46. Giuseppe PRUNER. — **Determinazione ceriometrica dell'idrazide dell'acido isonicotinico e ricerche preliminari sul decorso della reazione.**

Riassunto. — Viene descritto un metodo volumetrico per la determinazione dell'idrazide dell'acido isonicotinico, basato sull'ossidazione con ferricianuro di potassio e determinazione del ferrocianuro con $Ce(SO_4)_2$ N/200. Quantità di I.N.I. comprese fra mg 0,05 e 1,00 vengono determinate con un errore non superiore al $\pm$ 0,5%.

Ricerche preliminari sul decorso della reazione hanno condotto alla separazione della 1,2-diisonicotinilidrazina e di due forme di ferrocianuro della stessa, lo studio della composizione delle quali è in corso.

Résumé. — On décrit une méthode volumétrique pour la détermination de l'hydrazide de l'acide isonicotinique, basée sur l'oxydation avec du ferricianure de potassium et détermination du ferrocianure avec Ce (SO4) 2 N/200. On détermine ainsi des quantités de I.N.I. comprises entre 0,05 et 1,00 mg avec une approximation de $\pm$ 0,5%.

Des recherches préliminaires sur le développement de cette réaction ont conduit à la séparation de la 1,2-diisonicotinil hydrazine et de deux formes de ferrocianure de la 1,2-diisonicotinilhydrazine, dont la composition est actuellement à l'étude.

Summary. — The author describes a volumetric method for determining the hydrazide of isonicotinic acid, based on oxidation with potassium ferricyanide and determination of the ferrocyanide with Ce(SO4)2 N/200. Quantities of I.N.I. comprised between 0.05 mg. and 1.00 mg. are determined with an error no greater than $\pm$ 0.5%.

Preliminary researches on the course of the reaction have led to the separation of 1,2-diisonicotinilhydrazine and of two forms of ferrocyanide of the 1,2-diisonicotinilhydrazine, the study of the compositions of which is being carried on.

Zusammenfassung. — Es wird eine volumetrische Methode zur Bestimmung des Isonikotinsäure-Hydrazids beschrieben, die auf Oxydation durch Kalium ferrizyanur und der Bestimmung des Kalium-ferro-zyanurs mit $Ce(SO_4)2$ N/200 beruht. Die Mengen von I.N.H., die zwischen 0,5 und 1,00 mg liegen, lassen sich mit einer Fehlergrenze nicht über $\pm$ 0,.5% bestimmen.

Vorläufige Untersuchungen über den Verlauf der Reaktionen haben

zur Trennung des 1,2-Diisonikotinil-Hydrazids und zwei Formen von Ferrocyanur des 1,2-Diisonikotinil-Hydrazids geführt. Das Studium der chemischen Zusammensetzung dieser letzteren ist noch im Gange.

Il metodo che viene qui descritto si basa sull'ossidazione dell'I.N.I. con ferricianuro di potassio e determinazione del ferrocianuro che si forma con solfato di cerio N/200.

Si tratta di un metodo semplice, rapido e molto preciso che permette di determinare mg 0,05-1 con un errore di $\pm 0{,}5\%$.

Sono da ricordare due metodi che si basano in parte sullo stesso principio. Col primo, di H. Laubie [1], si determina direttamente l'I.N.I. in ambiente fortemente alcalino con una soluzione di ferricianuro di potassio che funziona anche da indicatore. Questo metodo può essere impiegato con sufficiente precisione solo per quantità di I.N.I. comprese fra 5 e 20 mg; con quantità maggiori il colore del ferricianuro che funge da indicatore, viene mascherato da quello del ferrocianuro che si forma nella reazione.

Col secondo metodo, descritto da Anastasi, Mecarelli e Novacic [2] si determina direttamente l'I.N.I. in ambiente acido con soluzione di solfato di cerio. La reazione di ossidazione richiede però a freddo alcune ore ed a b. m. un'ora. Alla soluzione d'I.N.I. da analizzare si aggiunge un eccesso di soluzione titolata di $Ce(SO_4)_2$ e, dopo trascorso il tempo necessario, si rititola l'eccesso con una soluzione di solfato ferroso.

Nessuno degli inconvenienti accennati si riscontra nel metodo che qui viene ora descritto.

Parte sperimentale

Reagenti e soluzioni occorrenti.

1) Soluzione di solfato di cerio $Ce(SO_4)_2$ N/200.

Si sciolgono g 1,10 circa di sale in un matraccio tarato da 500 cm^3 in 250 cm^3 circa di acqua alla quale sono stati aggiunti cm^3 14 di acido solforico concentrato e dopo completa soluzione si porta a segno.

2) Soluzione di ferrocianuro di potassio $K_4Fe(CN)_6$ N/200.

Serve per la titolazione della soluzione di solfato di cerio e si pre-

---

(1) Bull. Pharm. Bordeaux, *90*, 106 (1952)
(2) Mikrochemie, *40*, 53 (1952).

para volta per volta sciogliendo g 0,3683 esatti di sale anidro in cm^3 200 di acqua distillata.

