

Z Zakładu Chemii Nieorganicznej Wydziału Farmaceutycznego Akademii Medycznej w Lublinie  
Kierownik: prof. dr Andrzej Waksmundzki

Andrzej WAKSMUNDZKI i Henryk ROMANOWSKI

**Kolorymetryczna metoda wykrywania i oznaczania  
hydrazynu kwasu izonikotynowego za pomocą  
epichlorhydrynu**

**Колориметрический метод обнаружения  
и определения хидразида изоникотиновой  
кислоты при помощи энихлорина**

**A colorimetric method for the detection  
and determination of isonicotinyl hydrazine with  
epichlorhydrine**

Literatura naukowa podaje wiele metod wykrywania i oznaczania ilościowego hydrazynu kwasu izonikotynowego (zwanego rimifonem, hydrazidem, nydrazidem). Metody analizy tego leku w większości przypadków opierają się na własnościach redukcyjnych grupy hydrazynowej, jak również na zdolności tworzenia hydrazonów z aldehydami aromatycznymi oraz na reakcjach strąceniowych z różnymi odczynnikami przeważnie nieorganicznymi. Ponadto są znane metody kolorymetryczne, spektrograficzne i polarograficzne oznaczania tego związku. Szczegółowe zestawienie prawie wszystkich znanych dotychczas metod zawdzięczamy M. Różyckiej i K. Gorczyńskiej (1). Zagadnieniem zaś norm farmakopealnych hydrazynu kwasu izonikotynowego zajmował się również J. Supniewski i T. Bany (2).

Kolorymetryczne metody wykrywania i oznaczania hydrazynu kwasu izonikotynowego polegają na jego barwnych reakcjach: 1) z bromocyjanem, 2) z 1-chloro 2,4-dwunitrobenzenem oraz 3) z paradwumetyloaminobenzaldehydem.

Na podstawie prac Giua (3), H. Lohmana (4) i własnych (5) można się spodziewać, że hydrazyd kwasu izonikotynowego jako pochodna pirydyny winien dawać barwną reakcję z epichlorhydrną.

Ponieważ dotychczas opracowane metody kolorymetrycznego wykrywania i oznaczania hydrazidu kwasu izonikotynowego: a) przez sprzężanie z paradwumetyloaminobenzaldehydem zawodzą w przypadku równoczesnej obecności cukrów, zaś b) za pomocą 1 — chloro 2,4-dwunitrobenzenu uzyskujemy nietrwałe zabarwienie, — przeto należało zbadać bliżej reakcję z epichlorhydrną dążąc do wykorzystania jej przy wykrywaniu względnie oznaczaniu ilościowym tego związku.

### C z ę ś ć d o ś w i a d c z a l n a

Przeprowadzone próby jakościowe wykazały, że roztwory alkoholowe i wodno-alkoholowe (o zawartości koło 60% alkoholu) hydrazidu kwasu izonikotynowego zadane epichlorhydrną w stosunkowo niedługim czasie zabarwiają się na kolor czerwony. Intensywność zabarwienia roztworów wzrasta w czasie aż do ustalania się po upływie około 3 godzin.

Ogrzewanie roztworu hydrazidu kwasu izonikotynowego, zadanego epichlorhydrną pod chłodnicą zwrotną, przyspiesza nieco ustalenie się intensywności zabarwienia. Czulość reakcji hydrazidu kwasu izonikotynowego z epichlorhydrną jest duża — wynosi 1—2  $\mu\text{g/ml}$ .

Reakcja powyższa ze względu na tak dużą czulość i jednocześnie specyficzność nadaje się doskonale jako reakcja rozpoznawcza na hydrazyd kwasu izonikotynowego.

W dalszym ciągu przeprowadzono pomiary zależności pomiędzy gęstością optyczną (ekstynkcją E) roztworów a stężeniem (c) substancji absorbującej światło. Pomiary te dokonano za pomocą elektrofotokolorymetru typu „Visomat“. W tym celu przygotowano roztwór wodny hydrazidu kwasu izonikotynowego o dokładnie znanym stężeniu (c) wyrażonym w g/100 ml. Z roztworu tego odmierzano pipetą ściśle oznaczone objętości do kolbki miarowej na 50 ml, dodawano 0,5 ml epichlorhydrny i dopełniano kolbkę 95% alkoholem etylowym. Następnie roztwór ten przelewano do kolbki stożkowej i pod chłodnicą zwrotną ogrzewano na łaźni wodnej w temperaturze 60—70°, około 4 godzin. Po tym czasie intensywność czerwonego zabarwienia osiąga niezmienną wartość.



Następnie roztworem tym napelnia się jedną z kiuwet, drugą zaś roztworem porównawczym (zawierającym z wyjątkiem epichlorhydriny wszystkie składniki w ilościach takich samych jak roztwór pierwszy). Kiuwety umieszcza się w elektrofotokolorymetrze i mierzy się gęstość optyczną  $E$  badanego roztworu najpierw bez użycia filtrów absorbcyjnych, a następnie przy użyciu filtrów żółtych.

