fervura com carvão activado formam-se cristais brancos de p.f. = 234-5°.

Para C; H; N O; Cl

Encontrado	C = 49,54 %; H = 3,87 %; N = 8,05 %; Cl = 20,06 %
Calculado	C = 48,99 %; H = 3,52 %; N = 8,15 %; Cl = 20,69 %

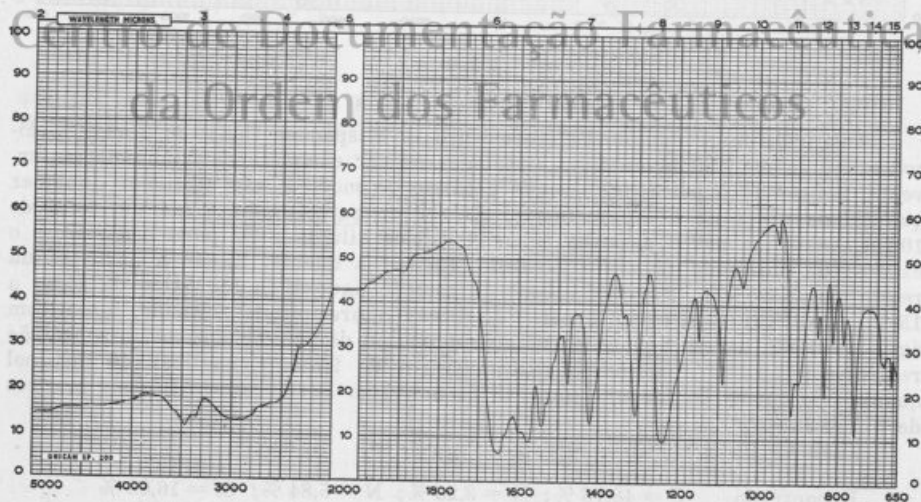


Fig. 8

IV — 4-cloroantranilato de metilo ou 2-amino-4-clorobenzoato de metilo — Dissolver 17,3 g de ácido 4-cloroantranílico em 100 ml de metanol. Adicionar, gota a gota 20 ml de ácido sulfúrico concentrado. Ferver a refluxo durante 5 horas. Destilar a maior parte do metanol e diluir com água destilada. Alcalinizar com carbonato de sódio e extrair com éter etílico. Secar a solução etérea com cloreto de cálcio e por fim evaporar esta à secura a pressão reduzida. Por evaporação do dissolvente cristaliza o éster formado. Recristalizar do metanol quente-frio depois de fervura com carvão activado. Formam-se cristais brancos de p.f. = 65-6°.

Para $C_8 H_8 N O_2 Cl$

Encontrado	C = 50,37 %; H = 4,73 %; N = 7,56 %; Cl = 18,89 %
Calculado	C = 51,22 %; H = 4,29 %; N = 7,49 %; Cl = 18,91 %

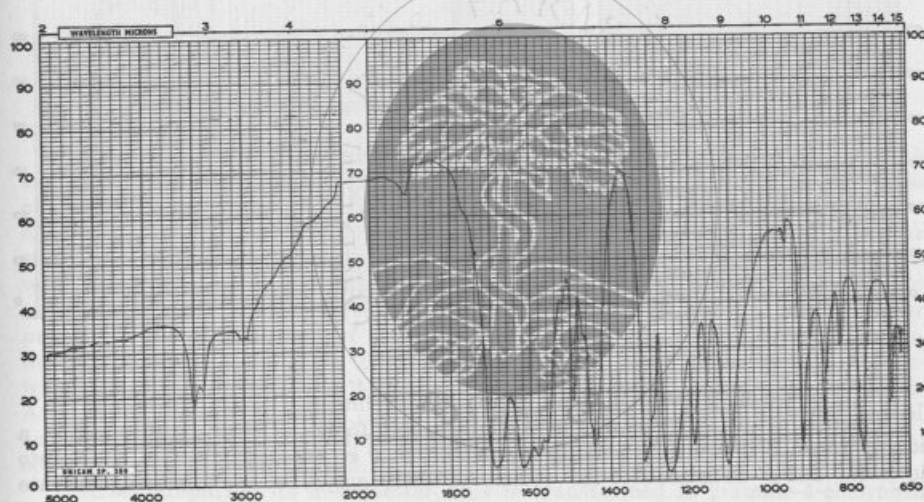


Fig. 9

Centro de Documentação Farmacêutica

V — 4-cloroantranilida ou 2-amino-5-clorobenzamida

Suspender 18,7 g de 4-cloroantranilato de metilo em 100 ml de hidróxido de amónio concentrado e arrefecer a mistura a cerca de -15° em mistura de gelo e sal. Deixar em contacto a esta temperatura durante uma semana. Ao fim deste tempo filtrar para separar o antranilato de metilo que não reagiu. Evaporar o filtrado à secura a pressão reduzida. Cristalizar do metanol-água depois de fervura com carvão activado. Obtem-se agulhas brancas de p.f. = 181-2°.

Para $C_7 H_7 N_2 O Cl$

Encontrado	C = 48,26 %; H = 3,85 %; N = 15,97 %; Cl = 20,21 %
Calculado	C = 48,72 %; H = 4,08 %; N = 16,23 %; Cl = 20,54 %

VI — 7-cloro-2-etil-1,2-diidro-4-oxi-quinazolina ou 7-cloro-2-etil-4(3H)-quina-zolinona

Aquecer a 185-200°, durante 5 horas, 17,3 g de ácido 4-cloroantranílico com 17,3 g de propionamida. Arrefecer a massa obtida e agitar esta com água e depois com bicarbonato de sódio para retirar o excesso de reagentes. Filtrar e secar

a parte sólida a 50° a pressão reduzida. O rendimento da reacção é de 58 %. Crystallizar do metanol quente-água depois de fervura com carvão activado. Obtem-se agulhas brancas de p.f. = 180-1°.

Para $C_{10}H_9N_2OCl$

Encontrado C = 55,79 %; H = 4,57 %; N = 12,87 %; Cl = 16,18 %

Calculado C = 56,22 %; H = 4,24 %; N = 13,11 %; Cl = 16,59 %

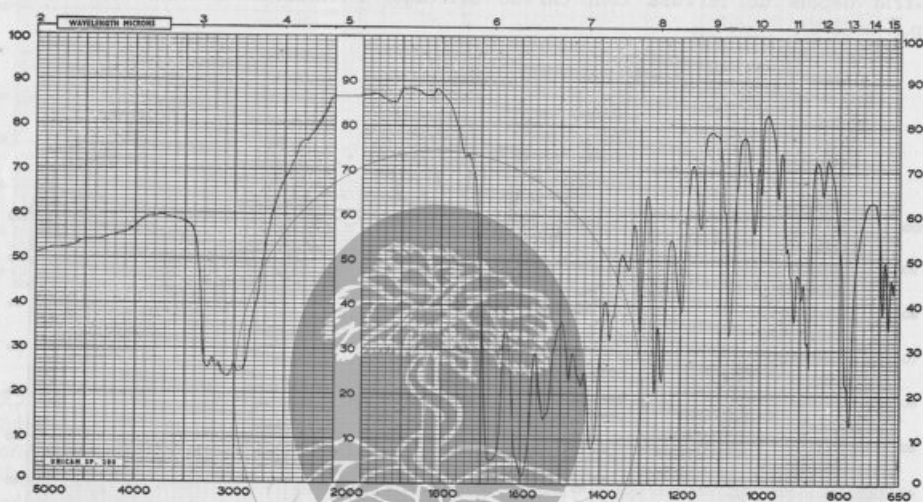


Fig. 10

VII — 7-cloro-2-etil-6-sulfamil-4(3H)-quinazolinona

Arrefecer a 5-10° 50 ml de ácido clorossulfônico. Deitar, então, pouco a pouco, 25 g de 7-Cloro-2-etil-4(3H)-quinazolinona e, em seguida, 5 g de cloreto de sódio e 5 g de bissulfito de sódio. Aquecer, então, a banho-maria fervente

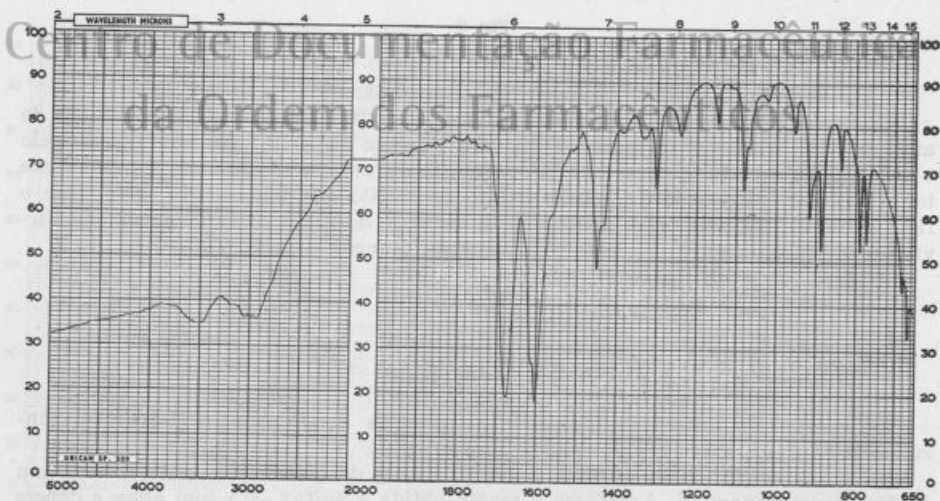


Fig. 11

durante 6 horas. Ao fim deste tempo arrefecer e despejar, pouco a pouco, o produto da reacção em 350 g de gelo. Alcalinizar com hidróxido de amónio concentrado e aquecer 1 hora a banho-maria. Arrefecer e filtrar a pressão reduzida. Lavar o resíduo presente no filtro, com água destilada até esta deixar de sair com reacção alcalina. Secar a 60° a pressão reduzida. O rendimento da reacção foi de 87 %. Recrystalizar do metanol-água depois de fervura com carvão activado. Obtem-se cristais brancos de p.f. = 236-7°.

Para $C_{10} H_{10} N_3 O_2 Cl S$

Encontrado	C = 41,23 %; H = 3,77 %; N = 14,87 %; Cl = 12,07 %
Calculado	C = 41,79 %; H = 3,50 %; N = 14,60 %; Cl = 12,32 %

SUMMARY

Some synthesis on quinazolinones

The author tried to accomplish in proper experimental conditions, the synthesis of substances that could be used as point of departure to the production of quinazolinones with potential diuretic action. Simultaneously he synthesized two of this compounds which weren't still described in literature. The departure substance that more interested the author was 2-amine-4-chlorobenzamide and was mainly this substance the one which worried the author. The references on several processes to synthesize this substance are described by the A. before presenting the general lines of his work and the technichs he used for synthesizing the intermediate compounds. The first raw material is 2-amine-4-chloro-toluene, which is transformed in 2-acetilamine-4-chlorotoluene by acetic anhydride. Afterwards, by oxidazation, in alkaline medium, 2-acetilamine-4-chlorobenzoic acid is produced being hydrolysed, in alkaline medium, to 2-amine-4-chlorobenzoic acid or 4-chloroantranilic acid.

After preparing its methylester, this is transformed in 2-amine-4-chlorobenzamide by reacting with concentrated ammonium hydroxide at 15°; next step is 7-chloro-2-ethyl, 1, 3, dihydro-4-oxyquinazoline (obtained by heating at 185-200° with proprionamide, during some hours) which is isolated as its sulphonamide derivative, by chlorosulphonation.

The A. presents for all the refered compounds, the preparation techniques, melting-points, reaction profits, the assay of carbon, hydrogen, nitrogen, chloride and sulphur and, also, infrared spectra.

BIBLIOGRAFIA

- (¹) BOGERT e HAND: *J. Am. Chem. Soc.*, **24**, 1.031 (1902).
- (²) COHEN, E.: U. S. pat. 3.902.631.
- (³) COHEN, E.: *J. Am. Chem. Soc.*, **82**, 2.731-5 (1960).
- (⁴) COHEN, E.: U. S. pat. 2.976.289.
- (⁵) GRUNDMANN, C.: *J. org. chem.*, **24**, 272-4 (1959).
- (⁶) HUNN: *J. Am. Chem.*, **45**, 1.024 (1923).
- (⁷) MCKEE, R. L.: *J. Am. Chem. Soc.*, **69**, 940-2 (1947).
- (⁸) MOHR, R.: Ger. pat. 1.061.789.
- (⁹) SAMANT, B. V.: *Ber.*, **75**, 1.008 (1942).

OS MÉTODOS INSTRUMENTAIS EM ANÁLISE FARMACÊUTICA

II — TITULAÇÕES COULOMBIMÉTRICAS

GERARDO MATTA

por

E. S. LOPES

Licenciados em Farmácia

INTRODUÇÃO

1. FUNDAMENTO :

As titulações coulombimétricas inserem-se dentro do método de electroanálise chamado coulombimetria, técnica que depende da medição da quantidade total de electricidade consumida na reacção completa de uma espécie, quantitativamente determinada pelas leis de Faraday.

Esta reacção pode fazer-se quer directamente no eléctrodo (coulombimetria primária) quer indirectamente com uma outra espécie gerada electroliticamente (coulombimetria secundária).

