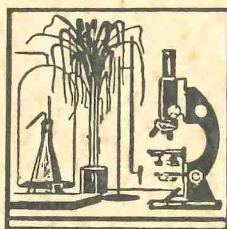


MINISTÉRIO DA AGRICULTURA
CENTRO NACIONAL DE ENSINO E PESQUISAS AGRONÔMICAS

B O L E T I M
DO
INSTITUTO DE QUÍMICA AGRÍCOLA
N.º 51

MICROQUÍMICA DE ALGUNS ALCALÓIDES

MILTON LESSA BASTOS
Bolsista do Conselho Nacional de
Pesquisas



ISRIC LIBRARY

BR 1957.01

JANEIRO
5 7

Scanned from original by ISRIC - World Soil Information, as ICSU World Data Centre for Soils. The purpose is to make a safe depository for endangered documents and to make the accrued information available for consultation, following Fair Use Guidelines. Every effort is taken to respect Copyright of the materials within the archives where the identification of the Copyright holder is clear and, where feasible, to contact the originators. For questions please contact soil.isric@wur.nl indicating the item reference number concerned.

MINISTÉRIO DA AGRICULTURA
CENTRO NACIONAL DE ENSINO E PESQUISAS AGRONÔMICAS

BOLETIM

DO

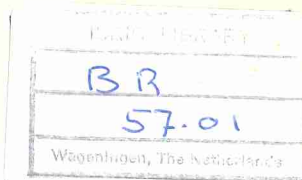
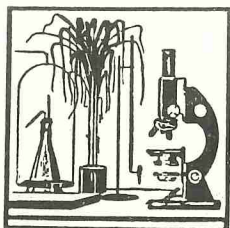
INSTITUTO DE QUÍMICA AGRÍCOLA

N.º 51

MICROQUÍMICA DE ALGUNS ALCALÓIDES

MILTON LESSA BASTOS

Bolsista do Conselho Nacional de
Pesquisas



RIO DE JANEIRO

1 9 5 7

184 - 810

INSTITUTO DE QUÍMICA AGRÍCOLA

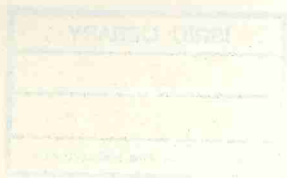
Diretor: FAUSTO AITA GAI

SEÇÕES TÉCNICAS E RESPECTIVOS CHEFES:

<i>Análises Agrícolas</i>	— MARIA DE LOURDES AMOROSO ANASTÁCIO
<i>Físico Química</i>	— TASSO PAES DE FIGUEIREDO
<i>Química Alimentar</i>	— JOSÉ ALMEIDA DA SILVA
<i>Química Vegetal</i>	— OSCAR RIBEIRO
<i>Solos</i>	— LEANDRO VETTORI
<i>Tecnologia Agrícola</i>	— ANTENOR ALVES DE SOUZA MACHADO