**Tabela I.**

| Nr porządkowy | Stężenie hydrazynu kwasu izonikotynowego w g/100 ml. | Ilość dodanej epichlorhydriny w ml. | Wartość gęstości optycznej bez zastosowania filtrów | Wartość gęstości optycznej przy użyciu filtrów żółtych |
|---------------|--|-------------------------------------|---|--|
| 1.            | 0,010  | 0,5                                 | 0,09  | 0,065  |
| 2.            | 0,030  | 0,5                                 | 0,28  | 0,22   |
| 3.            | 0,050  | 0,5                                 | 0,48  | 0,38   |
| 4.            | 0 080  | 0,5                                 | 0,75  | 0,58   |
| 5.            | 0,100  | 0,5                                 | 0,95  | 0,75   |
| 6.            | 0,150  | 0,5                                 | 1,40  | 1,14   |
| 7.            | 0,160  | 0,5                                 | 1,50  | 1,20   |
| 8.            | 0,200  | 0,5                                 | 1,87  | 1,52   |
| 9.            | 0,250  | 0,5                                 | 2,16  | 1,84   |
| 10.           | 0,300  | 0,5                                 | 2,33  | 2,00   |

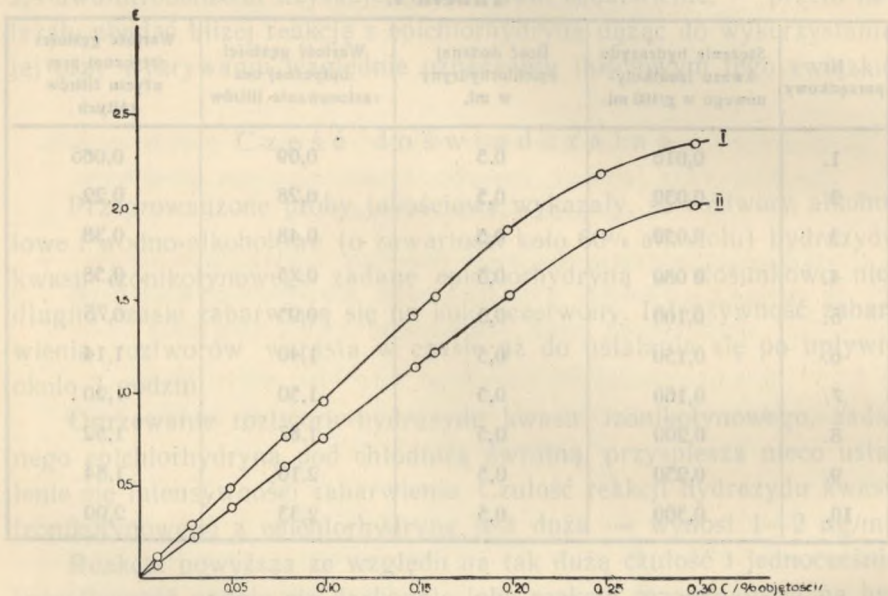
Wyniki pomiarów zawiera tabl. I, w której w kolumnach pionowych podano: numer porządkowy, stężenie hydrazynu kwasu izonikotynowego, ilość dodanej epichlorhydriny i zmierzone wartości gęstości optycznej  $E$  bez zastosowania i przy użyciu filtrów żółtych.

Graficzny przebieg zależności stężenia ( $c$ ) hydrazynu kwasu izonikotynowego, od odpowiadających mu wartości gęstości optycznych ( $E$ ) przedstawia rys. 1, na którym krzywa II odnosi się do pomiarów wykonanych przy użyciu żółtych, krzywa I bez użycia filtrów.

Przebieg powyższej zależności dla roztworów o stężeniach poniżej 0,2% jest liniowy, co świadczy o zgodności z prawami: Lamberta i Beera. Natomiast dla roztworów o stężeniach wyższych od 0,2% zmiany wartości gęstości optycznej  $E$  ze wzrostem stężenia mają przebieg nieliniowy. Mierząc wartość gęstości optycznej  $E$  badanej

próbki, można wykrywać i jednocześnie oznaczać odpowiadające tej wartości stężenie na podstawie wyznaczonej krzywej wzorcowej.

Najpierw przeprowadzono oznaczenie zawartości hydrazynu kwasu izonikotynowego w uprzednio przygotowanych roztworach (o znanym stężeniu) czystego hydrazynu kwasu izonikotynowego lub z domieszką innych substancji np. cukrów, — a następnie w tabletkach. W przy-



Rys. 1.

padku analizy tabletek, zawierających hydrazyn kwasu izonikotynowego, należało uprzednio zawartość hydrazynu kwasu izonikotynowego przeprowadzić do roztworu. W tym celu tabletki te (użyto tabletki firmy „Roche“ à 50 mg) zalano 10 ml wody destylowanej w kolbce stożkowej i ogrzewano na łaźni wodnej w temperaturze 60° do całkowitego rozpadnięcia się tabletek.

