

## 9. Cesco TOFFOLI ed Olga MARELLI. — Determinazione colorimetrica dell'adonidina.

Le notizie che si posseggono sulla natura chimica dell'adonidina sono imprecise e contraddittorie: noi eviteremo di riassumerle. Ciò che commercialmente va sotto questo nome è una polvere gialla, poco solubile in acqua, di composizione chimica e attività farmacologica variabile, costituita verosimilmente da una miscela di più sostanze. Non è neppure sicuro che i componenti farmacologicamente più importanti siano tutti veri glucosidi <sup>(1)</sup>.

Quando si voglia fare il controllo di un preparato di adonidina non mescolato ad altri medicinali, non v'è dubbio che la prova biologica deve avere la precedenza sul controllo chimico. Ma quando l'adonidina fa parte di una preparazione farmaceutica più o meno complessa, la prova biologica spesso non può venire eseguita o non riesce attendibile per la difficoltà di separare in modo quantitativo l'adonidina stessa (che, ripetiamo, è una miscela di sostanze differenti anche per i caratteri fisici) senza alterarla.

E' per questo che abbiamo creduto opportuno di studiare un metodo colorimetrico di determinazione quantitativa che è riuscito di applicazione facile ed abbastanza generale. Il compito è facilitato (ed i risultati acquistano un certo valore pratico nonostante quanto si è detto sopra) dalla circostanza favorevole che le adonidine attualmente in commercio non sono molto dissimili l'una dall'altra, almeno per i caratteri chimici e fisici più immediatamente rilevabili. Abbiamo potuto constatare, ad esempio, che due campioni di adonidina (A e B) di differente provenienza presentavano essenzialmente lo stesso comportamento rispetto a tutti i saggi che descriveremo più sotto, solo che i valori ottenuti per il secondo erano tali come se questo campione avesse il titolo del 93 % rispetto al primo.

Naturalmente i risultati sono più sicuri quando si possa istituire il confronto con un campione della stessa adonidina contenuta nella preparazione in esame.

(<sup>1</sup>) F. W. HEYL, M. C. HART e J. M. SCHMIDT, J. Am. Chem. Soc., 40, 436 (1918)

Una soluzione acquosa di adonidina al 0,1 % presenta un colore giallo chiaro e la curva tipica di assorbimento nel visibile è quella riportata dalla figura 1a; mentre invece la stessa soluzione al 0,1 %, diluita con uguale volume di idrato sodico N (e diventata, quindi, al 0,05 %) mostra la curva tipica di assorbimento della fig. 1b. Le soluzioni acide sono quasi incolore. La colorazione gialla intensa che si sviluppa in ambiente alcalino è differente, come vedremo più avanti, per differenti alcalinità e cambia lentamente col tempo dal momento in cui la soluzione acquosa della adonidina è stata alcalinizzata: ciò si rileva dalla fig. 2 dove ogni linea sta a rappresentare come variano col tempo i valori di  $K = E \frac{0,05 \%}{1 \text{ cm.}}$  per soluzioni di adonidina al 0,05 %, in idrato sodico 0,025 N per ciascuno dei primi quattro filtri del fotometro di Pulfrich.

Cosicchè mentre la curva tipica di assorbimento da principio ha la forma indicata dalla linea *a* della fig. 3 dopo 95 minuti assume la forma indicata dalla linea *b* e dopo un giorno la forma della linea *c*.

Le nostre letture per le restanti determinazioni riportate in questa Nota sono state fatte tutte subito dopo avere alcalinizzato le soluzioni contenenti adonidina.

Per conoscere in modo quantitativo come varia l'intensità del colore col variare dell'alcalinità del liquido, abbiamo preparato soluzioni di adonidina in liquidi a pH noto.

Con idrato sodico a differente concentrazione abbiamo ottenuto soluzioni di pH compreso tra 12,25 e 14,0; con carbonato sodico, soluzioni di pH compreso tra 11,25 e 12,0 e con miscele di carbonato sodico e bicarbonato sodico, soluzioni di pH compreso tra 9,0 e 11,5 (fig. 4, 5 e 6). Il motivo per il quale abbiamo preferito queste soluzioni ad altre fornite dai manuali che trattano di concentrazione idrogenionica sarà chiarito più avanti.

Soluzioni con pH compreso tra 9,5 e 12,5 sono state preparate anche con miscele di borato e idrato sodico: ci sono servite allo scopo le tabelle di Walbum riportate da Jörgensen <sup>(2)</sup>.

Da una soluzione madre di adonidina al 0,25 % mescolata con quantità opportune di soluzioni acquose dei sali sopranominati, abbiamo otte-

<sup>(2)</sup> H. JÖRGENSEN, Die Best. der Wasserstoffionenkonz. Ed. T. Steinkopff, Dresden und Leipzig, 1935.

nuto soluzioni aventi una concentrazione finale fissa, in adonidina, del 0,05 % ed un pH, noto, variabile da 9,0 a 14,0.

Queste soluzioni sono state esaminate al fotometro di Pulfrich col filtro S43, in vaschetta da cm 0,25. I risultati, che ci sono apparsi assai interessanti, sono stati riuniti nella fig. 7 *a* e *b*.

Le soluzioni di adonidina presentano un colore variabile dal giallo all'arancione che raggiunge un massimo verso pH 12,5, decresce in modo rapido verso alcalinità maggiori e minori senza raggiungere, per altro, un minimo. Quando invece le soluzioni contengono borati, la curva che rappresenta l'andamento del fenomeno è sensibilmente differente: da pH 12,5 scende rapidamente fin verso pH 10,5, per poi risalire di nuovo per alcalinità ancora più basse.