Publicações

— EUMENES MARCONDES DE MELLO



PUBLICAÇÕES DO INSTITUTO DE QUÍMICA AGRÍCOLA

MEMÓRIAS

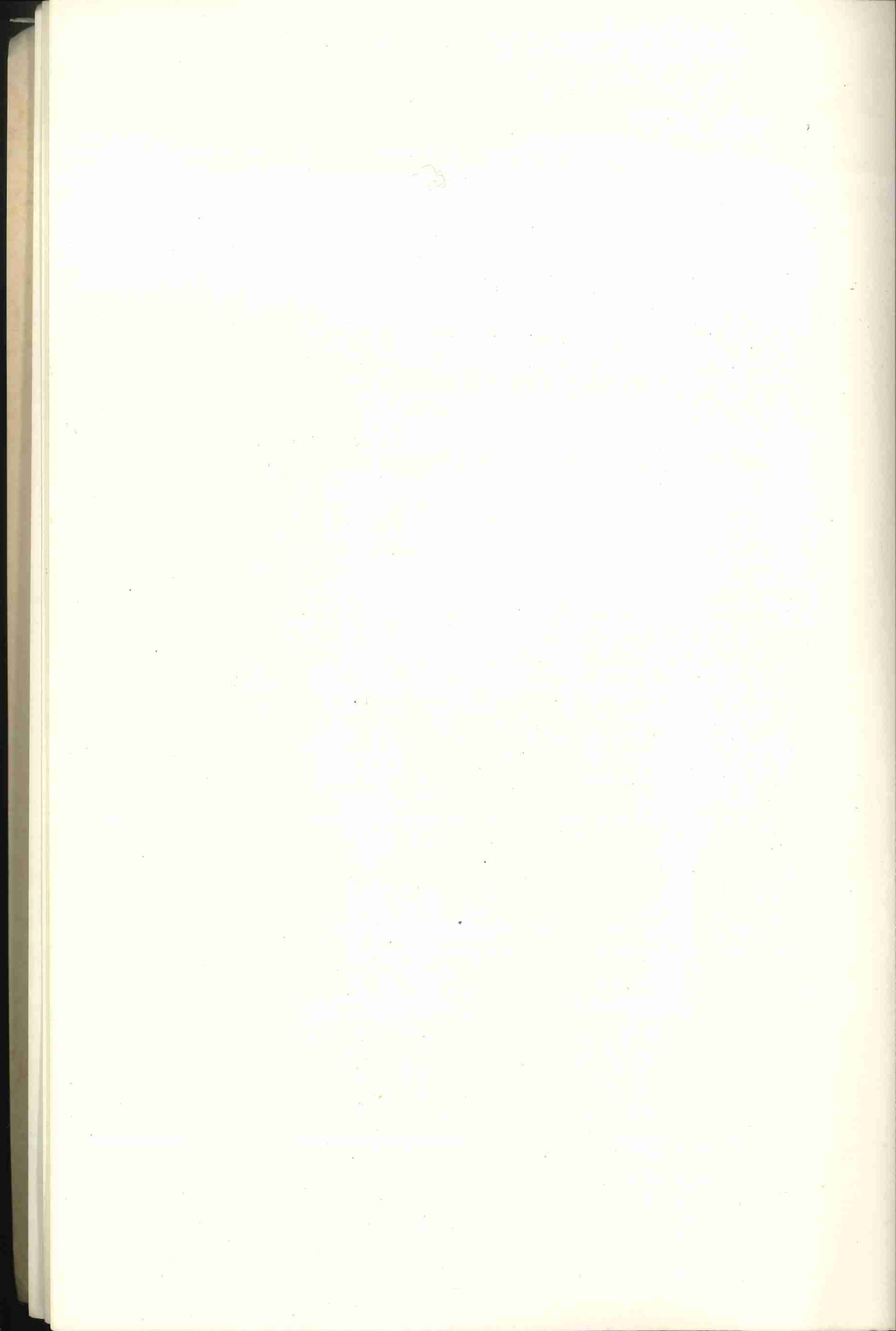
- N. 1 — LUIZ FARIA — Acêrca da fiscalização e defesa comercial da manteiga.
- N. 2 — LUIZ GURGEL e TAYGOARA DE AMORIM — Óleo de pau marfim (*Agonandra brasiliensis*, Miers.).
Dr. MARIO SARAIVA — Matéria gorda do murumurú (*Astrocaryum murumurú*, Mart.).
LUIZ GURGEL e FERNANDO RAMOS — Óleo de andá-açu (*Johannesta princeps*, Vell.).
- N. 3 — LUIZ GURGEL — Primeira Contribuição para o Estudo do Mate.
- N. 4 — LUIZ GURGEL — Segunda Contribuição para o Estudo do Mate.
- N. 5 — Drs. MARIO SARAIVA, ADMAR LOPES DA CRUZ e CARLOS DEL NEGRO — Contribuição para o estudo dos métodos de Mitscherlich, Wiessmann e Neubauer.
- N. 6 — Contribuição para o estudo da região ervateira.