Zawartość kolbki stożkowej przesączało do kolbki miarowej na 50 ml, pozostałość na sączku przemyto kilkakrotnie małymi ilościami wody destylowanej do tej samej kolbki miarowej i po zadaniu 0,5 ml epichlorhydrynu uzupełniono alkoholem etylowym do kreski.



Reakcję barwną pomiędzy roztworami otrzymanymi z tabletek i zawierającymi czysty hydrazyn kwasu izonikotynowego, a epichlorhydriną przeprowadzono w sposób podany powyżej.

Następnie dokonywano pomiarów gęstości optycznej  $E$  otrzymanych roztworów hydrazynu kwasu izonikotynowego zawartego w tabletkach w stosunku do roztworu porównawczego. Odpowiadające zamierzonej gęstości optycznej ( $E$ ) — stężenie ( $C$ ) hydrazynu kwasu izonikotynowego w badanej próbce, odczytywano z wykresu krzywej wzorcowej.

W ten sposób można przy jednoczesnym jakościowym wykrywaniu hydrazynu kwasu izonikotynowego w tabletkach oznaczać także ilościową zawartość wykorzystując wyznaczoną uprzednio krzywą wzorcową.

Tabela II.

| Nr porządkowy | Deklarowana zawartość hydrazynu kwasu izonikotynowego w tabletkach w gramach | Bez zastosowania filtrów                 |   |                   | Przy użyciu filtrów żółtych         |   |                   |
|---------------|--|--|---|-------------------|-------------------------------------|---|-------------------|
|               |  | Zmierzona wartość gęstości optycznej $E$ | Znaleziona zawartość hydrazynu kw izonikot. w tabl. (g) | Błąd względny w % | Zmierzona wartość gęstości opt. $E$ | Znaleziona zawart. hydrazynu kw izonikot. w tabl. (g) | Błąd względny w % |
| 1.            | 0,050  | 0,97                                     | 0,051   | + 2,0             | 0,76                                | 0,051   | + 2,0             |
| 2.            | 0,050  | 0,95                                     | 0,050   | —                 | 0,75                                | 0,050   | —                 |
| 3.            | 0,050  | 0,94                                     | 0,0495  | — 1,0             | 0,74                                | 0,0495  | — 1,0             |
| 4.            | 0,050  | 0,97                                     | 0,051   | + 2,0             | 0,76                                | 0,051   | + 2,0             |
| 5.            | 0,050  | 0,97                                     | 0,051   | + 2,0             | 0,76                                | 0,051   | + 2,0             |

Uzyskane wyniki zawiera tabl. II. Z danych tabl. II widzimy, że opisaną metodą można oznaczać hydrazyn kwasu izonikotynowego ze względną dokładnością około +1,5%.

## PISMIENICTWO

1. Różycka M. i Gorczyńska K. — „Farmacja Polska“ 1, 16—19 (1953).
2. Supniewski J. i Bany T. — „Farmacja Polska“ 8, 288—290 (1952).
3. Giua — „Chem. Ztrbl.“ I, 759 (1923).
4. Lohman H. — „Journ. f. prakt. Chemie“ (2) 153, 57 (1939).
5. Waksmundzki A. i Romanowski H. — „Acta Pol. Pharm.“ XI, 3 (1954).

## РЕЗЮМЕ

Хидразид изоникотиновой кислоты в спиртоводных растворах дает с эпихлоргидрином красное окрашивание. Чувствительность этой реакции выносит 1—2  $\mu\text{g/ml}$ . Эта проба есть пригодна полностью для обнаружения хидразида изоникотиновой кислоты.

Потом измерено экстинкцию E цветных растворов в соотношении от их концентрации. Рисунок I представляет это соотношение. Проводя цветную реакцию между раствором содержащим хидразид изоникотиновой кислоты в испытываемых пробах а эпихлоргидрином и измеряя экстинкцию E можно определить содержание хидразида изоникотиновой кислоты с точностью ок. 1—2%.

Применено цветную реакцию хидразида изоникотиновой кислоты с эпихлоргидрином для его обнаружения и использовано ранее сделаную стандартную кривую тоже для его количественного определения в таблетках. Хидразид изоникотиновой кислоты определено в таблетках с относительною точностью ок. + 1,5%.

## SUMMARY

Isonicotinic acid hydrazide (isonicotinyl hydrazine) when present in alcoholic-aqueous solutions gives with epichlorhydrine, after a time, a red coloration. The sensibility of this reaction is from 1 to 2  $\mu\text{g/ml}$ . Therefore the reaction can be used for the detection of this compound.

Furthermore were made measurements of the optical density of coloured solutions varying with regard to concentration. The dependence between extinction values and concentration degrees in solutions is shown in Fig. 1.

The colour reaction between a solution containing isonicotinic acid hydrazide and epichlorhydrine, and the extinction values obtained by measurements allow to determine the content of isonicotinic acidhydrazide in the tested samples with an accuracy to ca 1—2%.

The same colour reaction was used for detecting the compound and for determining its content in tablets. In the tablets the content of isonicotinic acid hydrazide was determined with a relative accuracy ca + 1,5%.