Non v'è dubbio che l'acido borico, analogamente a quanto avviene con gli-

cerina, mannite, zuccheri ed in genere con i polialcoli, formi combinazioni con le sostanze coloranti che costituiscono l'adonidina e che queste combinazioni posseggano, a parità di pH, colori notevolmente differenti da quelli che si formano in assenza di acido borico. E' una conferma questa che l'adonidina contiene sostanze di natura glucosidica o più generalmente polialcolica, non solo ma che non è una miscela di sostanze coloranti di natura non polialcolica con altre non colorate di natura polialcolica, ma che contiene almeno un componente nello stesso tempo colorato e di natura polialcolica.

Le stesse soluzioni osservate alla distanza di un giorno hanno dato risultati notevolmente differenti (fig. 7 *c* e *d*) dai quali si desume che i componenti (od il componente) polialcolico-colorati vengono alterati dalle soluzioni anche debolmente alcaline, e che tale alterazione sembra rispar-

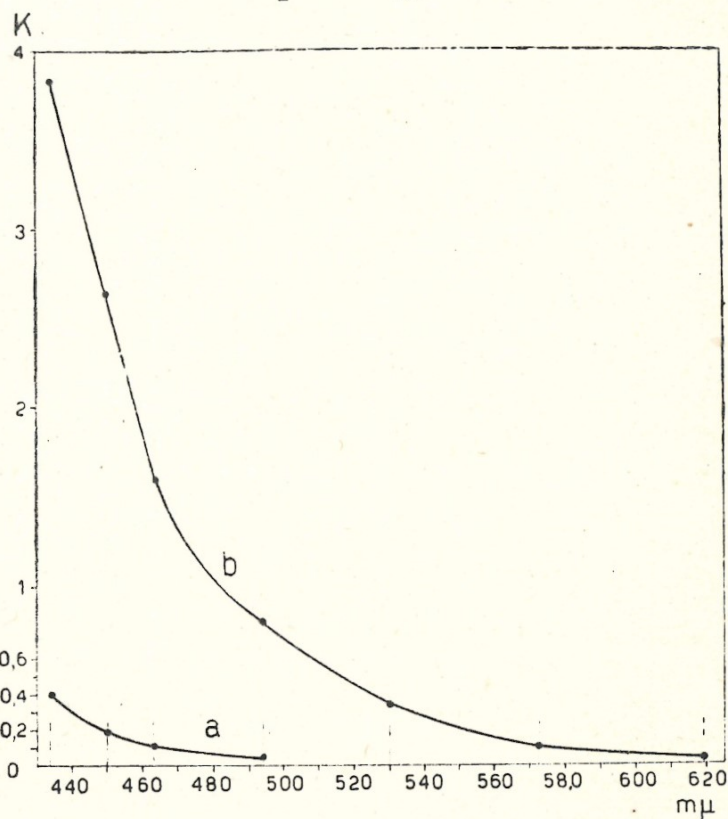


FIG. 1.

miata nelle soluzioni contenenti acido borico fino a che l'alcalinità non supera il pH 11: l'acido borico, fino ad un certo limite, funzionerebbe da stabilizzante dell'adonidina nelle soluzioni acquose alcaline.

Con questi elementi riesce facile ora concretare una determinazione colorimetrica dell'adonidina. Si possono seguire due vie: 1) determinare per una certa lunghezza d'onda il coefficiente di estinzione della soluzione in esame, alcalinizzata, il di cui pH sia noto con sufficiente approssimazione; oppure 2) valendosi della notevole differenza di estinzione nella zona delle piccole lunghezze d'onda dello spettro visibile, su due porzioni

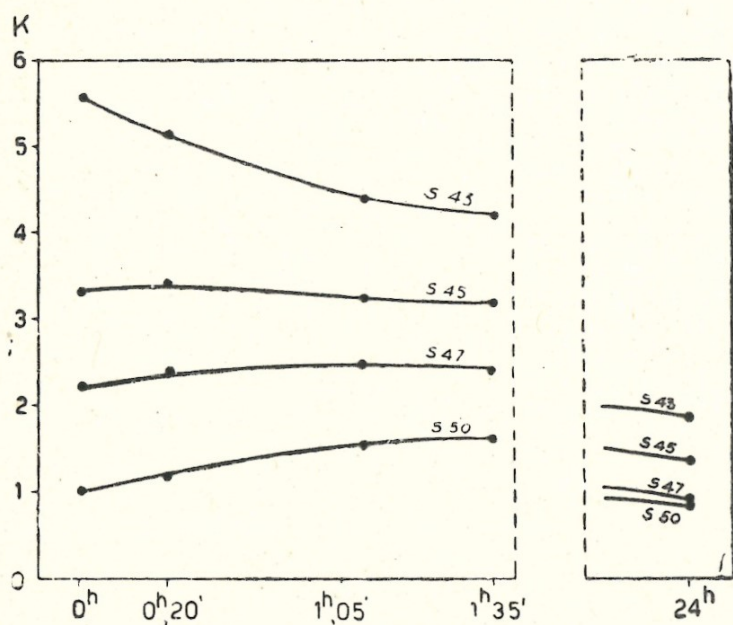


FIG. 2.

della stessa soluzione di adonidina da esaminare portate allo stesso pH di circa 11,00, una, però, con soluzione di borati e l'altra con soluzione senza borati, determinare la differenza fra i due coefficienti di estinzione: questo secondo risultato si deve ritenere molto specifico. Nel caso poi che i risultati ottenuti con due metodi coincidessero, si deve ritenere

che la sostanza determinata è effettivamente e solamente l'adonidina, che il saggio, cioè, ha un'alta probabilità di essere specifico per la sostanza che si voleva dosare.

La prova quantitativa possiede così anche il valore di saggio per la ricerca qualitativa dell'adonidina.