O requisito inicial é que o processo electródico se faça com 100 % de eficácia da corrente. A perda de eficiência devida a reacções secundárias evita-se pelo controle do potencial do eléctrodo de trabalho. Quando o controle é feito mecânica ou electricamente (por meio, de um potenciostato p. ex.) o método toma o nome de coulombimetria a potencial constante e, quando feito química ou electroquimicamente, coulombimetria a intensidade constante ou titulação coulombimétrica.

Desde que se mantenha constante a intensidade durante toda a experiência, basta medir o tempo para se calcular a quantidade de electricidade debitada no processo. Como é preciso manter constante a intensidade, o potencial aplicado irá aumentando com o prosseguimento da reacção, o que se traduz numa perda de selectividade em relação à coulombimetria a potencial constante.

Os processos de coulombimetria primária têm um interesse mínimo nas titulações coulombimétricas, ao contrário do que acontece em coulombimetria a potencial constante. Nas titulações coulombimétricas são os processos secundários os dominantes, já que é aproveitando uma reacção efectuada com 100 % de rendimento de corrente e sem interferências que se consegue uma boa curva intensidade-potencial.

De uma forma geral, as titulações coulombimétricas podem comparar-se às titulações volumétricas, substituindo-se o soluto titulante por uma fonte constante de corrente contínua cuja intensidade corresponde ao título da solução volumétrica, e em que a bureta é substituída por um coulombímetro medidor da quantidade de electricidade que inclui um cronómetro acoplado ao mecanismo disparador da electrólise. O tempo medido fornece o meio de se calcular a quantidade de corrente debitada, desde que se conheça a intensidade constante com que foi efec-

tuada a experiência. A partir deste valor calcula-se pelas leis de Faraday a quantidade de titulante gerado, equivalente à que foi consumida pela substância a titular até ao ponto de viragem.

A determinação do ponto de viragem é feita independentemente, com auxílio de um sistema de detecção que pode ser potenciométrico, amperométrico, fotométrico, etc.

2. INSTRUMENTAÇÃO :

Nas nossas experiências utilizámos um coulombímetro da marca «Metrohm» que inclui uma fonte de intensidade constante regulável para valores compreendidos entre 0,03 e 20 mA e o cronómetro a que fizemos referência.

Os eléctrodos de trabalho são de platina, estando o cátodo protegido do contacto directo com a solução por uma placa porosa. Para a determinação do ponto de viragem só uma vez nos servimos do método fotométrico: em todos os outros casos a determinação foi feita com o auxílio de um circuito amperométrico «dead stop» cuja vantagem mais evidente sobre o potenciométrico é a excelente sensibilidade.

Eis o esquema da aparelhagem utilizada:

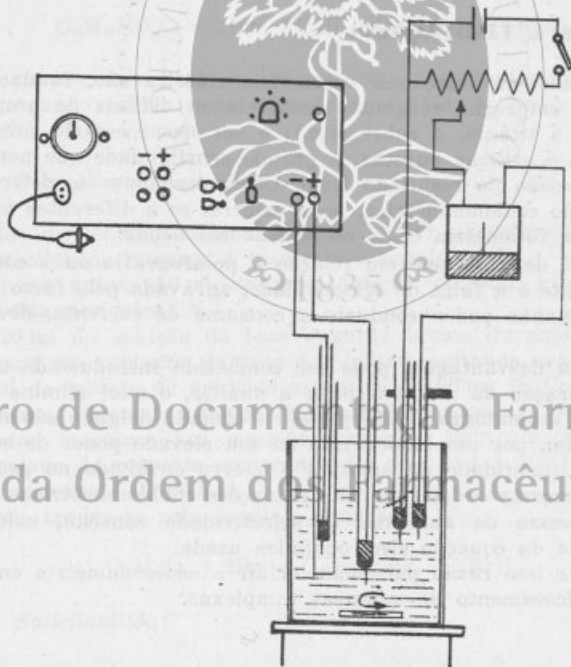


Fig. 1

3. TÉCNICA GERAL :

Todas as nossas experiências se limitaram a aplicações da bromocoulombimetria na determinação de produtos farmacêuticos. Para tal fim usámos a solução de base recomendada por PATRIARCHE e cuja constituição é a seguinte:

50 g de brometo de potássio p.A.

100 ml de uma solução 2N de cloreto de amónio

Água destilada, q. b. para um litro.

A substância em estudo foi dissolvida em ácido clorídrico 2N ou em ácido acético a 80 % de tal forma que uma tomada de ensaio de 10 ml correspondesse em geral a 1 mg de substância. Estes 10 ml, medidos para o vaso de titulação, são adicionados de 20 ml de solução de base, iniciando-se depois a titulação coulombimétrica.

PATRIARCHE, justifica a adição de cloreto de amónio à solução de base pela redução da alcalinidade libertada no cátodo.

A titulação coulombimétrica pode efectuar-se directamente, quando a velocidade de reacção for suficiente para a detecção rápida do ponto final, (Exp.^o 1, 2 e 3) ou, não sendo este o caso, por um método de contacto e de retorno em que o reagente é produzido em ligeiro excesso e fica um tempo determinado em contacto com a substância a titular, até se completar a reacção. (Exp.^o 4 e 5). Adiciona-se depois um volume conhecido de uma solução de anidrido arsenioso de título adequado e titula-se o excesso do reagente. Descontando, do valor final obtido, o correspondente ao volume de anidrido arsenioso ajuntado, pode calcular-se a quantidade de bromo necessária para a titulação da tomada de ensaio.

Quando a reacção for muito lenta é preferível detectar o ponto de viragem fotométricamente, baseando-nos na absorção do bromo a 361m μ . (Exp.^o 6).

4. VANTAGENS E LIMITAÇÕES :

As vantagens em relação à volumetria clássica são, fundamentalmente, a possibilidade de empregar reagentes instáveis ou difíceis de preparar (como o bromo, o cloro, o titânio, o cobre, etc.), o ser desnecessário preparar e aferir solutos titulados e utilizar buretas, a grande sensibilidade que permite a análise de traços, a precisão do resultado final. Como o sistema de detecção é independente da titulação coulombimétrica, pode recorrer-se a diferentes métodos, como a potenciometria, a fotometria e até os indicadores usuais.

A principal desvantagem em relação à polarografia ou à coulombimetria a potencial constante é a falta de selectividade, agravada pelo facto da presença de substâncias estranhas poder conduzir a consumo de corrente, devido a reacções secundárias.

Porém, esta desvantagem pode ser combatida introduzindo um passo separativo na preparação da amostra para a análise, o qual elimine as substâncias interferentes. A cromatografia em papel ou camada delgada são muito apropriadas para este fim, por um lado devido ao seu elevado poder de separação e por outro porque a quantidade da amostra e o erro envolvido no processo cromatográfico são da mesma ordem que nas titulações coulombimétricas.

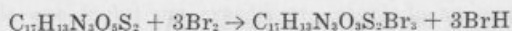
Outro processo de aumentar a selectividade consiste, evidentemente, na escolha criteriosa da equação electroquímica usada.

Não há por isso razão para não incluir a coulombimetria entre as técnicas mais úteis no doseamento de misturas complexas.

PARTE EXPERIMENTAL

Exp.^o 1: Ftalilsulfatiazol:

O doseamento bromocoulométrico do ftalilsulfatiazol faz-se em meio clorídrico, pelo método directo, empregando a solução de base descrita:



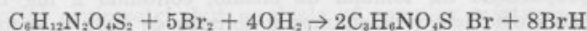
No nosso caso, em que se tomou para ensaio 1 mg de ftalilsulfatiazol e se

utilizou corrente a 10 mA, gastaram-se 146 segundos, o que corresponde a um teor de 98 %.

Este processo é bastante mais cómodo e rápido que o da U.S.P. XVI.

Exp.^a 2: *l*-Cistina:

O doseamento da *l*-cistina baseia-se na oxidação da função disulfureto a ácido sulfónico e é efectuado da mesma forma que o do ftalilsulfatiazol.



Neste caso, para tomadas de ensaio da ordem de 2 mg, gastámos 400 segundos usando corrente de intensidade 0,02 A, o que corresponde a um teor de 99,6%.

Exp.^a 3: *Indometacina*:

A indometacina é quimicamente o ácido 1 *p*-clorobenzoil 5 metoxi 2 metil indol 3 acético, substância insolúvel na água, mas solúvel no ácido acético.

O seu doseamento é, portanto, uma extensão do método a meios não aquosos.



Toma-se para ensaio 1 mg de indometacina e gastam-se 55 segundos até à viragem, empregando corrente de intensidade 0,01 A, o que corresponde a um teor de 100,9 %.

Exp.^a 4: *Éter glicerilguaiacólico*

A lentidão da reacção entre o bromo e o éter glicerilguaiacólico obriga ao emprego do processo de retorno. A técnica é a seguinte:

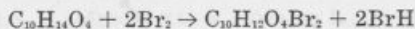
Tomar para ensaio 10 ml de uma solução de éter glicerilguaiacólico a 10 mg % em ácido clorídrico 2N.

Juntar 20 ml da solução de base e gerar bromo durante 3 minutos e 30 segundos. Deixar em contacto durante 6 minutos, agitando ocasionalmente.

Juntar 1 ml de solução de anidrido arsenioso a 100 mg %. Continuar a bromação até à viragem. Calcular o tempo de electrólise necessário para a oxidação de 1 ml de anidrido arsenioso nas mesmas condições. Subtrair os dois resultados.

A intensidade da corrente empregada foi de 0,010 A. $\Delta t = 192$ segundos, pelo que o teor da amostra é de 98,9 %.

O processo traduz-se pela seguinte equação:



Exp.^a 5: *Salicilanilida*:

A salicilanilida só pode igualmente ser doseada pela técnica de retorno e devido à sua insolubilidade no ácido clorídrico 2N emprega-se o ácido acético como solvente. A técnica do doseamento é idêntica à anterior com a diferença que se geram 3 minutos e 20 segundos de bromo seguidos de 3 minutos de repouso. O processo de bromação é o que segue:



Gastaram-se 181 s de corrente a 0,010 A o que corresponde a um teor da amostra de 100 %.

Exp.^o 6: *Ciclobarbitol cálcio*:

Este composto só adiciona bromo muito lentamente, pelo que a determinação do ponto de viragem pelo processo electrométrico descrito não é prática.

Nós adoptámos com sucesso a técnica fotocoulométrica de MILLER e DEFORD, modificada por SIGGIA (14), para a bromação de duplas ligações alifáticas.

Introduzimos-lhe ligeiras alterações devido à instrumentação diferente que utilizámos. Esta técnica consiste no seguinte:

Após a preparação da tomada de ensaio, contendo 2 mg de ciclobarbitol cálcio em solução clorídrica, adicionamos a solução de base e lemos a sua absorção no espectrofotómetro a 361 m μ em tina de 1 cm contra água. Lemos seguidamente a absorção da mesma solução após gerarmos bromo por 15 segundos a 0,010 A. Construimos assim a curva da titulação fotométrica. Esta apresenta no seu início e depois do termo da reacção ramos lineares correspondentes ao rápido consumo inicial de bromo e à adição de quantidades constantes de bromo após o fim da reacção. Somente junto do ponto de viragem os resultados se afastam da linearidade, devido a que o bromo gerado só lentamente é consumido. Mas como o ponto de viragem é determinado gráficamente, pela intersecção dos dois ramos lineares, fica praticamente independente da velocidade da reacção.

O processo traduz-se pela equação:



Partiu-se de uma tomada para ensaio de 2 mg, empregou-se corrente a 0,01 A e fizeram-se leituras no espectrofotómetro a intervalos regulares primeiro após 15 e depois após 30 segundos de electrólise.

O método gráfico mostrou que o ponto de viragem se situava a 150 segundos o que corresponde a um teor de 99,2%.

Este resultado encontra-se esquematizado na fig. 2.

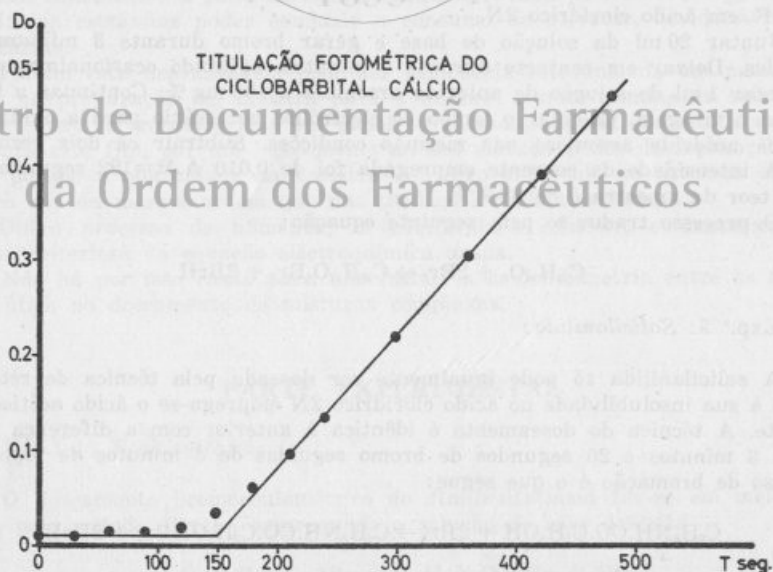


Fig. 2

SUMMARY

Coulometric titrations in pharmaceutical analysis

Coulometric titrations have important advantages as standardization of volumetric solutions is avoided, the use of unstable reagents (Ti^{3+} , Cu_2^{2+} , Br_2 , Cl_2 , etc.) is made possible, and their greater sensitivity renders them suitable for trace analysis. Their selectivity is poor in comparison with polarography or constant potential coulometry but analysis of complex mixtures is made possible by the introduction of a thin layer chromatographic step.