3) Soluzione di ferricianuro di potassio $K_3Fe(CN)_6$ 3%.

4) Soluzione di carbonato di sodio 10%.

5) Soluzione madre dell'indicatore (ferroina) 0,025 M; si prepara sciogliendo g 0,406 di cloridrato di o-fenantrolina e g 0,174 di solfato ferroso crist. in cm^3 25 di acqua distillata. Di questa soluzione madre si preleva 1 cm^3 e si porta a 20 cm^3 con acqua. Quest'ultima soluzione conservata in flaconcino contagocce, serve per il dosaggio.

Descrizione del metodo

Si misurano 2 cm^3 di soluzione contenenti mg 0,05-1 di I.N.I. che si trasferiscono in un tubetto di vetro bianco di Jena o Pyrex da mm 95 × 6 circa; e si aggiungono 5 cm^3 di soluzione di carbonato di sodio e 1 cm^3 di soluzione di ferricianuro di potassio.

Trascorsi circa 5 minuti primi a temperatura ambiente, si acidifica con 3 cm^3 di acido solforico diluito (10 parti in 15 di acqua), si aggiungono 3 gocce di ferroina e si mescola agitando leggermente il tubo, quindi si titola con soluzione di $Ce(SO_4)_2$ N/200 che si lascia defluire da una microburetta da 5 cm^3 fino a viraggio da giallo arancio a giallo verde, colore del ferricianuro di potassio.

Un secondo tubo serve per la prova in bianco. Esso contiene 2 cm^3 di acqua al posto della soluzione di I.N.I., e viene trattato come il campione in esame.

Il contenuto di I.N.I. in 100 cm^3 della soluzione in esame si desume dalla seguente formula:

$$\text{I. N. I.} = \frac{\text{Ce} \cdot \text{F}}{5{,}104 \cdot 2} \cdot 100$$

I.N.I. rappresenta i mg di tale sostanza presente nella soluzione esaminata, Ce i cm^3 di $Ce(SO_4)_2$ N/200 impiegati (corretti sottraendo quelli usati nella prova in bianco) che si moltiplica per l'eventuale fattore di correzione F. Il coefficiente 5,104 rappresenta i cm^3 di $Ce(SO_4)_2$ N/200 corrispondenti a 1 mg di I.N.I.

Prove di controllo

Servendosi di una microburetta, in una serie di tubetti si sono versati volumi crescenti di una soluzione al 0,050% di I.N.I. contenenti quantità di I.N.I. comprese fra mg 0,05 e mg 1.

Per quantità inferiori ad 1 mg si porta il volume a 2 cm^3 con acqua. Per la prova in bianco serve un tubetto contenente 2 cm^3 di acqua. Si procede quindi nel modo descritto più sopra.

I risultati ottenuti sono raccolti nella seguente tabella 1.

Tabella 1

I.N.I. misurata mg	*I.N.I. trovata mg*	*Differenze %*
1,00	1,0018	+ 0,18
0,80	0,7969	— 0,38
0,60	0,6005	+ 0,08
0,40	0,3988	— 0,30
0,20	0,1999	— 0,50
0,10	0,1008	+ 0,80
0,05	0,0507	+ 1,40

Osservazioni sul decorso della reazione di ossidazione dell'I.N.I. col $K_3Fe(CN)_6$ (*)

Secondo Laubie [1] nell'ossidazione con ferricianuro, una molecola di I.N.I. richiede 4 equivalenti di ossidazione e fornisce una molecola di acido isonicotinico.

Da una serie di esperimenti condotti in condizioni varie di concentrazione e di pH. si è trovato che una molecola richiede 3.5 e non 4,0 equivalenti di ossidazione, ciò che farebbe pensare a qualche reazione secondaria, che impedisce l'ossidazione completa dell'I.N.I. ad acido isonicotinico.

Insistendo nell'esame della reazione si è riusciti a separare come prodotto della reazione una sostanza bianca cristallina che è stata identificata per la 1,2-diisonicotinilidrazina:

p. f. 263°

(*) Ringrazio Mario Boccacci per la preziosa collaborazione nel riconoscimento dei derivati dell'I.N.I.

Essa è stata preparata per la prima volta da R. Graf ([3]) e la sua attività tubercolostatica è stata riconosciuta molto forte da Fox e Gibas nel 1952 ([4]).

Questa sostanza, lasciata nell'ambiente di reazione, si discioglie, dopo circa 6 ore, nel mentre si separano cristalli rosso rubino.

In altre prove si sono separati cristalli giallo arancio, che tali si conservano allo stato secco, mentre sospesi in acqua si trasformano rapidamente nei sopracitati cristalli rosso rubino stabili. Ambedue sono ferrocianuro della 1,2-diisonicotinilidrazina.

E' in corso lo studio della composizione dei due ferrocianuri e l'interpretazione della reazione di ossidazione che decorre costantemente con un consumo di 3,5 equivalenti di ferricianuro.

Roma — Istituto Superiore di Sanità - Laboratorio di biologia.

([3]) Journ. prakt. Chemie, *138*, 289 (1933).
([4]) J. Org. Chem., *17*, 1653 (1952).