*1° metodo.* — Poichè la maggiore intensità di colorazione per tutti i primi quattro filtri del fotometro di Pulfrich si osserva verso pH 12,5, questa sarebbe l'alcalinità da scegliere per un metodo colorimetrico di determinazione dell'adonidina. Ma tale alcalinità non si può raggiungere agevolmente con sicurezza perchè le miscele tamponanti descritte dai più noti autori arrivano al pH 12 e le soluzioni di idrato sodico — circa 0,03 N — che realizzano quel pH, potrebbero subire variazioni sensibili a contatto con eventuali componenti acidi della preparazione da esaminare; si è creduto opportuno perciò di scegliere un'alcali-

nità facilmente e sicuramente raggiungibile con sostanze comuni e di sufficiente potere tamponante.

Rispondono bene a questo scopo le soluzioni di carbonato sodico. Se si considerano, difatti, soluzioni di carbonato sodico di concentrazione comprese tra 0,5 M e 0,125 M, il loro pH resta compreso fra i valori 11,95 e 11,67, assai prossimi, ed i coefficienti di estinzione dell'adonidina sciolta in queste non distano l'uno dall'altro di oltre il 6 % del loro valore. Ora è molto difficile che aggiungendo una soluzione diluita e già neutralizzata,

ottenuta da una preparazione farmaceutica o da una estrazione di vegetale, ad un volume uguale di soluzione ad esempio 0,5 M di carbonato si ottenga una soluzione di pH differente da quello corrispondente ad una soluzione di carbonato sodico 0,25 M: si noti che una soluzione 0,5 M contiene 53 g di carbonato sodico anidro per litro. Da ciò si vede che è sempre facile poter realizzare una

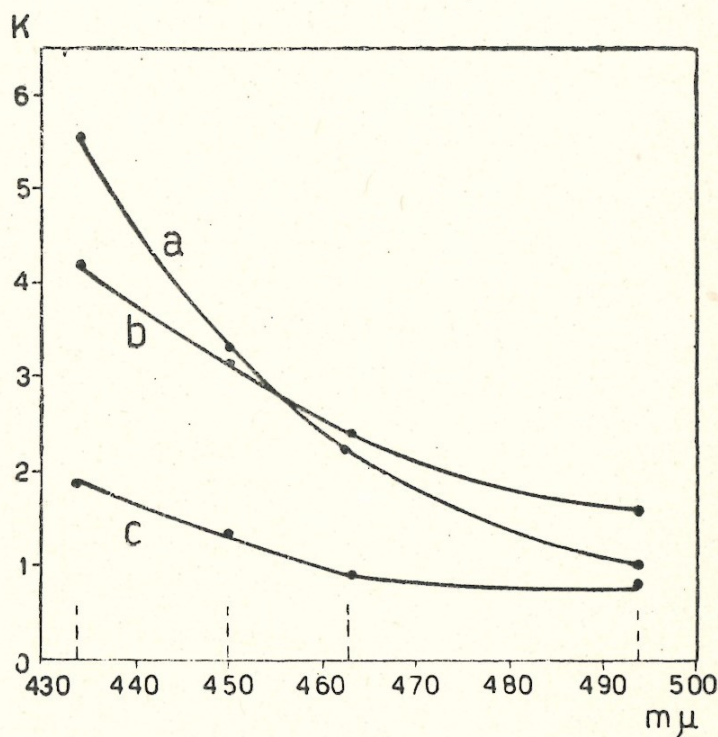


FIG. 3.

soluzione di adonidina in carbonato sodico ad esempio 0,25 M a pH cioè assai prossimo al valore 11,84, costante ad ogni modo per tutte le prove.

*Descrizione del 1° metodo.* — Una quantità del campione da esaminare che contenga da 3 a 10 mg di adonina viene sciolto o stemperato con acqua in modo che l'adonina passi sicuramente in soluzione (soluzioni di adonidina in acqua si ottengono agevolmente almeno fino alla concentrazione di 0,25 %), si porta al volume di 25 cm<sup>3</sup>, si agita ancora e si filtra per carta; si mescolano 5 cm<sup>3</sup> di questa soluzione con 5 cm<sup>3</sup> di soluzione 0,5 M (cioè N) di carbonato sodico, si fa la lettura al fotometro di Pulfrich con vaschetta da 1 cm e per mezzo del diagramma 8a, si risale alla concentrazione dell'adonidina nella soluzione portata al fotometro (si veda l'esempio nella parte sperimentale).

2° metodo. — Si preparano 2 soluzioni tampone di pH noto e per quanto è possibile uguale, compreso tra 10,8 e 11,1, una sola delle quali contenga borati. Dovendo venire adoperate mescolate a volumi uguali con la soluzione acquosa di adonidina, verranno preparate tenendo conto della diluizione che dovranno subire.

*Soluzione A:* Una soluzione di carbonato sodico e di bicarbonato sodico che realizza il

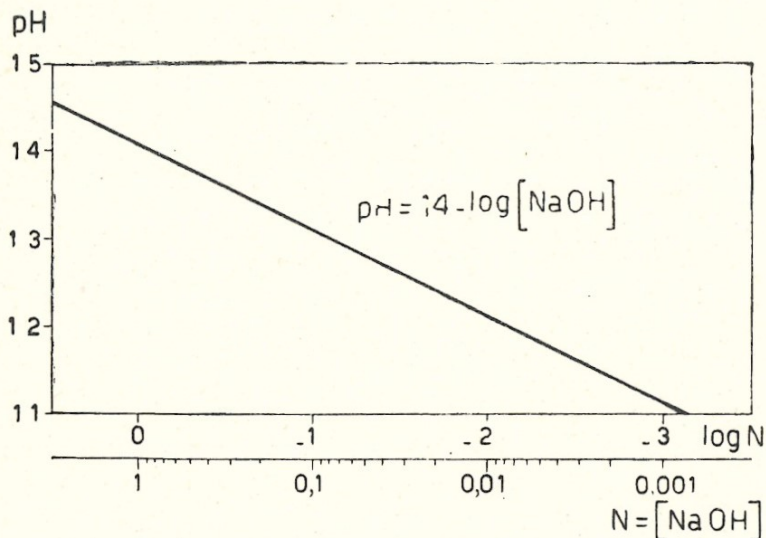


FIG. 4.