The bromocoulometric assay of phtalysulphathiazol, l-cystine, 1p-chloro-benzoyl-5-methoxy-2-methyl indol-3 acetic acid, guaiacol glyceryl ether, salycilanilide and cyclobarbital calcium was carried out using Patriarche's electrolyte solution (3).

The direct titration of 2N ClH solutions of 1 mg samples with bromine generated at a constant current of 10 mA was possible for compounds readily brominated e.g. phtalysulphathiazol an l-cystine.

Non-aqueous assays in acetic acid medium were carried out with water insoluble drugs such as indomethacin and salycilanilide.

For slowly reacting compounds, e.g. guaiacol glyceryl ether and salycilanilide, bromine was generated in excess and after a few minutes contact the excess bromine decomposed with a known amount of a titrated solution (ca. 100 mg %) of As_2O_3 . The excess of this reagent was then titrated in the usual way.

The end point was detected in the above experiments by a convenient dead stop method (Fig. 1).

With cyclobarbital calcium however a photometric end point detection (14) at 361 $m\mu$ was advantageously used; bromine was generated in periods of 15 seconds until the plotted results showed a well defined linear gradient. The end point was obtained as the intersection of the two linear portions of the titration curve (Fig. 2).

BIBLIOGRAFIA

- (¹) CHARLOT, G., BADOZ-LAMBLING, J., TRÉMILLON, B.: «Les réactions électrochimiques», Masson et Cie, Paris, 1959.
- (²) ABRESCH, K. e CLAASSEN, I.: «Coulometric Analysis», Chapman & Hall, Londres, 1965.
- (³) PATRIARCHE, G.: «Contribution à l'Analyse Coulométrique», Éd. Arstia S. A., Bruxelles, 1964.
- (⁴) ANASTASI A., GALLO, U. MERCARELLI e NOVACIC L.: *J. Pharm. Pharmacol.* **8**, 241 (1956).
- (⁵) ARCAUD, G. M.: *Anal. Chim. Acta* **19**, 267 (1958).
- (⁶) BISHOP, E.: *Anal. Chem.*, **26**, 783 (1954).
- (⁷) BÜCHEL, E. e ABRRESCH, K.: *Angew. Chem.* **74**, 685 (1962).
- (⁸) COOKE, W. D.: *Anal. Chem.* **24**, 426 (1952).
- (⁹) DELAHAY, P.: *Anal. Chem.*, **34**, 1267 (1962).
- (¹⁰) DE FORD, D.: *Anal. Chem.*, **28**, 660 (1956), id. **30**, 612 (1958), id. **32**, 31 (1960), id. **34**, 57R (1964), id. **36**, 70R (1964).
- (¹¹) GAUGHIN, R.: *Chim. Anal.* **36**, 92 (1954).
- (¹²) LEWIS, D. T.: *Analyst*, **86**, 496 (1961).
- (¹³) LINGANE, J. J.: *J. Amer. Chem. Soc.*, **67**, 1916 (1945).
- (¹⁴) MILLER, J. W., DE FORD, D.: *Anal. Chem.* **29**, 475 (1957).
- (¹⁵) PATRIARCHE, G.: *J. Pharm. Belg.*, **46**, 299 (1964).
- (¹⁶) PICCOBONI, L.: *Cronache di Chimica*, **4**, 3 (1964).

- (¹⁷) REILLEY, C.: *J. Chem. Ed.* **31**, 543 (1954).
 (¹⁸) REYNOLDS, G. F. e SHALGOSKY: *An. Chim. Acta.*, **10**, 386 (1954).
 (¹⁹) SERRANO, V.: *An. Fac. Farm. Porto*, **21**, 63 (1962).
 (²⁰) SMYTHE, L. E.: *Ind. Chemist*, **33**, 501 (1957).
 (²¹) SWIFT, E. H.: *Anal. Chem.* **28**, 1804 (1956).
 (²²) TROBISCH, K.: *Chem. Techn.* **9**, 649 (1957).
 (²³) TUTUNDZIC: *Anal. Chim. Acta*, **8**, 168 (1953).
 (²⁴) WISE, E. N., GILLES, P. W. e REYNOLDS, C. A.: *Anal. Chem.*, **25**, 1344 (1953).

(Trabalho realizado no Serviço de Estudos e Ensaio dos Laboratórios Azevedos — Sociedade Industrial Farmacêutica).



Centro de Documentação Farmacêutica da Ordem dos Farmacêuticos

O TETRAFENILBORETO DE SÓDIO COMO REAGENTE DE IDENTIFICAÇÃO E DOSEAMENTO DE BASES ORGÂNICAS

GERARDO MATTA

por
M. J. SILVA
Químico-Farmacêutico

M. M. SIMÕES LOPES

Decorreram mais de quinze anos sobre a data da publicação dos primeiros trabalhos da escola alemã de WITTIG acerca do anião complexo $(C_6H_5)_4B^-$. Em 1947 WITTIG e KEICHER referiram-se pela primeira vez à obtenção do tetrafenilboreto de lítio e, dois anos mais tarde, os mesmos AA. publicavam em colaboração com RUCKERT e RAFF um estudo experimental sobre a preparação e as reacções de diversos sais metálicos do referido anião (*). Estes AA. observaram então que os sais de lítio e de sódio do T. F. B. são bastante hidrosolúveis, ao contrário dos sais de potássio, céσιο, rubídio e amónio, cuja insolubilidade na água é excepcionalmente elevada. Coube a WITTIG e aos seus colaboradores o mérito de terem proposto pela primeira vez a utilização do T.F.B.Na e do T.F.B.Li como reagentes analíticos para a pesquisa e doseamento gravimétrico do amónio e dos três metais alcalinos pesados — potássio, céσιο e rubídio.

Estudos posteriores, realizados por outros investigadores vieram confirmar mais tarde as enormes vantagens analíticas do T.F.B. (Reagente de WITTIG), particularmente a sua superior sensibilidade em relação aos reagentes clássicos usados habitualmente na pesquisa e doseamento gravimétrico do potássio, céσιο e rubídio. Entretanto, publicaram-se referências relativas à precipitação sob a forma de sais insolúveis de T.F.B., doutros metais, como por exemplo o Cu^+ , a Ag , Hg^{++} e o Th^+ , o que veio alargar as possibilidades deste método de análise abrindo-lhe perspectivas novas no domínio da análise quantitativa.

Para além do quadro restrito da análise mineral, o T.F.B. presta hoje serviços preciosos em análise orgânica, especialmente na detecção, identificação e doseamento de compostos azotados com carácter básico. Na última década, uma extensa bibliografia tem confirmado as vantagens únicas do T.F.B. na pesquisa, caracterização e doseamento de aminas, alcalóides, amónios quaternários, analgésicos, alguns antibióticos, anestésicos diversos e outros compostos orgânicos azotados com interesse farmacêutico. No domínio dos alcalóides, por exemplo, o reagente de WITTIG demonstrou vantagens indiscutíveis sobre os reagentes clássicos habituais (iodobismutato, silicotungstico, fosfotungstico, etc.) que dão pre-

(*) Designaremos no texto o anião $(C_6H_5)_4B^-$ pela sigla T. F. B., das iniciais da sua nomenclatura química. É corrente designarem-se os sais deste anião como tetrafenilboratos quando em boa verdade têm de ser considerados tetrafenilboretos.

cipitados muito mais solúveis e, o que é pior, de composição inconstante e mal definida. Ao invés, o T.F.B. precipita sempre as bases orgânicas azotadas sob a forma de sais definidos, de composição constante e solubilidade suficientemente reduzida para permitir aplicações em escala microanalítica. Por outro lado, a formação destes sais definidos permite a determinação de pontos de fusão (ou decomposição) característicos da base orgânica, assim como o estudo microcristalino dos respectivos precipitados, a investigação das suas solubilidades nos solventes orgânicos e dos respectivos espectros U.V. e I.V., elementos do maior interesse para a identificação do composto orgânico em estudo.

Estabelecidas as condições experimentais mais adequadas à precipitação quantitativa da base orgânica em estudo (concentração, pH, temperatura, purificação e separação do precipitado), o tetrafenilboreto obtido é susceptível de permitir o doseamento da base orgânica por qualquer das técnicas volumétricas ou gravimétricas clássicas ou por métodos instrumentais modernos (espectrofotometria, nefelometria, amperometria, condutimetria, alta frequência, titulação em meio não-aquoso, etc.). A grande sensibilidade das reacções de precipitação com o T.F.B. permitirá em muitos casos partir de tomadas de ensaio da ordem dos 100 microgramas (para o potássio 40 mcg), o que torna possível técnicas micro ou semi-microanalíticas, de interesse evidente em análise farmacêutica e toxicológica. Sob este aspecto merecem citação particular os trabalhos fundamentais publicados por PAHLÓW e FLASCHKA em que se descrevem técnicas micro e semi-microanalíticas para o doseamento de diversos anestésicos, analgésicos, alcalóides e aminas com interesse farmacêutico. Entre as técnicas de microdoseamento de bases orgânicas com T.F.B. convirá também referir os métodos espectrofotométricos propostos recentemente por GAUTIER e colaboradores para doseamento de alcalóides. Para além da sua especificidade e notável grau de precisão, estes métodos têm a vantagem de ser muito mais expeditos que os métodos clássicos usuais e bastante menos delicados na execução que os processos descritos anteriormente por FLASCHKA.

Entre as múltiplas possibilidades que o T. F. B. nos oferece em análise orgânica deve citar-se ainda a sua utilização como método de separação de aminas e doutros compostos orgânicos básicos (alcalóides, por exemplo), em substituição das técnicas extractivas habituais com solventes orgânicos, sempre bastante incómodas e laboriosas.

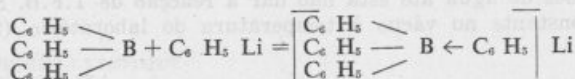
Uma bibliografia que contava já em fins de 1960 mais de 300 trabalhos publicados, em revistas de todo o mundo, atesta de maneira inequívoca o extraordinário interesse deste reagente e dispensa-nos de prolongar demasiado este introito sobre as possibilidades e vantagens excepcionais dos métodos analíticos baseados em reacções de precipitação com o T.F.B.

PARTE EXPERIMENTAL

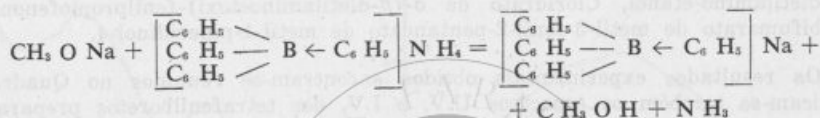
Dispõe-se hoje de várias marcas comerciais (*) de tetrafenilboreto de sódio para fins analíticos, o que evita a laboriosa preparação do T.F.B. no laboratório. WITTIG preparou pela primeira vez este anião complexo por reacção do trifetilboreto com o fenilítio em meio etéreo; o átomo de boro do trifetilboreto capta o par de electrões livre do anião $C_6H_5^-$ resultante da ionização do fenilítico, for-

(*) Temos usado indiferentemente nos nossos trabalhos o Kalignost Merck e o T.F.B. de sódio da BDH, com resultados satisfatórios. Todavia, estes compostos comerciais contêm sempre algumas impurezas e um excesso de alcalinidade que carecem de ser eliminados quando se queira preparar uma solução padrão. Esta purificação realiza-se facilmente por absorção sobre hidróxido de alumínio.

mando-se uma ligação coordenativa que dá lugar ao T.F.B. onde o índice de coordenação do boro é 4 como é usual:



Por reacção do metilato de sódio sobre o sal de amónio preparado por simples precipitação, a partir do T.F.B.Li, WITTIG obteve facilmente o tetrafenilboreto de sódio que é o reagente actualmente em uso:



O reagente de WITTIG é actualmente sintetizado por intermédio duma reacção de GRIGNARD entre o fluorboreto de sódio e o brometo de fenilmagnésio,

$\text{F}_4\text{B Na} + 4 \text{C}_6\text{H}_5\text{Mg Br} \rightarrow (\text{C}_6\text{H}_5)_4\text{B Na} + 4 \text{F Br Mg}$
em condições de melhor rendimento e pureza que constituem objecto de várias patentes.