BOLETINS

- N. 1 — CARLOS DEL NEGRO — Instruções para Coleta de Amostras de Solo.
- N. 2 — CARLOS DEL NEGRO — Investigação Mineralógica dos Solos.
- N. 3 — CARLOS DEL NEGRO e LEANDRO VETTORI — Análise Espectrográfica Quantitativa pelo Método da Chama.
- N. 4 — LUIZ GURGEL — Caracteres microscópicos da farinha de "macambira" (*Encholirion spectabile*, Mart.).
- N. 5 — LUIZ GURGEL — Avaliação das percentagens dos componentes de farinhas mistas.
- N. 6 — LUIZ GURGEL — Nova técnica para o estudo das estrias epicuticulares e variedades do mate e seus adulterantes.
- N. 7 — LEANDRO VITTORI — Determinação da necessidade de cal dos solos.
ADALGISO GALLOTTI KEHRIG — Doseamento do cálcio em solos.
- N. 8 — OSCAR RIBEIRO, ANTENOR MACHADO e MARIA EMILIA SETTE — Estudo dos alcalóides do *Hybanthus biggibosus*, Haffler.
OSCAR RIBEIRO e ANTENOR MACHADO — Estudo do componente ativo do *Piper jaborandy*, Velloso.
- N. 9 — OSCAR RIBEIRO e WALTER B. MORS — Estudo químico da mucilagem das estipulas da imbaúba *Cecropia adenopus*, Mart.
- N. 10 — OSCAR RIBEIRO e WALTER B. MORS — Determinação de alcalóides totais e quinina em pequenas amostras de casca de Cinchona.
- N. 11 — Seção de Solos — Método de Análise de Solos.
- N. 12 — ADALGISO GALLOTTI KEHRIG e HILDA ALMEIDA DE AGUIAR — Determinação de SiO_2 , Al_2O_3 e Fe_2O_2 na terra fina e complexo coloidal do solo.
- N. 13 — ADALGISO GALLOTTI KEHRIG e HILDA ALMEIDA DE AGUIAR — As relações Ki e Kr no solo.
- N. 14 — OSCAR RIBEIRO, ANTENOR MACHADO e MARIA EMILIA SETTE — Ocorrência do Ácido Orto-Ftálico no Melão de São Caetano (*Momordica Charantea*, L.).