nato sodico che realizza il pH 11,0 (e che conserva un pH presso a poco uguale anche quando venga diluito al doppio volume) è quella molare rispetto al carbonato e 0,2 M rispetto al bicarbonato. Essa si otterrà dunque sciogliendo in acqua g 106 (oppure g 53) di carbonato e g 16 (oppure g 8) di bicarbonato riportando

la soluzione al volume di 1 litro. Difatti utilizzando la formula III di pag. 144 si ottiene:

$$\begin{aligned} pH &= 10,3 + \log 1 - \log 0,20 = 11,0 \text{ e} \\ pH &= 10,3 + \log 0,5 - \log 0,10 = 11,0. \end{aligned}$$

*Soluzione B:* L'altra soluzione, quella contenente borato, si otterrà, secondo le tabelle di Sørensen e di Walbum per 22°, mescolando volumi uguali delle due seguenti soluzioni: tetraborato bisodico 0,1 M ed idrato sodico 0,1 N. Poichè però la soluzione tamponante dovrà venire diluita ulteriormente con pari volume della soluzione di adonidina da esaminare, si preparerà una soluzione di borato di concentrazione doppia (con g 12,404 di acido borico e cm<sup>3</sup> 100 di idrato sodico N/1 portati al volume di cm<sup>3</sup> 500 anzichè di 1000) ed una soluzione di idrato sodico 0,2 N anzichè 0,1 N.

Per assicurarsi che le due soluzioni A e B realizzino effettivamente lo stesso pH, a due porzioni delle medesime, mescolate con pari volume di acqua, si aggiungeranno le stesse quantità ( $\frac{1}{20}$  del volume complessivo) di soluzione acquosa a 0,01 % di giallo di alizarina R. Se si notasse nel colore giallo-rosa dei due saggi una leggera differenza la si potrà cor-

reggere con una piccola aggiunta di alcali e di acido diluiti, fino ad ottenere lo stesso pH; tale aggiunta verrà fatta, in proporzione al volume, anche alla soluzione madre.

*Descrizione del 2° metodo.* — Si procede nel modo già detto per il primo metodo solo che in una delle due vaschette si mette una aliquota della soluzione in esame mescolata con pari volume della soluzione A (di carbonato e bicarbonato) e nell'altra vaschetta un'altra aliquota della stessa soluzione in esame mescolata con pari volume della soluzione B (tetra-borato 0,2M ed NaOH 0,2N a parti uguali).

Si legge al fotometro di Pulfrich la trasparenza  $D$  della soluzione più colorata (la prima) rispetto a quella meno colorata (la seconda) e per mezzo del diagramma 8b si risale alla concentrazione dell'adonidina (vedi esempio nella parte sperimentale).

I risultati ottenuti col carbonato sono sufficientemente precisi e concordanti; quelli

ottenuti con le soluzioni di carbonato-bicarbonato e di borato risentono la presenza degli altri componenti della preparazione, specialmente zuccheri e polialcoli, e possono dare allora scarti notevoli sul teorico anche superiori al 20 %. Quando perciò i risultati delle due prove non dovessero coincidere, si terrà conto del primo, mentre al secondo si attribuirà il valore di sola ricerca qualitativa.

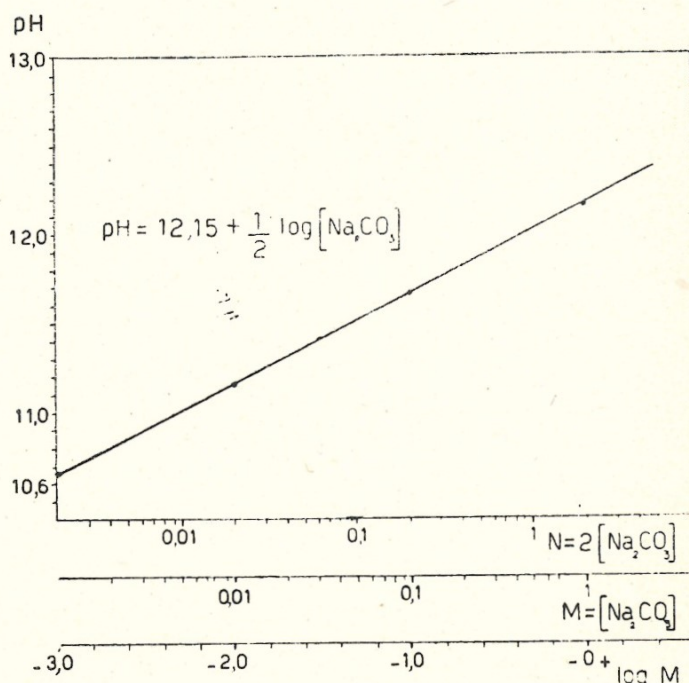


FIG. 5.

## PARTE SPERIMENTALE

1. - Una soluzione acquosa al 0,1 % di adonidina venne esaminata al fotometro di Pulfrich in vaschetta di 2 cm con i soli primi quattro filtri S43, 45, 47, 50. I valori ottenuti vennero riportati nella fig. 1a che dà la curva tipica di assorbimento approssimativa dell'adonidina in soluzione acquosa neutra. Le ordinate vengono date in coefficiente di estinzione  $K = E_{1 \text{ cm.}}^{0.1\%}$ .