As duas variáveis mais importantes nas reacções de precipitação com T.F.B. são o pH e a temperatura. Em princípio são de desejar valores baixos de pH e temperaturas relativamente altas, na medida em que conduzem à obtenção de precipitados mais densos e fáceis de filtrar. No entanto, uma acidez excessiva e sobretudo, uma temperatura demasiado elevada, podem ocasionar a decomposição parcial do T.F.B. com formação de ácido fenilbórico que contaminará o precipitado devido à sua insolubilidade. Desenha-se assim um compromisso entre estas duas variáveis que explica as diferentes técnicas de precipitação que têm sido propostas até hoje. Como é óbvio, a necessidade de realizar a precipitação a valores mais baixos de pH (sais facilmente hidrolisáveis) obrigará a trabalhar a temperaturas baixas, da ordem de 0° C; por outro lado é possível praticar a reacção a temperaturas relativamente elevadas (40° a 70° C) desde que se ajuste o pH para valores próximos de neutralidade (5 a 6,5). Definidas as condições óptimas de acidez e temperatura para a precipitação, pode ser conveniente activar a floculação do precipitado por adição de q.b. de cloreto de alumínio. Obtido o precipitado de T.F.B. procede-se à sua lavagem e secagem, de preferência no vácuo sulfúrico. O precipitado está então em condições de ser identificado por estudo das suas constantes físicas (ponto de fusão, solubilidades, exame microcristalino, espectros de absorção no U.V. e no I.V. etc.).

Apresenta-se a seguir a técnica geral que estabelecemos após ensaios de orientação baseados nas considerações decrias.

1. TÉCNICA GERAL DE PRECIPITAÇÃO DE COMPOSTOS ORGÂNICOS AZOTADOS COM T.F.B.

Reagentes

— Soluta de T.F.B. Na a 3,42 %.

— Soluta tampão de acetatos de pH = 4,6.

Misture volumes iguais dum soluto 0,8M de ácido acético e dum soluto de acetato de sódio a 10,88 %.

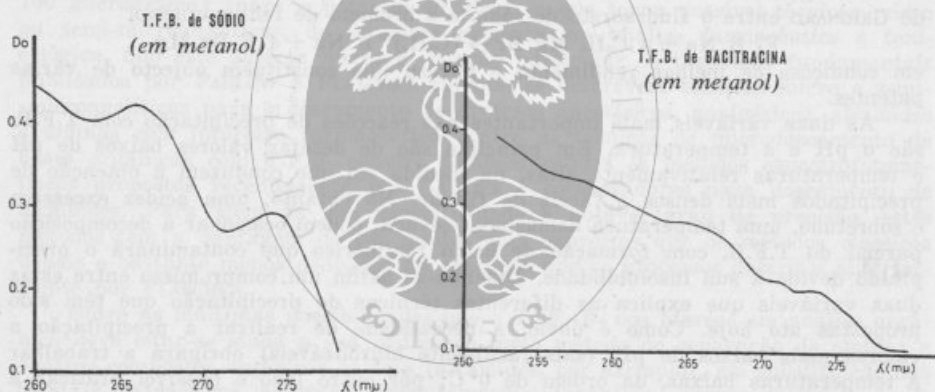
Técnica: Dissolva 5×10^{-3} equivalentes do composto orgânico a estudar, em

50 ml do tampão de acetato. Adicione lentamente 50 ml de soluto de T.F.B. Na a 3,42 %, agitando bem durante 30 minutos. Filtre o precipitado e lave com pequenas fracções de água até esta não dar a reacção de T.F.B. Seque o precipitado a peso constante no vácuo à temperatura do laboratório (25° C).

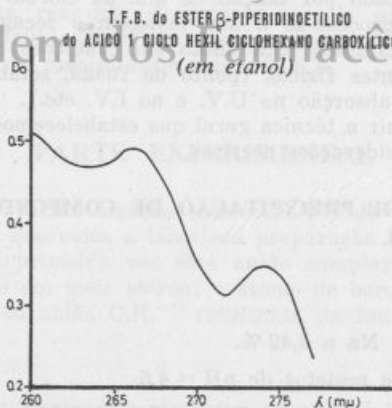
Esta técnica foi aplicada aos seguintes fármacos:

Bacitracina, Estreptomicina, Triacetiloleandomicina, Tirotricina, Dihexiverina, Oximorfona, Oxidodona, Dipiperodon, Citrato de fenil-etil-acetato de dietilamino-etanol, Cloridrato de *o*-(β -dietilaminoetoxi)-fenilpropiofenona e bifumarato de metil-3-fenil-2-pentanoato de metil-1-piperidinol-4.

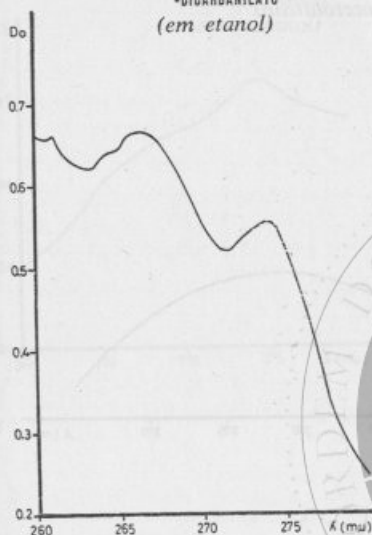
Os resultados experimentais obtidos encontram-se reunidos no Quadro I. Publicam-se também os espectros U.V. e I.V. dos tetrafenilboretos preparados. Estão em curso ensaios para doseamento destes T.F.B. que serão objecto da 2.ª parte deste trabalho, a publicar oportunamente.



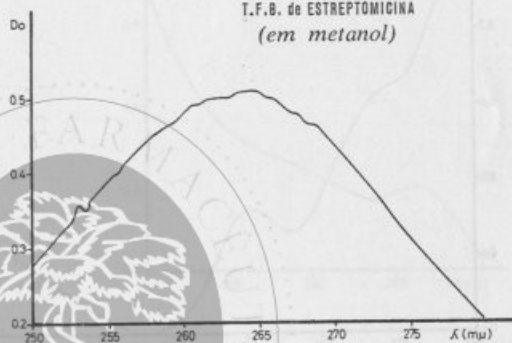
Centro de Documentação Farmacêutica da Ordem dos Farmacêuticos



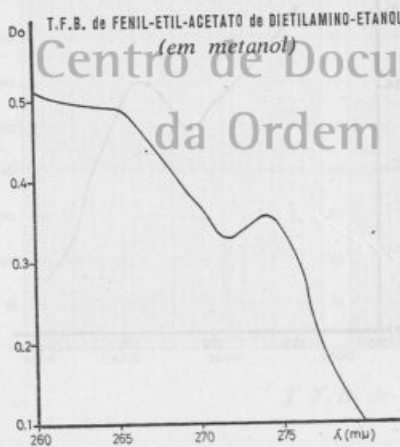
T.F.B. de 3(1-PIPERIDIL)-1-2-PROPANEDIOL-
-DICARBANILATO
(em etanol)



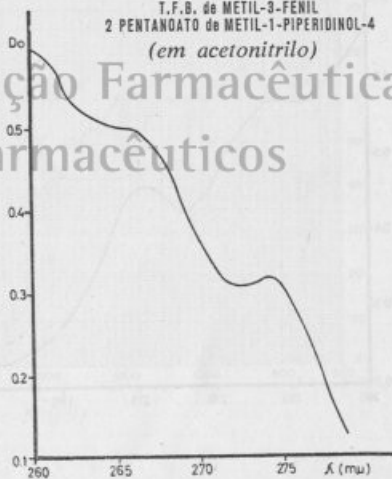
T.F.B. de ESTREPTOMICINA
(em metanol)



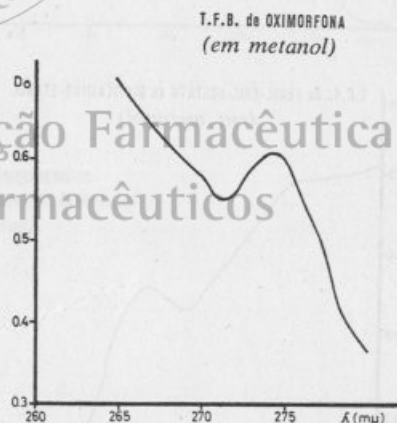
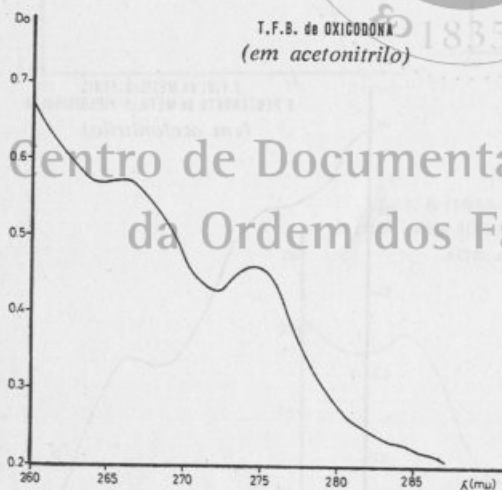
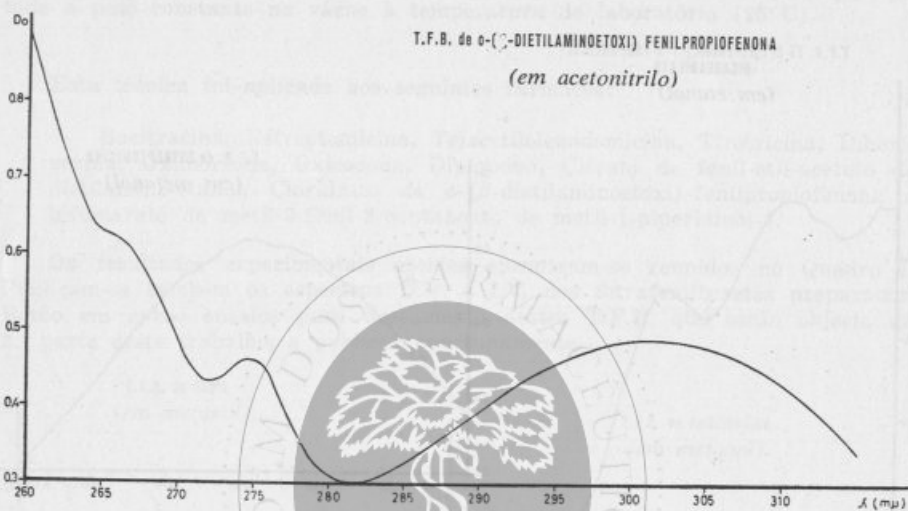
T.F.B. de FENIL-ETIL-ACETATO de DIETILAMINO-ETANOL
(em metanol)



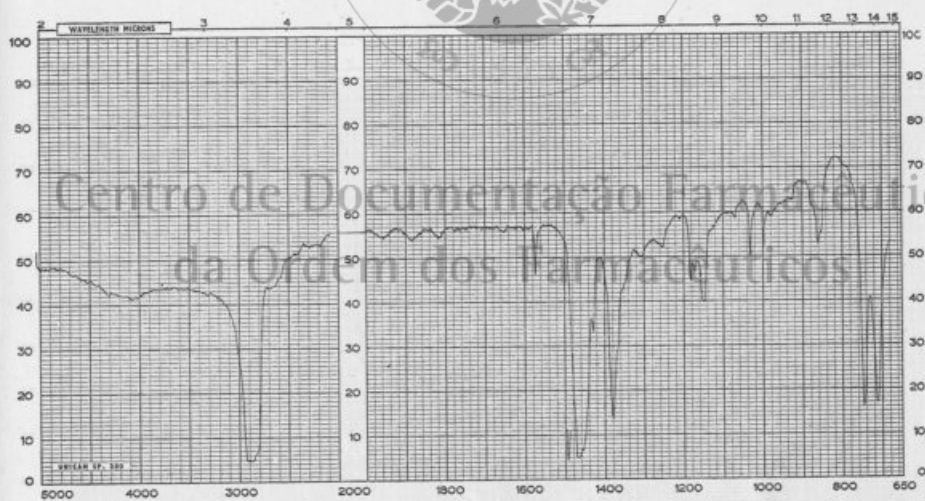
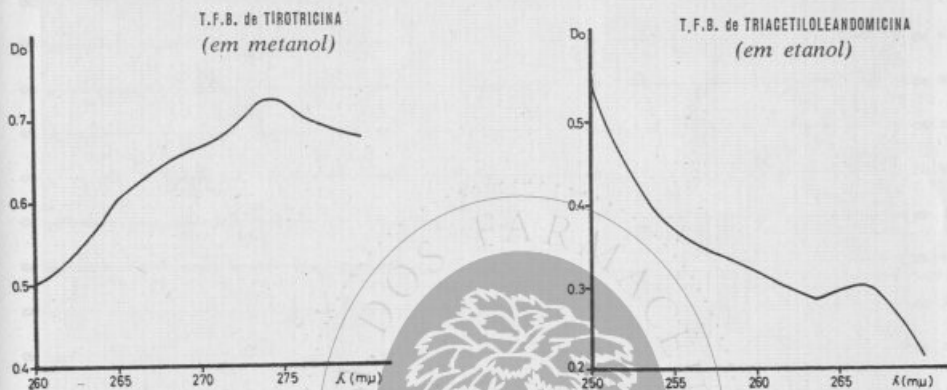
T.F.B. de METIL-3-FENIL
2 PENTANOATO de METIL-1-PIPERIDINOL-4
(em acetoneitrilo)