2. - A 5 cm<sup>3</sup> di soluzione di adonidina al 0,1 % vennero aggiunti 5 cm<sup>3</sup> di soluzione N di idrato sodico e la miscela così ottenuta venne esaminata allo stesso fotometro con tutti i filtri in vaschetta da cm 0,25. I risultati sono forniti dalla fig. 1b (che rappresenta una curva di assorbimento) ed espressi in coefficienti di estinzione  $K = E_{1 \text{ cm}}^{0,05 \%}$  per la soluzione al 0,05 % in soda 0,5 N.

3. - A 5 cm<sup>3</sup> di adonidina al 0,1 % vennero aggiunti 5 cm<sup>3</sup> di idrato sodico 0,05 N e la soluzione ottenuta venne esaminata in vaschetta da 0,25 cm a distanza di tempo. Le fig. 2 e 3 danno rispettivamente le variazioni dei coefficienti di estinzione di detta soluzione (al 0,05 % di adonidina in soda 0,025 N) e le modificazioni della curva di assorbimento in funzione del tempo trascorso dalla mescolanza delle soluzioni (nella fig. 3: a, subito; b, dopo 1<sup>h</sup>35'; c, dopo 24<sup>h</sup>).

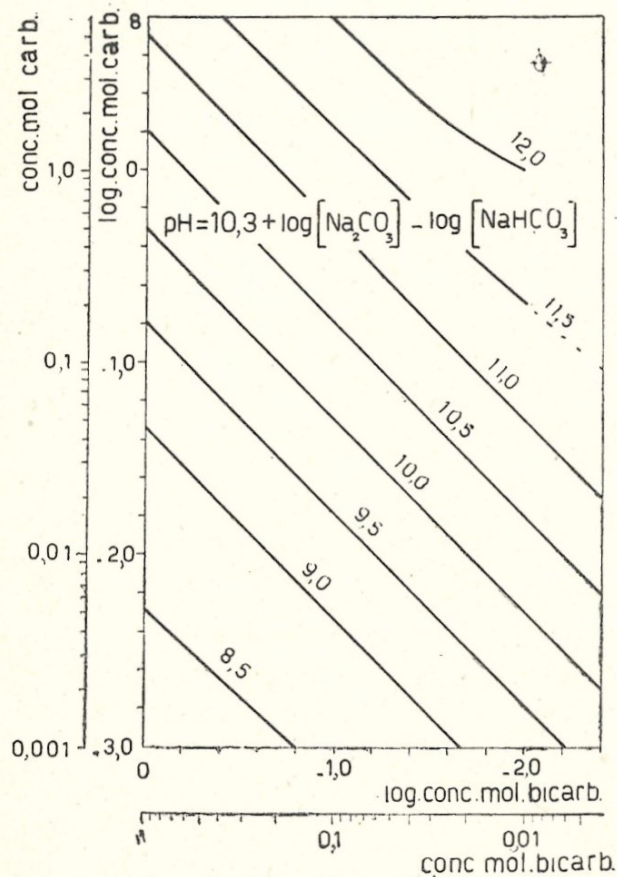


FIG. 6.

ioni Na<sup>+</sup>, OH<sup>-</sup>, CO<sub>3</sub><sup>=</sup>, HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> e che le costanti della prima e della seconda dissociazione dell'acido carbonico e quella dell'acqua siano rispettivamente 10<sup>-6,5</sup>, 10<sup>-10,3</sup> e 10<sup>-14</sup>.

Indicando con [NaOH], [Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>] e [NaHCO<sub>3</sub>] la molarità delle singole sostanze, si avrà: per le soluzioni di idrato sodico non eccessivamente diluite (fig. 4, che contiene leggere correzioni rispetto alla formula):

$$[\text{OH}^-] = [\text{NaOH}]; [\text{H}^+] = \frac{10^{-14}}{[\text{OH}^-]} = \frac{10^{-14}}{[\text{NaOH}]}$$

e quindi

$$\text{pH} = \text{col} [\text{H}^+] = 14 - \log [\text{NaOH}] \quad 1;$$

per le soluzioni di carbonato sodico non eccessivamente diluite (fig. 5), la relazione:

$$[H^+] = \frac{10^{-12,15}}{\sqrt{[Na_2CO_3]}}$$

e quindi

$$pH = 12,15 + 1/2 \log [Na_2CO_3] \quad II;$$

e per le soluzioni di carbonato sodico e di bicarbonato sodico una relazione più complessa (fig. 6) che però, limitata alla zona compresa fra pH 9 e pH 11,5, si può semplificare nelle seguenti:

$$[H^+] = 10^{-10,3} \times \frac{[NaHCO_3]}{[Na_2CO_3]}$$

e quindi

$$pH = 10,3 + \log [Na_2CO_3] - \log [NaHCO_3] \quad III;$$

La seguente tabella dà alcuni esempi, utilizzati nel corso del presente lavoro, di composizione di soluzioni a pH noto: ripetiamo: per temperature prossime ai 20° e con l'approssimazione di 0,1 ÷ 0,2 unità di pH sufficiente ai nostri scopi.

Si noti che la composizione fornita è quella definitiva delle soluzioni tamponanti già diluite con ugual volume di acqua o di soluzione di adonidina. Le soluzioni da mescolare con ugual volume di adonidina devono avere perciò concentrazioni doppie di quelle segnate.

| N. d'ordine | pH    | M O L A R I T À D I |                                 |                    |
|-------------|-------|---------------------|---------------------------------|--------------------|
|             |       | NaOH                | Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> | NaHCO <sub>3</sub> |
| 1           | 14,0  | 0,890               | —                               | —                  |
| 2           | 13,5  | 0,275               | —                               | —                  |
| 3           | 13,0  | 0,087               | —                               | —                  |
| 4           | 12,75 | 0,047               | —                               | —                  |
| 5           | 12,5  | 0,026               | —                               | —                  |
| 6           | 12,25 | 0,014               | —                               | —                  |
| 7           | 12,15 | —                   | 1,00                            | —                  |
| 8           | 12,0  | 0,008               | —                               | —                  |
| 9           | 12,0  | —                   | 0,50                            | —                  |
| 10          | 11,75 | —                   | 0,16                            | —                  |
| 11          | 11,5  | —                   | 0,50                            | 0,027              |
| 12          | 11,5  | —                   | 1,00                            | 0,062              |
| 13          | 11,0  | —                   | 0,50                            | 0,10               |
| 14          | 11,0  | —                   | 1,00                            | 0,20               |
| 15          | 10,5  | —                   | 0,50                            | 0,32               |
| 16          | 10,5  | —                   | 1,00                            | 0,63               |
| 17          | 10,0  | —                   | 0,25                            | 0,50               |
| 18          | 9,0   | —                   | 0,04                            | 1,00               |

5. - Le soluzioni tampone di borato sodico sono state preparate seguendo le indicazioni fornite dagli autori sopra citati (2).