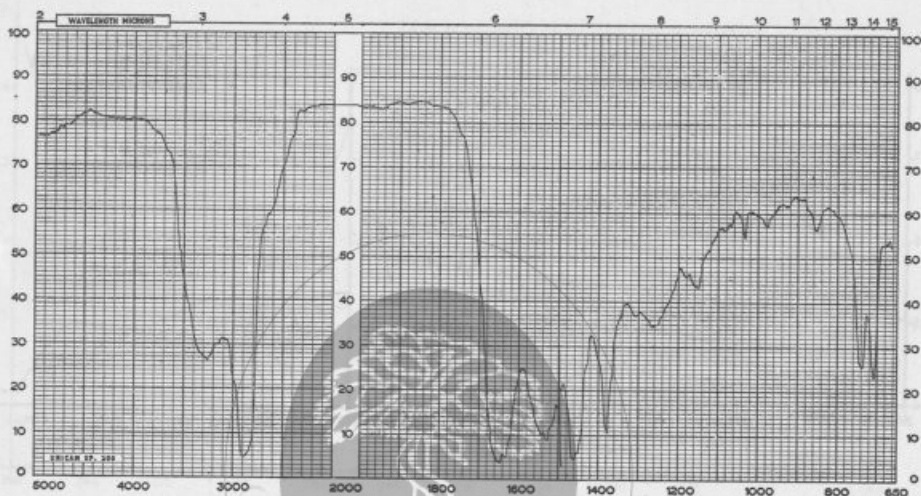
Centro de Documentação Farmacêutica
da Ordem dos Farmacêuticos



Centro de Documentação Farmacêutica
da Ordem dos Farmacêuticos



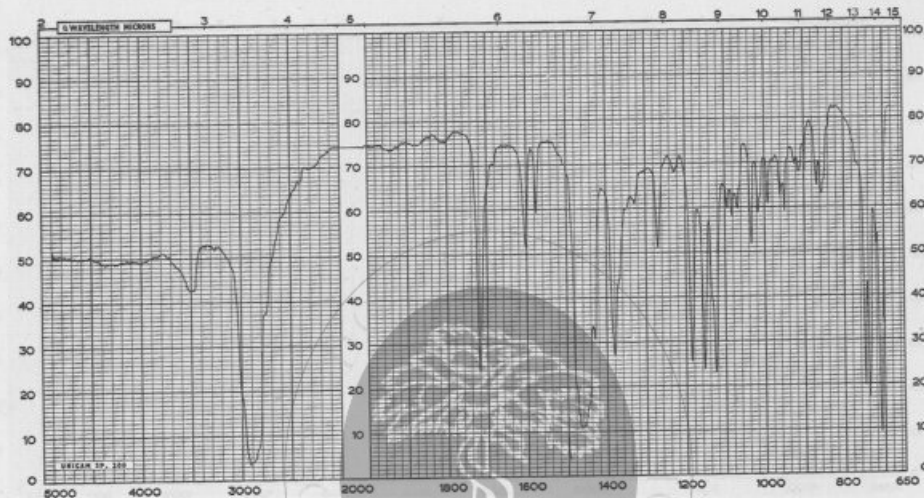
T.F.B. de sódio (Mull de Nujol)



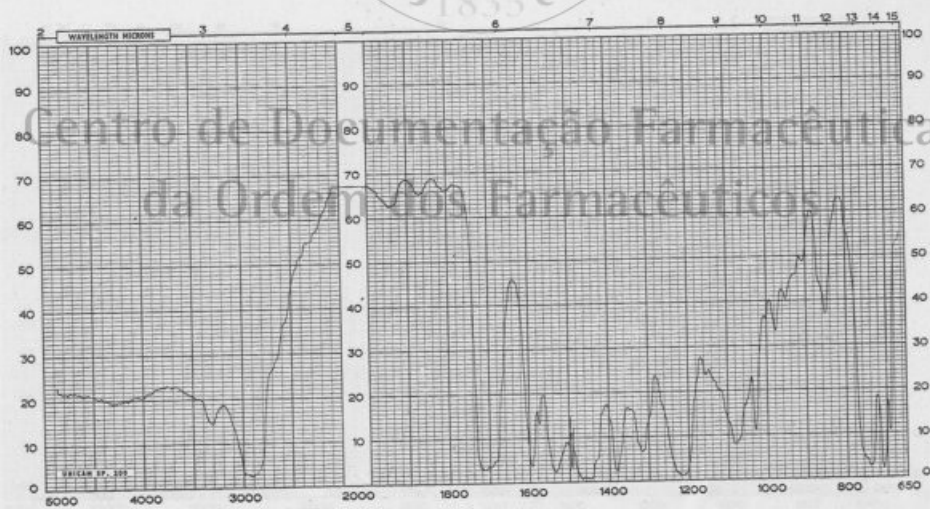
T. F. B. de bacitracina (Mull de Nujol)



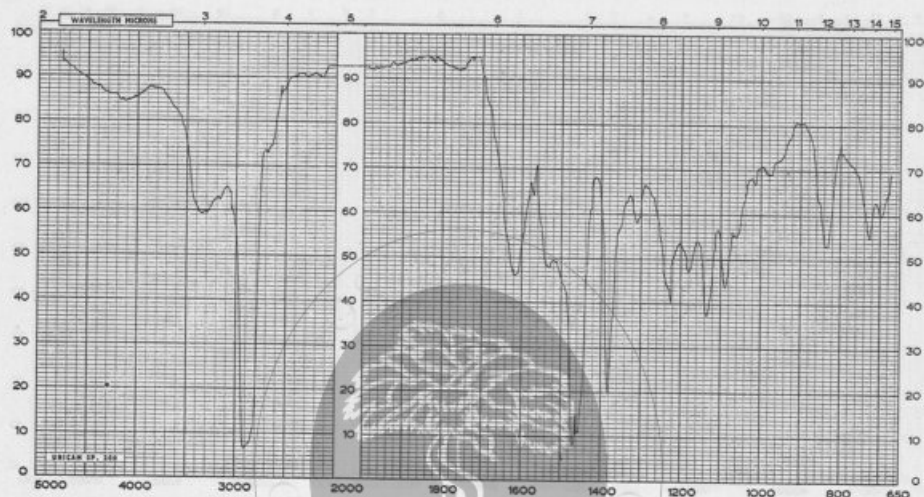
T. F. B. de éster β piperidino etílico do ácido 1-cilo hexil ciclo hexano carboxílico (Fase líquida — C H Cl₂)



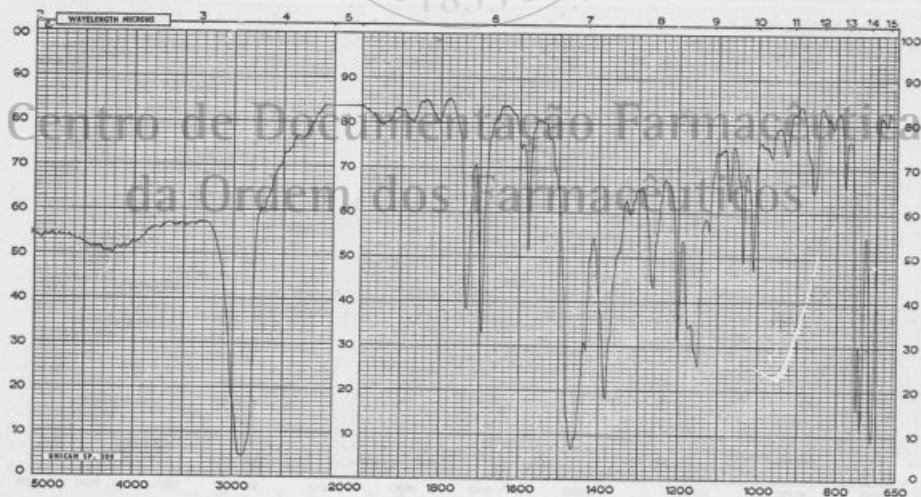
T. F. B. de éster β piperidino etílico do ácido 1-ciclo hexil ciclo hexano carboxílico (Mull de Nujol)



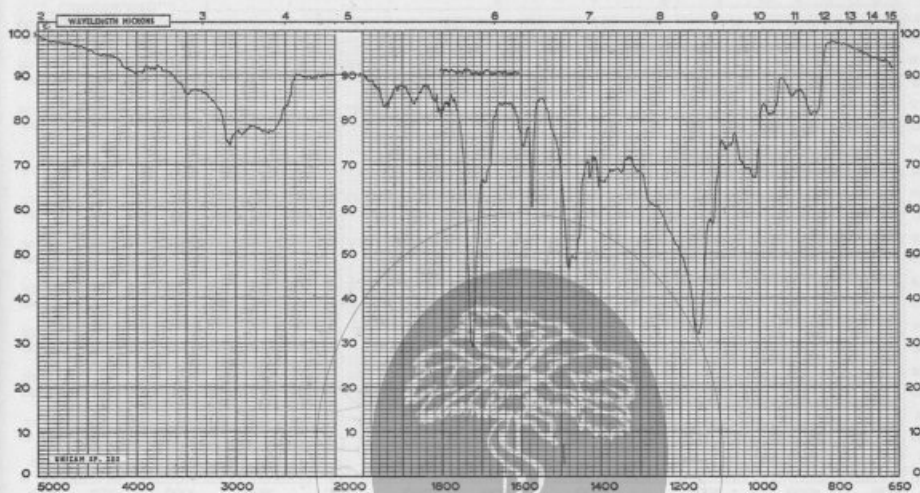
T. F. B. de 3 (1-Piperidil)-1-2-propanedioldicarbanilato (Mull de Nujol)



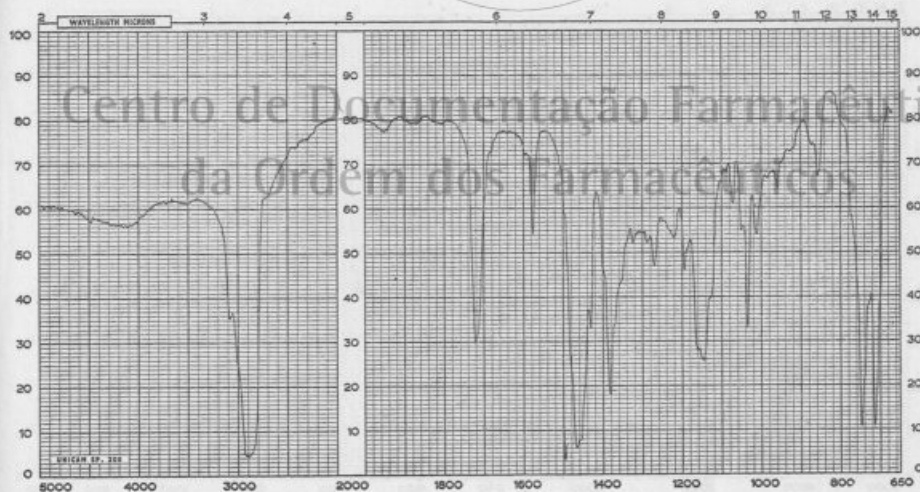
T. F. B. de estreptomina (Mull de Nujol)



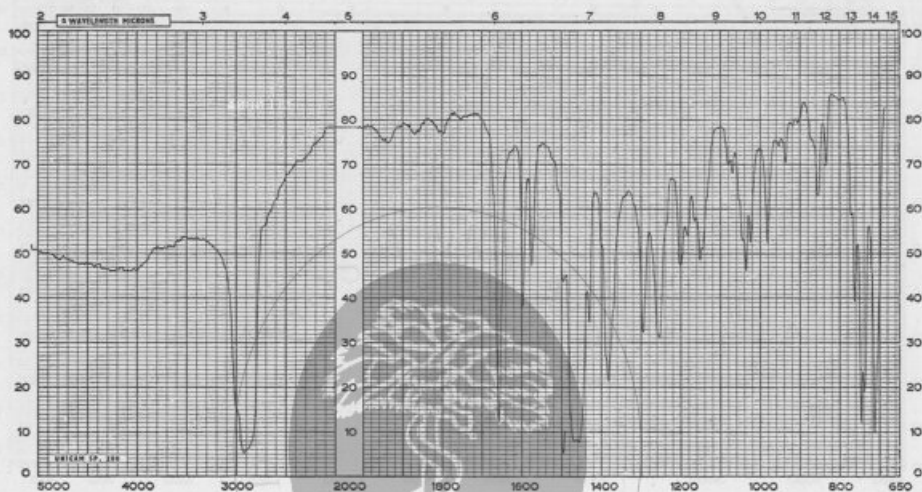
T. F. B. de fenil-etil-acetato de dietilamino-etanol (Mull de Nujol)