Servono le seguenti soluzioni madri:

a) una soluzione di tetraborato sodico 0,2 M ottenuta sciogliendo g 12,404 di acido borico in 100 cm<sup>3</sup> di idrato sodico N e portando al volume di 500 cm<sup>3</sup> con acqua;

b) una soluzione 0,2 N di idrato sodico.

La composizione delle soluzioni di borato per alcuni pH viene data nella seguente tabella.

6. - Di ognuna delle soluzioni la cui composizione è indicata nella 3<sup>a</sup> colonna della tabella qui riportata, si prelevarono 5 cm<sup>3</sup>, vi si aggiunsero 2 cm<sup>3</sup> di una soluzione di adonidina al 0,25 % e 3 cm<sup>3</sup> di acqua. Ne risultarono soluzioni al 0,05 % di adonidina il cui pH approssimativo è quello indicato nella seconda colonna. Le letture, i cui risultati sono stati riportati nelle colonne successive e riassunti nella fig. 7, sono state fatte con vaschette da cm 0,25 e filtro S43.

| N. d'ordine | pH    | COMPOSIZIONE<br>della soluzione tamponante da aggiungere<br>ad egual volume della soluzione<br>da esaminare                    | Colore  | Trasparenza<br>(filtro S43)<br>D/cm 0,25 | Estinzione<br>E/cm 0,25 | Coefficiente<br>di estinzione<br>K<br>(= E $\frac{0,05\%}{1 \text{ cm}}$ ) |
|-------------|-------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------|------------------------------------------|-------------------------|----------------------------------------------------------------------------|
| 1           | 14,0  | NaOH 2N cm <sup>3</sup> 100 . . . . .                                                                                          | giallo  | 6,55                                     | 1,184                   | 4,74                                                                       |
| 2           | 13,5  | NaOH N cm <sup>3</sup> 63 + H <sub>2</sub> O cm <sup>3</sup> 37 . .                                                            | arancio | 5,95                                     | 1,225                   | 4,90                                                                       |
| 3           | 13,0  | NaOH N cm <sup>3</sup> 20 + H <sub>2</sub> O cm <sup>3</sup> 80 . .                                                            | »       | 4,35                                     | 1,362                   | 5,45                                                                       |
| 4           | 12,5  | NaOH 0,1N cm <sup>3</sup> 63 + H <sub>2</sub> O cm <sup>3</sup> 37 .                                                           | »       | 4,05                                     | 1,392                   | 5,57                                                                       |
| 5           | 12,25 | NaOH 0,1N cm <sup>3</sup> 36 + H <sub>2</sub> O cm <sup>3</sup> 64 .                                                           | »       | 4,20                                     | 1,377                   | 5,51                                                                       |
| 6           | 12,00 | Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> M cm <sup>3</sup> 100 . . . . .                                                                | »       | 5,87                                     | 1,235                   | 4,94                                                                       |
| 7           | 11,75 | Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> M cm <sup>3</sup> 34 + H <sub>2</sub> O cm <sup>3</sup> 66 .                                   | »       | 6,95                                     | 1,158                   | 4,63                                                                       |
| 8           | 11,5  | Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> M cm <sup>3</sup> 11 + H <sub>2</sub> O cm <sup>3</sup> 89 .                                   | giallo  | 7,60                                     | 1,119                   | 4,48                                                                       |
| 9           | 11,25 | Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> M cm <sup>3</sup> 3,6 + H <sub>2</sub> O cm <sup>3</sup> 96,7 .                                | »       | 7,97                                     | 1,101                   | 4,40                                                                       |
| 10          | 11,5  | Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> M cm <sup>3</sup> 100 + NaHCO <sub>3</sub> g 0,45                                              | arancio | 8,40                                     | 1,076                   | 4,30                                                                       |
| 11          | 11,0  | Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> M cm <sup>3</sup> 100 + NaHCO <sub>3</sub> g 1,6 .                                             | »       | 9,62                                     | 1,019                   | 4,08                                                                       |
| 12          | 10,5  | Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> M cm <sup>3</sup> 100 + NaHCO <sub>3</sub> g 5,4 .                                             | giallo  | 10,03                                    | 1,000                   | 4,00                                                                       |
| 13          | 10    | Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> g 5,3 + NaHCO <sub>3</sub> M cm <sup>3</sup> 100                                               | »       | 11,12                                    | 0,955                   | 3,82                                                                       |
| 14          | 9,5   | Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> g 1,7 + NaHCO <sub>3</sub> M cm <sup>3</sup> 100                                               | »       | 12,72                                    | 0,896                   | 3,58                                                                       |
| 15          | 9,0   | Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> g 0,51 + NaHCO <sub>3</sub> M cm <sup>3</sup> 100                                              | »       | 13,92                                    | 0,876                   | 3,50                                                                       |
| 16          | 12,5  | Na <sub>2</sub> B <sub>4</sub> O <sub>7</sub> 0,2M (soluzione indicata)<br>cm <sup>3</sup> 40 + NaOH 0,2N cm <sup>3</sup> 60 . | arancio | 7,04                                     | 1,155                   | 4,62                                                                       |
| 17          | 12,0  | Na <sub>2</sub> B <sub>4</sub> O <sub>7</sub> 0,2M<br>cm <sup>3</sup> 43,7 + NaOH 0,2N cm <sup>3</sup> 56,3                    | »       | 8,05                                     | 1,092                   | 4,37                                                                       |
| 18          | 11,5  | Na <sub>2</sub> B <sub>4</sub> O <sub>7</sub> 0,2M<br>cm <sup>3</sup> 47,5 + NaOH 0,2N cm <sup>3</sup> 52,5                    | giallo  | 18,04                                    | 0,745                   | 2,98                                                                       |
| 19          | 11,0  | Na <sub>2</sub> B <sub>4</sub> O <sub>7</sub> 0,2M<br>cm <sup>3</sup> 51,4 + NaOH 0,2N cm <sup>3</sup> 48,6                    | »       | 28,0                                     | 0,552                   | 2,21                                                                       |
| 20          | 10,5  | Na <sub>2</sub> B <sub>4</sub> O <sub>7</sub> 0,2M<br>cm <sup>3</sup> 55,8 + NaOH 0,2N cm <sup>3</sup> 44,2                    | »       | 29,2                                     | 0,535                   | 2,14                                                                       |
| 21          | 10,0  | Na <sub>2</sub> B <sub>4</sub> O <sub>7</sub> 0,2M<br>cm <sup>3</sup> 60,0 + NaOH 0,2N cm <sup>3</sup> 40,0                    | »       | 28,1                                     | 0,551                   | 2,20                                                                       |
| 22          | 9,5   | Na <sub>2</sub> B <sub>4</sub> O <sub>7</sub> 0,2M<br>cm <sup>3</sup> 80,0 + NaOH 0,2N cm <sup>3</sup> 20,0                    | »       | 24,1                                     | 0,618                   | 2,47                                                                       |
| 23          | 9,0   | Na <sub>2</sub> B <sub>4</sub> O <sub>7</sub> 0,2M<br>cm <sup>3</sup> 85,0 + HCl 0,2N cm <sup>3</sup> 15,0 .                   | »       | 20,0                                     | 0,699                   | 2,80                                                                       |

7. - Avvertiamo una volta per tutte che l'approssimazione delle determinazioni non è molto elevata: le quattro cifre significative della 6<sup>a</sup> colonna non intendono rappresentare un'approssimazione di qualche unità per mille, e discordanze di qualche unità per cento, fra risultati ottenuti in condizioni confrontabili ma in tempi differenti, non devono meravigliare. Influiscono sui risultati il tempo più o meno lungo, sia pure sempre inferiore a qualche minuto, che intercorre tra mescolanza delle soluzioni e le letture, il tempo di conservazione della soluzione acquosa di adonidina, la temperatura dell'ambiente che nel laboratorio, d'estate, può essere di 15° più alta che d'inverno ed altri fattori non identificati. Del resto una precisione superiore a qualche unità per cento non avrebbe significato quando fra due campioni di adonidina del commercio, dello stesso aspetto esteriore, si riscontrano differenze cromatiche quantitative di parecchie unità per cento.

Ad esempio due campioni di adonidina, che contrassegniamo colle lettere A e B, confrontati in differenti condizioni di alcalinità in NaOH a pH 12,5, in Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> a pH 12,0, in carbonato e bicarbonato a pH 11,0 ed in borato a pH 11,0 hanno dato valori del coefficiente di estinzione, il primo superiore a quelli del secondo costantemente del 7 %.

8. - Come è detto nella parte introduttiva, le condizioni che abbiamo scelto per l'esecuzione dei due metodi sono: vaschette da 1 cm in ogni caso e soluzione tampone di carbonato 0,25 M per il primo, soluzioni tampone a pH 11,0 di carbonato e bicarbonato e di borato per il secondo.

I diagrammi a e b della fig. 8 riassumono i risultati di alcune fra le numerose letture eseguite con i due metodi.

9. - Fu ricostruita una nota preparazione farmaceutica italiana a consistenza granulare, contenente, oltre ad adonidina, saccarosio, citrato

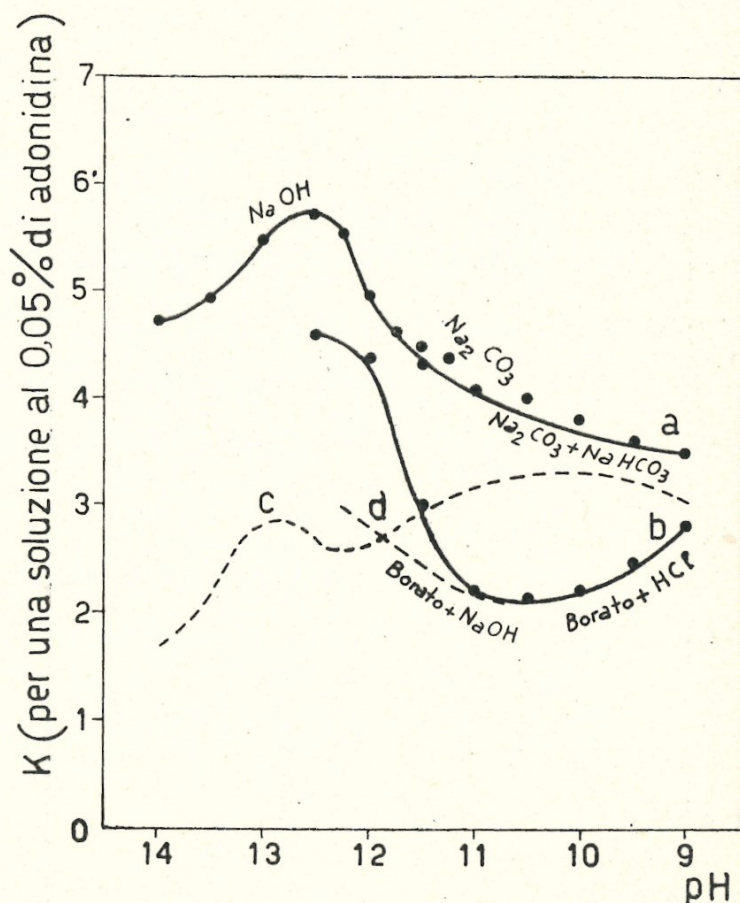


FIG. 7.

sodico, teobromina, barbiturici, nitriti, ecc.; il suo contenuto in adonidina è risultato del 0,225 %.