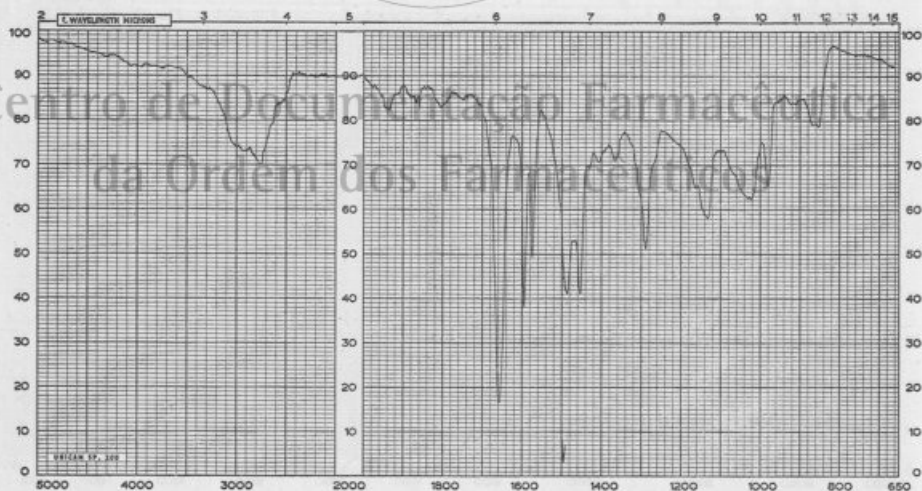
T. F. B. de fenil-etil-acetato de dietilamino-etanol (Fase líquida — C H Cl₂)



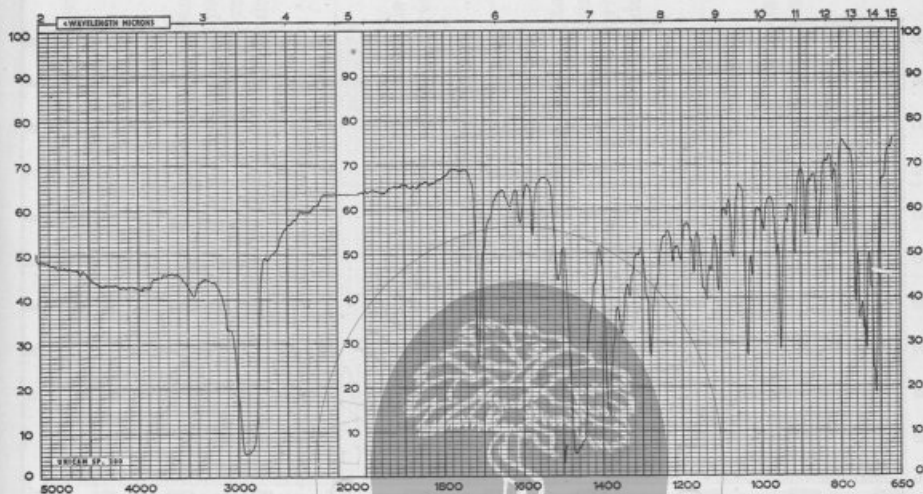
T. F. B. de metil-3-fenil-2 pentanoato de metil 1-piperidinol-4 (Mull de Nujol)



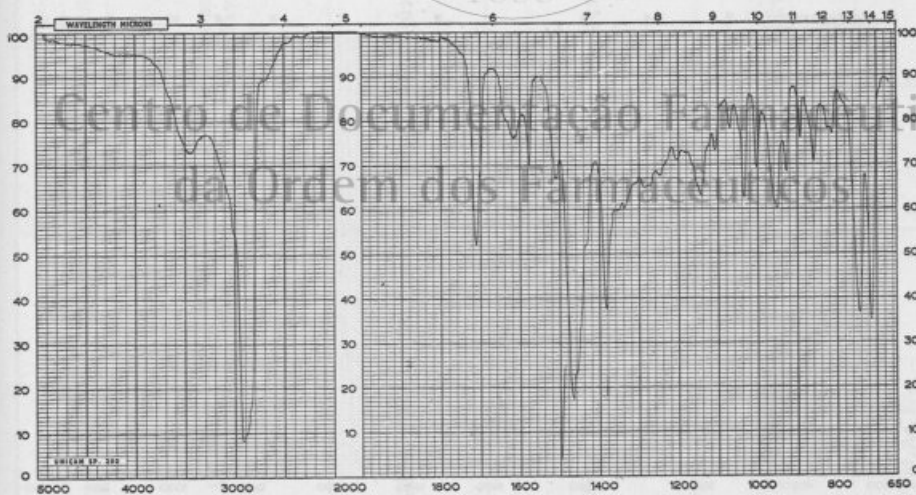
T. F. B. de o-(β-dietilamino etoxi) fenil propiofenona (Mull de Nujol)



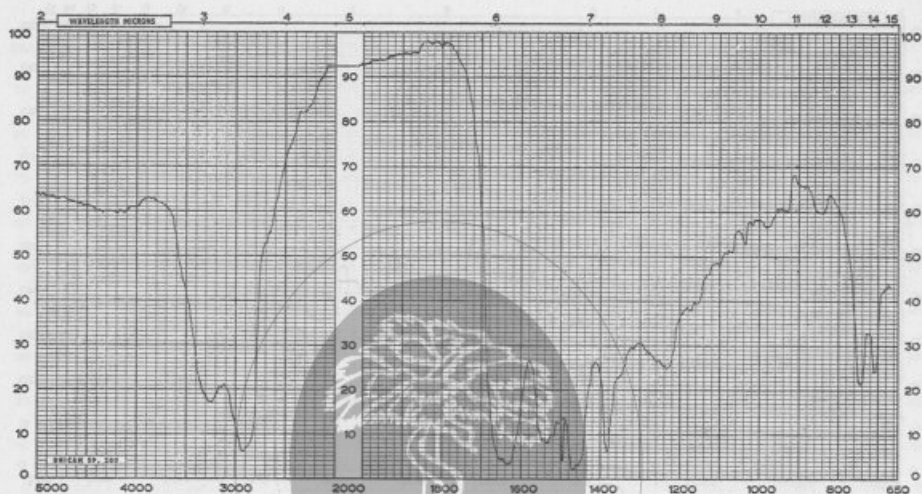
T. F. B. de o-(β-dietilamino etoxi) fenil propiofenona (Fase líquida — C H Cl₃)



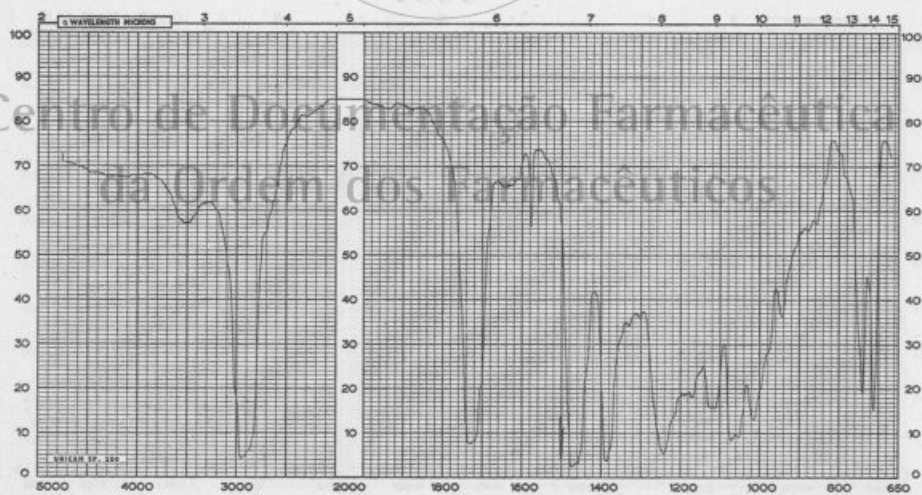
T. F. B. de oxicodona (Mull de Nujol)



T. F. B. de oximorfona (Mull de Nujol)



T. F. B. de Tirotricina (Mull de Nujol)



T. F. B. de triacetiloleandomicina (Mull de Nujol)

QUADRO I

TETRAFENILBORETOS DE :	Cor	SOLUBILIDADES				PONTO DE FUSÃO		Aspecto Microscópico
		Metanol	Acetonitrilo	Clorofórmio	Não cristalizado	Cristalizado		
BACITRACINA	Amarelado	Solúvel	Pouco solúvel	Insolúvel	232° c/ decomposição	232° c/ decomposição	Pequenos cristais, isolados ou agrupados em maclas, de formas arredondadas	
DIHÉXIVERINA	Branco	Solúvel	Solúvel	Solúvel	134°	134°	Cristais lamelares	
DIPERODON	Branco	Solúvel	Solúvel	Solúvel	89°-91°	—	Pequenos cristais, isolados ou agrupados em maclas, de formas arredondadas	
ESTREPTOMICINA	Branco	Solúvel	Solúvel	Insolúvel	185°-186°	186°-187°	Cristais prismáticos	
FENIL-ETILACETATO DE DIETILAMINO ETANOL	Branco	Solúvel	Solúvel	Solúvel	143°-144°	144°-145°	Cristais lamelares	

QUADRO I (Continuação)

TETRAFENILBORETOS DE :	Cor	SOLUBILIDADES				PONTO DE FUSÃO		Aspecto Microscópico
		Metanol	Acetonitrilo	Clorofórmio	Não cristalizado	Cristalizado		
METIL-3-FENIL-2-PENTANOATO DE METIL-1-PIPERIDINOL-4	Branco	Pouco solúvel	Solúvel	Solúvel	114°-117° c/ decomposição	116°-119°	Cristais lamelares	
0-β-DIETILAMINOETOXI) FENIL PROPIOFENONA	Branco	Pouco solúvel	Solúvel	Solúvel	137°-138°	138°-139°	Cristais lamelares	
OXICODONA	Branco	Solúvel	Solúvel	Insolúvel	193°	—	Cristais polidricos	
OXIMORFONA	Branco	Solúvel	Solúvel	Insolúvel	150° c/ decomposição	—	Pequenos cristais, isolados ou agrupados em maclas, de formas arredondadas	
TIROTRICINA	Amarelado	Solúvel	Solúvel	Pouco solúvel	222° c/ decomposição	—	Massas c/ aspecto semi-cristalino	
TRIACETILOLEANDOMICINA	Branco	Solúvel	Solúvel	Solúvel	129°-131° c/ decomposição	130°-132° c/ decomposição	Pequenos cristais, isolados ou agrupados em maclas, de formas arredondadas	

SUMMARY

Sodium tetraphenylborate as a reagent for identification and assay of organic bases

In this paper the scope of sodium tetraphenylborate as a reagent for precipitation in qualitative and quantitative analysis is referred.

Solubilities, melting-points, microscopic characteristics (Table I) and U.V. and I.R. spectra are described for tetraphenylborates of organic nitrogenous bases with interest in pharmacy. This method was applied with success to antibiotics (bacitracin, tyrothricin, streptomycin sulfate and triacetyloleandomycin), alkaloids (oxycodone hydrochloride and oximorphone hydrochloride) and salts of organic nitrogenous bases (2-phenyl-3-methyl-pentanoic acid 1-methyl-4-piperidyl ester fumarate; o-(β -diethylamino-ethoxy) phenylpropiofenone; diethylaminoethanol-phenyl-ethylacetic ester citrate; 1-cyclohexylcyclohexanecarboxylic acid β -piperidinoethyl ester hydrochloride; and 3-(1-piperidyl)-1,2-propanediol dicarbanilate hydrochloride.

BIBLIOGRAFIA

- (¹) CHATTEN, L. G., PERNOWSKI, M. e LEVY, L.: *J. Am. Pharm. Assoc. Sci.*, **48**, 276-283 (1959).
- (²) CRANE, F. E.: *Anal. Chem.* **28**, 1794-1797 (1956).
- (³) CRANE, F. E.: *Anal. Chem.*, **30**, 1426-1429 (1958).
- (⁴) CLULEY, H. J.: *Analyst.*, **90**, 354 (1965).
- (⁵) CROSS, T. J.: *The Analyst.* **90**, 315 (1965).
- (⁶) FINDEIS, A. F. e VRIES, T.: *Anal. Chem.*, **28**, 1899-1901 (1956).
- (⁷) FISCHER, R e KARAWIA, M. S.: *Mikrochim. Acta.* **4**, 366 (1953).
- (⁸) FLASCHKA, H.: *Anal. Chem.* **136**, 99, (1952).
- (⁹) GAUTIER, J. A. e PELLERIN, F.: *Annal. Pharm. Franç.*, **10**, 401 (1952).
- (¹⁰) GAUTIER, J. A., RENAULT, J. e PELLERIN, F.: *Annal. Pharm. Franç.*, **13**, 725-730 (1955).
- (¹¹) GAUTIER, J. A., RENAULT, J. e PELLERIN, F.: *Annal. Pharm. Franç.*, **14**, 337-340 (1956).
- (¹²) GAUTIER, J. A., RENAULT, J. e RABIAN, J.: *Annal. Pharm. Franç.* **17**, 401-408, 491-497 (1959).
- (¹³) GEHMANN, W. e GEBAUER, Z.: *Anal. Chem.* **139**, 161 (1953).
- (¹⁴) GLOSS, G.: *Chem. Analyst.* **62**, 231 (1950).
- (¹⁵) PAHLOW, M.: *Deut. Apoth. Zeit.* **93**, 541 (1953).
- (¹⁶) SCOTT, W. E., DOUKLAS, H. M. e SCHAEFER, S. S.: *J. Am. Pharm. Assoc. Sci.* **45**, 568-570 (1956).
- (¹⁷) SCHULTZ, O. E. e GOERNER, M.: *Deut. Apoth. Zeit.* **93**, 585 (1953).
- (¹⁸) SCHULTZ, O. e MAYER, G.: *Deut. Apoth. Zeit.* **92**, 358 (1952).
- (¹⁹) SMITH, D. L., JAMIESON, D. R. e ELVING, P. J.: *Anal. Chem.* **32**, 1253-1257 (1960).
- (²⁰) SMITH, E., WORREL, L. F. e SINSHEIMER, J. E.: *Anal. Chem.* **35**, 58-61 (1963).
- (²¹) SPOREK, K. F. WILLIAMS, A.: *Analyst*, **80**, 347 (1955).
- (²²) WACHSMUTH, H. e MERTENS.: *J. Pharm. Belg.* **13**, 58-62 (1958).
- (²³) WITTIG, G. e col.: *Liebig's Ann.* **563**, 110 (1949).
- (²⁴) WORREL, L. e EBERT, R. W.: *Drug. Standards.* **24**, 153-157 (1956).