Grammi 2,5 vennero stemperati e quindi sciolti in acqua e la soluzione portata al volume di  $\text{cm}^3$  25 e filtrata.

Operando col primo metodo, si legge:  $D=9,65$  a cui corrisponde  $E=1,015$ . Dal diagramma 8a si ricava: concentrazione in adonidina nel

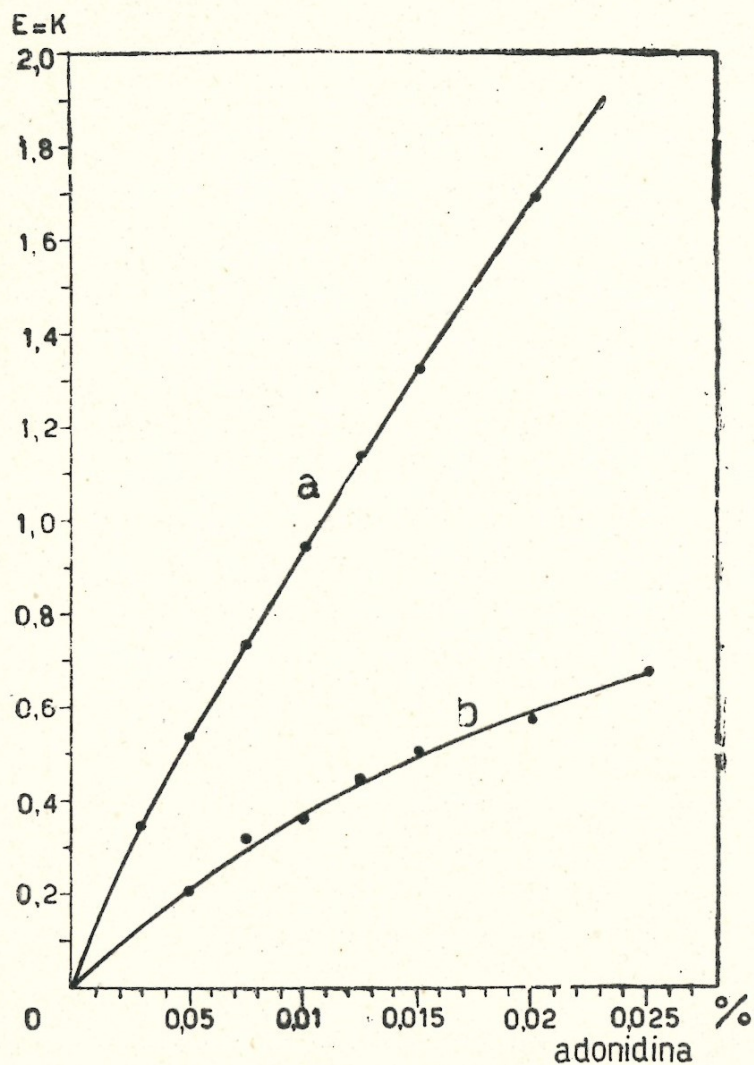


FIG. 8.

liquido portato al fotometro: 0,0110 %, e poichè 'g 2,5 hanno subito in definitiva una diluizione a  $\text{cm}^3$  50, il campione esaminato aveva una concentrazione di

$$0,0110 \times 20 = 0,220 \%$$

La stessa soluzione dell'esempio precedente diede, col 2° metodo:  $D=34$ , a cui corrisponde  $E=0,469$ . Dal diagramma 8b si ricava: concentrazione in adonidina nel liquido portato al fotometro: 0,0140 %; da cui: concentrazione in adonidina nella preparazione: 0,280 %.

Si noti che mescolando la soluzione di borato con ugual volume di soluzione contenente zuccheri ed in genere polialcoli, an-

zichè con acqua o con soluzione di sola adonidina, il pH non è più di 11 ma sensibilmente inferiore: in questo caso con qualche prova fatta a parte con l'aiuto dell'indicatore di giallo alizarina R, si riporti la mescolanza ad un pH uguale a quello della soluzione corrispondente contenente carbonato-bicarbonato.

#### RIASSUNTO

Vengono studiate le variazioni dell'intensità di colore che subiscono le soluzioni di adonidina, in differenti condizioni di esperienza, a di-

versi pH; l'aggiunta di acido borico influisce abbassando più o meno fortemente l'intensità del colore e ciò si attribuisce alla formazione di combinazioni tra l'acido borico e i componenti dell'adonidina a funzione polialcolica. Su queste osservazioni vengono fondati due metodi colorimetrici di determinazione quantitativa dell'adonidina.

#### SUMMARIUM

Exploratum ac pervestigatum est qui et quatenus, in adonidinae solutionibus coloris varia fiat intentio, prout, mutatis pH, experientiae quoque condiciones inmutentur. Nam coloris intentionem tenuat ac deprimit acidum boricum additum, idque fieri creditur, quia hinc acidum boricum, inde adonidinae elementa polyalcolica penitus inter se cohaereant. His autem animadversionibus duae innituntur methodi colorimetricae ad adonidinae numeros determinandos accommodatae.

Roma. — Istituto Superiore di Sanità - Laboratorio di Chimica.

---