(Trabalho realizado no Serviço de Estudos e Ensaio dos Laboratórios Azevedos).

O Rf E A CONSTANTE DIELECTRICA DOS LIQUIDOS DE DESENVOLVIMENTO EM CROMATOGRAFIA DE PAPEL

por

L. NOGUEIRA PRISTA

Prof. Cat. Fac. Farmácia do Porto

A. ROQUE DA SILVA

Assistente Fac. Farmácia do Porto
Bolseiro do I. A. C.

Os trabalhos de PARUTA e colab. (1), em que se demonstra que a solubilidade do ácido salicílico em diversos solventes, não depende da natureza desses solventes, mas sim das respectivas constantes dieléctricas, entusiasmarão-nos a verificar se o mesmo facto se passaria com o Rf de algumas substâncias, em cromatografia de papel, isto é, levaram-nos a tentar saber qual a relação existente entre os Rf de uma substância e as C. D. (constantes dieléctricas) dos líquidos de desenvolvimento utilizados. Pretendíamos determinar se, solventes puros ou misturas de solventes com C.D. iguais, produziram, para a mesma substância, Rf idênticos.

O conhecimento de que o Rf depende de vários factores, entre os quais, da maior ou menor capacidade de dissolução da substância cromatografada no líquido de desenvolvimento, pareceu-nos base suficiente para tentarmos tal demonstração.

Por outro lado, afigurou-se-nos interessante comprovar praticamente, uma conclusão teórica verificada por um de nós: a proporcionalidade directa entre os valores de Rf de algumas substâncias (estrona e estradiol) e as C.D. dos líquidos utilizados no desenvolvimento. Na realidade os valores de Rf dessas duas substâncias, mencionadas em BLOCK, DURRUM e ZWEIG (2) para a cromatografia em papel activado com alumina, são directamente proporcionais aos valores das C.D. das misturas de benzeno e clorofórmio utilizadas, valores esses calculados teoricamente pelo processo abaixo descrito.

As conclusões teóricas encontram-se no quadro I e figura 1.

QUADRO I

Benzeno-clorofórmio	3:1 (C.D. 2,85)	2:1 (C.D. 3,03)	1:1 (C.D. 3,50)
Substâncias	Rf	Rf	Rf
Estrona	0,30	0,40	0,90
Estradiol	0,05	0,15	0,50

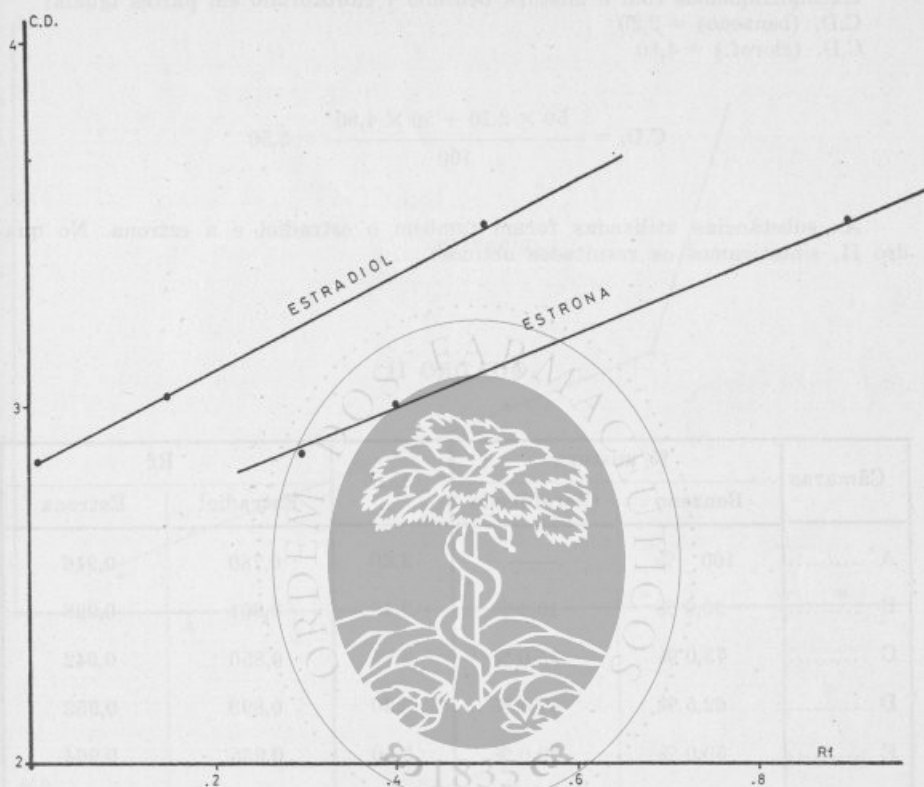


Fig. 1

Centro de Documentação Farmacêutica da Ordem dos Farmacêuticos

PARTE EXPERIMENTAL

1) — Utilizámos duas câmaras cromatográficas que saturámos, respectivamente, de benzeno puro e dioxano puro. Qualquer destes dois solventes tem uma C.D. de 2,20.

Como substâncias de ensaio usámos a estrona e o estradiol em soluções etéreas.

Preparámos diversos papéis e verificámos que, na câmara com benzeno, quer a estrona quer o estradiol, produziram manchas, cujos Rf foram, respectivamente, de 0,916 e 0,780. Contudo, na câmara com dioxano, as substâncias mantiveram-se na linha de partida, invalidando assim a nossa suposição.

2) — Para a verificação da proporcionalidade, preparámos 8 câmaras, as quais saturámos com misturas diversas de benzeno e clorofórmio. Para cada uma dessas misturas, calculámos teoricamente o valor da C.D.

Esse cálculo foi feito utilizando a seguinte fórmula:

$$\text{C.D. mist.} = \frac{\% \text{ componente A} \times \text{C.D.}_A + \% \text{ componente B} \times \text{C.D.}_B}{100}$$

Exemplifiquemos com a mistura benzeno + clorofórmio em partes iguais:

C.D. (benzeno) = 2,20

C.D. (clorof.) = 4,80

$$C.D. = \frac{50 \times 2,20 + 50 \times 4,80}{100} = 3,50$$

As substâncias utilizadas foram também o estradiol e a estrona. No quadro II, sintetizamos os resultados obtidos:

QUADRO II

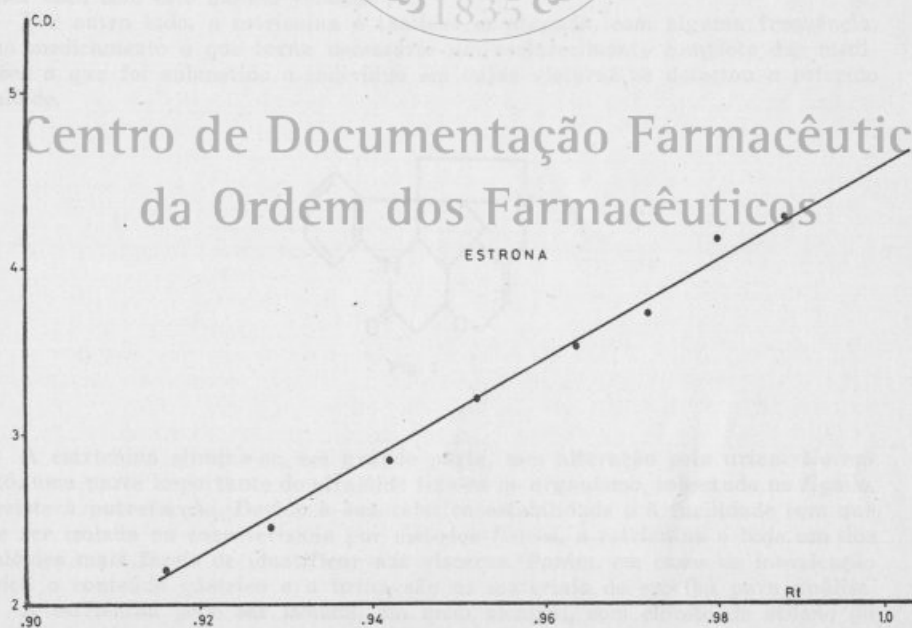
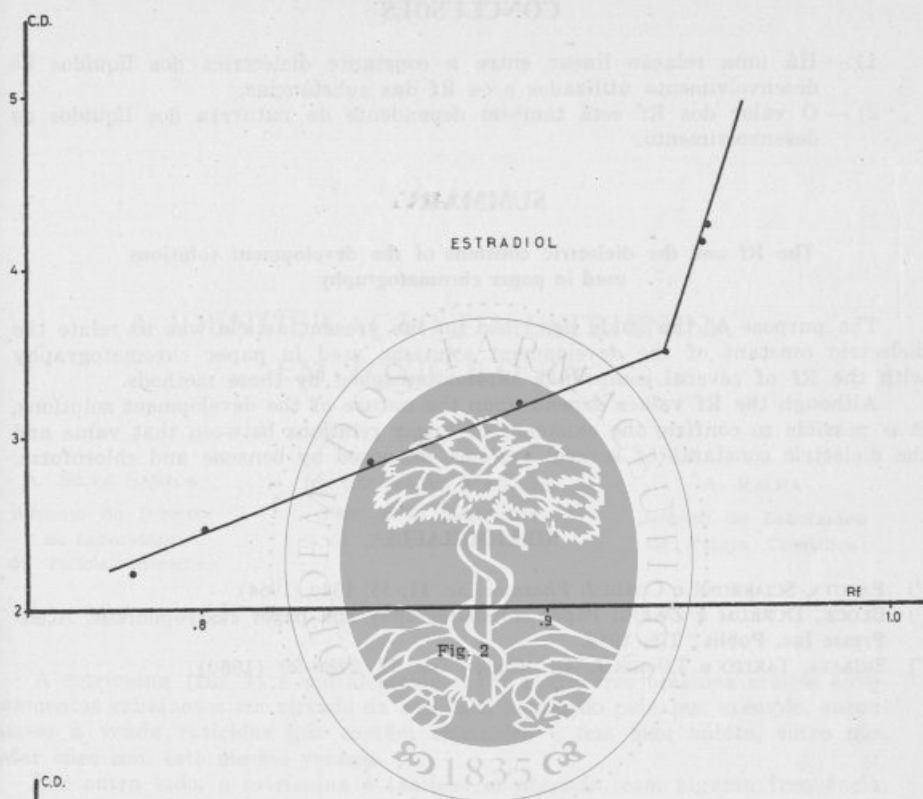
Câmaras	% mistura		C.D.	Rf	
	Benzeno	Clorofórmio		Estradiol	Estrona
A	100 %	—	2,20	0,780	0,916
B	90,0 %	10,0 %	2,46	0,801	0,928
C	75,0 %	25,0 %	2,85	0,850	0,942
D	62,5 %	37,5 %	3,20	0,893	0,952
E	50,0 %	50,0 %	3,50	0,935	0,964
F	41,7 %	58,3 %	3,70	0,938	0,972
G	25,0 %	75,0 %	4,15	0,945	0,972
H	21,0 %	79,0 %	4,25	0,947	0,988

da Ordem dos Farmacêuticos

Os Rf foram calculados segundo SHIBATA (*), estabelecendo o cociente entre a altura do extremo alto da mancha e a altura da frente do solvente.

Nas figuras 2 e 3 estão representadas grãficamente as relações entre os Rf e as C.D. das misturas.

No estradiol verifica-se uma mudança de orientação, enquanto que na estrona, a orientação mantém-se constante.



Centro de Documentação Farmacêutica
da Ordem dos Farmacêuticos

CONCLUSÕES

- 1) — Há uma relação linear entre a constante dielétrica dos líquidos de desenvolvimento utilizados e os Rf das substâncias.
- 2) — O valor dos Rf está também dependente da natureza dos líquidos de desenvolvimento.

SUMMARY

The Rf and the dielectric constant of the development solutions used in paper chromatography

The purpose of the study described on the present article was to relate the dielectric constant of the development solutions used in paper chromatography with the Rf of several compounds chromatographed by these methods.

Although the Rf values depend upon the nature of the development solutions, it is possible to confirm the existence of linear relations between that value and the dielectric constants of several systems composed by benzene and chloroform.

BIBLIOGRAFIA

- (¹) PARUTA, SCIARRONE e CORDI: *J. Pharmac. Sc.* **11**, 53, 1349 (1964).
- (²) BLOCK, DURRUM e ZWEIG: *Paper chromatography and paper electrophoresis*, Acad. Presse Inc. Publis., 276, 1958.
- (³) SHIBATA, TAKITO e TANAKA: *J. Am. Chem. Soc.* **72**, 2789-90 (1950).

Centro de Documentação Farmacêutica
da Ordem dos Farmacêuticos

A IDENTIFICAÇÃO DA ESTRICNINA EM TOXICOLOGIA

A. SILVA SANTOS
Adjunto do Director
do Laboratório
de Polícia Científica

por
M. CONCEIÇÃO MARQUES
Técnica do Laboratório
de Polícia Científica

A. RALHA
Director do Laboratório
de Polícia Científica

A estricnina (fig. 1) é um alcalóide muito tóxico que ocasiona muitos envenenamentos criminosos em virtude da sua fácil aquisição pois, por exemplo, encontram-se à venda raticidas que contêm estricnina e tem sido hábito, entre nós, abater cães com este mesmo veneno.

Por outro lado, a estricnina é também empregada, com alguma frequência, como medicamento o que torna necessário um esclarecimento completo das medicações a que foi submetido o indivíduo em cujas vísceras se detectou o referido alcalóide.

Centro de Documentação Farmacêutica
da Ordem dos Farmacêuticos

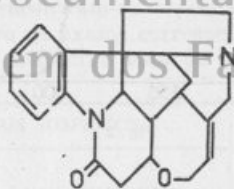


Fig. 1

A estricnina elimina-se, em grande parte, sem alteração pela urina. No entanto, uma parte importante do alcalóide fixa-se no organismo, sobretudo no fígado, e resiste à putrefacção. Devido à sua relativa estabilidade e à facilidade com que pode ser isolada ou caracterizada por métodos físicos, a estricnina é hoje um dos alcalóides mais fáceis de identificar nas vísceras. Porém, em casos de intoxicação maciça o conteúdo gástrico e a urina são os materiais de escolha para análise.

A estricnina pode ser isolada, em meio alcalino, com cloreto de etileno ou clorofórmio já que é muito pouco solúvel no éter. Diversos outros métodos de

isolamento têm sido propostos, como a electrodiálise (²), a cromatografia de adsorção (³) e a permuta iónica (¹).

A estricnina dá positivas diversas reacções gerais de alcalóides e ainda outras consideradas específicas, com a reacção hidroestricnina (⁴) (⁵) e a de MATHIS (⁶). No entanto, todas estas reacções coradas são susceptíveis de sofrerem interferências o que justifica que, na época actual, a identificação da estricnina não se faça apenas por métodos tão falíveis.

Em relação à primeira das reacções citadas TRUFFERT (⁷) constatou que doses relativamente elevadas de cafeína podem dar, nas condições descritas, uma coloração vermelho claro, idêntica à que daria uma pequena quantidade de estricnina.

A injeção de extractos, contendo estricnina, no sacco linfático da rã provoca contracções tetânicas que são consideradas características do alcalóide (PRIESTLEY (1930)). As quantidades necessárias para matar uma rã (*Rana temporaria*) são da ordem dos 50 μ g. O espectro U. V. da estricnina (vidé fig. 2) tem um aspecto

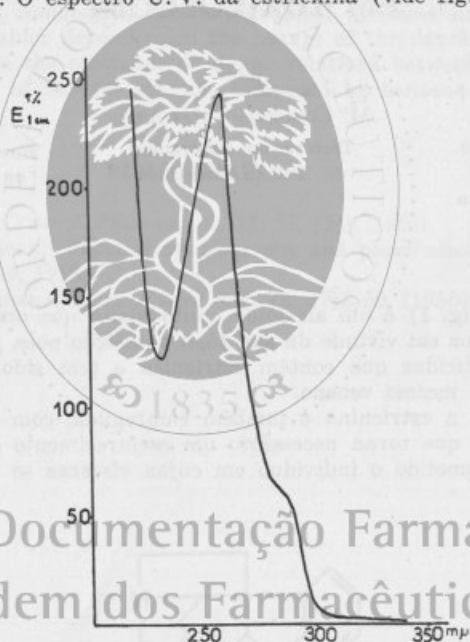


Fig. 2

muito característico e não é afectado pela presença doutras substâncias que possam ser extraídas, nas mesmas condições, de vísceras ou de restos de alimentos. Daí resulta que a identificação da estricnina se faz logo com o espectro da fracção alcalina (clorofórmio ou dicloroetileno) o qual, com os espectros das restantes fracções (neutras e ácidas) constituem, por rotina, a 1.^a fase da identificação dos tóxicos orgânicos. No entanto, a gravidade que representa a detecção da estricnina numas vísceras justifica, por si só, que esta identificação seja confirmada por outros métodos.

A cromatografia em papel: (Papel Whatman n.º 1; Sistema: butanol-ácido acético-água — 10:3:q.b.; Revelador: Dragendorff modificado), ou, mais recentemente, em camada fina (Adsorvente: Gel de Sílica G; Sistema: clorofórmio-metanol — 9: 1; Revelador: Dragendorff modificado) podem constituir a primeira

confirmação, se as manchas observadas apresentarem o mesmo valor de Rf do alcalóide puro, colocado ao lado para comparação.

Em casos de extractos muito impuros, a cromatografia em camada delgada pode, ainda, servir para purificar o produto de modo a poder ser usado para a obtenção de um espectro de infra-vermelho (fig. 3).

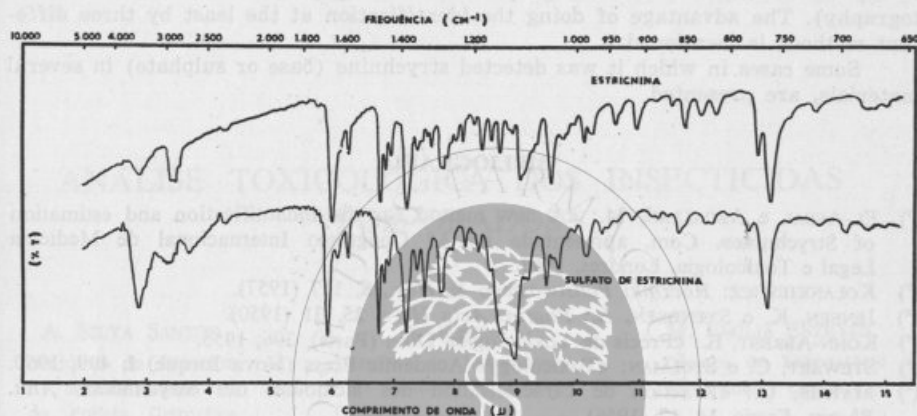


Fig. 3

Quando a quantidade isolada for suficiente a espectrografia de difracção de raios-X pode ser um outro método a empregar para a confirmação da identidade.

É de salientar que estes métodos, muito mais específicos que os clássicos (reações de alcalóides e método biológico), são tanto ou mais sensíveis e não são destrutivos, podendo, por isso, usar-se a mesma amostra para várias determinações. Finalmente, apresentam a enorme vantagem, nomeadamente no campo da química forense, de darem registos gráficos que podem figurar com documentos comprovativos.

No quadro seguinte encontram-se especificados os materiais, com a referência respeitante ao número de exame correspondente, e onde se detectou, sempre por três métodos distintos, estriquina base ou sulfato.

MATERIAIS SUSPEITOS	EXAME N.º
Pó cristalino	57/60; 251/61; 346/62;
Carne	209/60;
Pera	394/61;
Grãos de trigo	124/61;
Raticida «Trigo-Rato»	128/63;
Figo	358/63;

SUMMARY

Strychnine's identification in toxicology

The AA. mentioned the methods used to identify strychnine in toxicology and considered specially the physical methods (U.V. and I.R. spectrophotometry; X ray difraction) and chromatographic methods (paper and thin layer chromatography). The advantage of doing the identification at the least by three different methods is mentioned.

Some cases in which it was detected strychnine (base or sulphate) in several materials, are presented.

BIBLIOGRAFIA

- (1) EL-ASSAL e ABDALLAH, M.: «A new mettdod for the indentification and estimation of Strychnine». Com. apresentada ao 3.º Congresso Internacional de Medicina Legal e Toxicologia, Londres, 1963.
- (2) KOLANKIEWICZ: *Roczniki Pánstwowego Z. Heg.*, 8, 157 (1957).
- (3) JENSEN, K. e SVENDSEN, A.: *Pharm. Acta Helv.* 25, 31 (1950).
- (4) KOHN-ABREST, E.: «Précis de Toxicologie» Doin (Paris), 396, 1955.
- (5) STEWART, C. e STOLMAN: «Toxicology» Academic Press (Nova Iorque) I, 499, 1960.
- (6) MATHIS, C.: «Réaction de caracterisation des alcaloides des Strychnèdes», *Ann. Pharm. Franç.* 14, 17 (1956).
- (7) TRUFFERT, L.: Citado por 4.

(Trabalho realizado no Laboratório de Polícia Científica)

Centro de Documentação Farmacêutica
da Ordem dos Farmacêuticos

EXAME N.º	MATERIAS SUBMITIDAS
17/80, 231/01	Formação
21/85	Formação
24/80	Formação
24/81	Formação
131/01	Formação
128/82	Formação
22/82	Formação

ANÁLISE TOXICOLÓGICA DOS INSECTICIDAS FOSFORADOS

por

A. SILVA SANTOS
Adjunto do Director
do Laboratório
de Polícia Científica

A. RALHA
Director do Laboratório
de Polícia Científica

M. EMÍLIA ESTEVES
Técnica do Laboratório
de Polícia Científica

Os pesticidas fosforados foram descobertos durante a guerra passada. Foi SCHRADER que sintetizou os primeiros compostos deste tipo nos Laboratórios de Elberfeld da então «I. G. Farbenindustrie».

Os insecticidas fosforados são muito tóxicos não só para os insectos como também para os animais de sangue quente e o seu mecanismo de acção está relacionado com a inibição da colinesterase.

São exemplo de pesticidas fosforados o Demetão, o Diazinão, o Diclórfos, o Dimefox, o Dioxatião, o Endotião, o Fencaptão, o Forato, o Fosfamidação, o Malatião, o Paratião, o TEPP, o Tiometão, etc. Destes o Paratião, pela sua acentuada toxicidade, é aquele que mais vezes dá lugar a intoxicações acidentais.

Para efeitos de segurança na utilização destes pesticidas, na Agro-Pecuária, têm sido propostas — em vários países — classificações respeitantes ao grau de Toxicidade.

Em Portugal, recentemente, o Grupo de Trabalho de Toxicologia da «Sociedade Portuguesa de Fitiatria e Fitofarmacologia» propôs a seguinte classificação, aliás apoiada em numerosa documentação publicada noutros países:

TOXICIDADE		
	ORAL AGUDA mg/Kg	PERCUTÂNEA mg/Kg
CLASSE I — LD 50	50	100
CLASSE II — LD 50	50 - 250	100 - 500
CLASSE III — LD 50	250 - 1250	500 - 2500
CLASSE IV — LD 50	1250	2500

- Classe I — Pesticidas muito tóxicos.
 Classe II — Pesticidas tóxicos.
 Classe III — Pesticidas pouco tóxicos.
 Classe IV — Pesticidas isentos de classificação.

A pesquisa deste tipo de compostos é, geralmente precedida de uma extração benzénica e de uma posterior purificação através de uma coluna cromatográfica de alumina activada. O produto pode ser ainda, ulteriormente, purificado por cromatografia em camada delgada (Adsorvente: Gel de sílica; Desenvolvente: Hexano-acetona 4:1) processo que, simultaneamente, pode servir para a identificação, desde que se empregue na revelação um reagente específico de insecticidas fosforados — cloreto de paládio a 0,5 % — (BAUMLER e RIPPENSTEIN) e se usem, paralelamente na mesma placa, padrões de insecticidas organofosforados.

Seguidamente, a identificação será confirmada com a obtenção de espectros ultravioleta e infravermelho dos produtos purificados.

A absorvância no comprimento de onda correspondente ao máximo pode ajudar a dar uma ideia de quantidade de insecticida presente.

Os insecticidas fosforados detectados no L.P.C. foram, até agora, os seguintes:

NOME	N.º de casos	DL 50, mg/Kg (Murganho, ingestão)	CLASSE
Paratião	4	3,5 a 6,5	I
Diazinão	2	100 a 270	II ou III *
Malatião	1	480 a 1.500	II ou III *
Metilparatião	1	15 a 50	I
Tiometão	1	225	II ou III *

* Conforme a concentração é > ou < que 50 %

Destes exames faremos uma referência especial a um dos mais recentes (Fevereiro de 1965) que nos foi pedido pela Polícia Judiciária de Luanda e que estava relacionado com um acidente do qual resultou a morte de três dezenas de crianças.

O acidente, conforme os exames laboratoriais demonstraram, resultou da substituição de um dos componentes da fórmula do insecticida que foi empregado no despioalhamento das referidas crianças. Assim, embora nas embalagens do produto usado no asilo, onde se encontravam as crianças, estivesse indicada a composição: dieldrina e lindano, a análise feita, segundo o esquema já referido, mostrou que o insecticida líquido continha cerca de 10 % (V/V) de paratião (figuras 1, 2 e 3).