- N. 15 — OSCAR RIBEIRO e WALTER B. MORS — Ácido Quiodecônico. Contribuição para o estudo de sua estrutura.
- N. 16 — OSCAR RIBEIRO e ANTENOR MACHADO — Ocorrência de um alcalóide no Capim Gengibre.
OSCAR RIBEIRO e ANTENOR MACHADO — O alcalóide da Fruta de Lobo.
- N. 17 — JOSÉ ALMEIDA DA SILVA — Determinação do pH ótimo para o desenvolvimento dos degradadores da celulose em meios de laboratório — Determinação do pH ótimo ao desenvolvimento dos germens nitrificantes dos solos em meios de laboratório.
- N. 18 — LEANDRO VETTORI e TASSO PAES DE FIGUEIREDO — Sobre a determinação da sílica em solos.
- N. 19 — EUMENES MARCONDES DE MELLO — Classificação dos solos.
- N. 20 — MARIO SARAIVA e WALTER B. MORS — Modificação da torre de secagem na análise elementar segundo Dennstedt.
- N. 21 — MARIA DE LOURDES AMOROSO ANASTÁCIO — Importância das pentosanas nas forragens brasileiras.
- N. 22 — OSCAR RIBEIRO e ANTENOR MACHADO — Estudo químico da Aperaia, *Limnanthemum Humboldtianum*, Griseb.
- N. 23 — WALTER B. MORS — Identificação microquímica da Parietina no líquen *Theloschistes exilis*.
- N. 24 — LUIZ RAINHO DA SILVA CARNEIRO — Contribuição ao estudo dos solos da bacia média inferior do São Francisco.
- N. 25 — TASSO PAES DE FIGUEIREDO e CRESCENTINO M. DE CARVALHO — Processo Condutométrico para doseamento da soma de bases permutáveis (S) em solos.
- N. 26 — ADALGISO GALLOTTI KEHRIG e MARIA ELISA SETTE — Determinação de Al_2O_3 na Terra Fina.
- N. 27 — OSCAR RIBEIRO e ANTENOR MACHADO — Estudo Químico da Curindiba *Trema micrantha*, Blume.
Ocorrência de uma base orgânica na euforbiácea *Sapium Klotzschianum*, Muel., Arg. (Pau de Leite).
Ocorrência do ácido gálico na Trapoeraba, *Commelina agraria*, Kunth.
- N. 28 — HENRIQUE GUILHERME EMMERICH — Preparação das vitaminas K_2 e K_3 tendo em vista seu emprêgo na conservação de frutos.
- N. 29 — WALTER B. MORS — Investigações Químicas sobre líquens brasileiros: Estudo das *Usneae* da Serra dos Órgãos.
- N. 30 — GEORGES BROOKS — Contribuição à pesquisa bioquímica da urease nos feijões do Brasil.
- N. 31 — WLADIMIR GOULENKO — Melhoramento das condições nutritivas do pão e dos biscoitos.
- N. 32 — Métodos de análises de alimentos usados na Seção de Química Alimentar.
- N. 33 — YOHEI HASHIMOTO — Verificação de substâncias sobre papel de filtro, sem uso de reagentes.
- N. 34 — WALTER B. MORS e PEROLA ZALTZMAN — Identificação de poli-hidroxi-antraquinomas por meio da reação com sais de zircônio. — Sobre o alcalóide da *Banisteria caapi* — Spruce e do *Cabi paarenis*, Ducke.
- N. 35 — ANTENOR MACHADO, GUILHERME XAVIER DE MIRANDA JR., e AIRY TRANCOSO — Em torno das possibilidades do aproveitamento da torta de mamona. — ANTENOR MACHADO — Em torno do furfural e seu aproveitamento de resíduos agrícolas.
- N. 36 — YOHEI HASHIMOTO e SEIVA CHERDMAN — Estudo da proteína das sementes da mamona. — Análise dos produtos de hidrólise, por meio da cromatografia sobre papel.
- N. 37 — WALTER B. MORS, PAULO OCHIONI e PEROLA ZALTZMAN — Plantas alcaloidíferas em forragens de cavalos de corrida.
- N. 38 — SEIVA CHERDMAN CASCON — Os amino-ácidos do mate. — ELINE BONA CHLAMTAC — Açúcares do Mate.
- N. 39 — ANITA DOLLY PANEK — Peroxidase no mate.
ELINE BONA CHLAMTAC — Polifenol — Oxidase.
- N. 40 — ANITA DOLLY PANEK — Os produtos de hidrólise da proteína ureásica da Soja e da Canavalia ensiformis. — Cromatografia em papel.

- N. 41 — LEANDRO VETTORI e MARTHA RESTUM — Novo Método para determinação de cloro em substâncias orgânicas.
- N. 42 — OTTO RICHARD GOTTLIEB — Titrimetria Gasométrica.
- N. 43 — OTTO RICHARD GOTTLIEB — Estudo de plantas odoríferas brasileiras.
- N. 44 — ANTENOR A. S. MACHADO — Aproveitamento da casca de arroz na indústria de material plástico.
- N. 45 — MILTON LESSA BASTOS — Aplicações químico-toxicológicas de reagente crônico modificado.
- N. 46 — MILTON LESSA BASTOS — Identificação simultânea da berberina, hidrastina e hidrastinina em plantas.
Contribuição ao estudo e identificação da emetina.
- N. 47 — OTTO RICHARD GOTTLIEB e MAURO TAVEIRA MAGALHÃES — Determinação volumétrica do ion nitrato.
- N. 48 — GLÓRIA BERENICE CHAGAS TOLENTINO DE CARVALHO — Método rápido de determinação das relações k_i e k_r em solos.
- N. 49 — TASSO PAES DE FIGUEIREDO — Dosagem do lítio em amgligonita pelo fotômetro de chama.
- N. 50 — ANTENOR A. S. MACHADO e OSWALDO CLARK LEITE — Goma de Cajueiro.



AGRADECIMENTOS

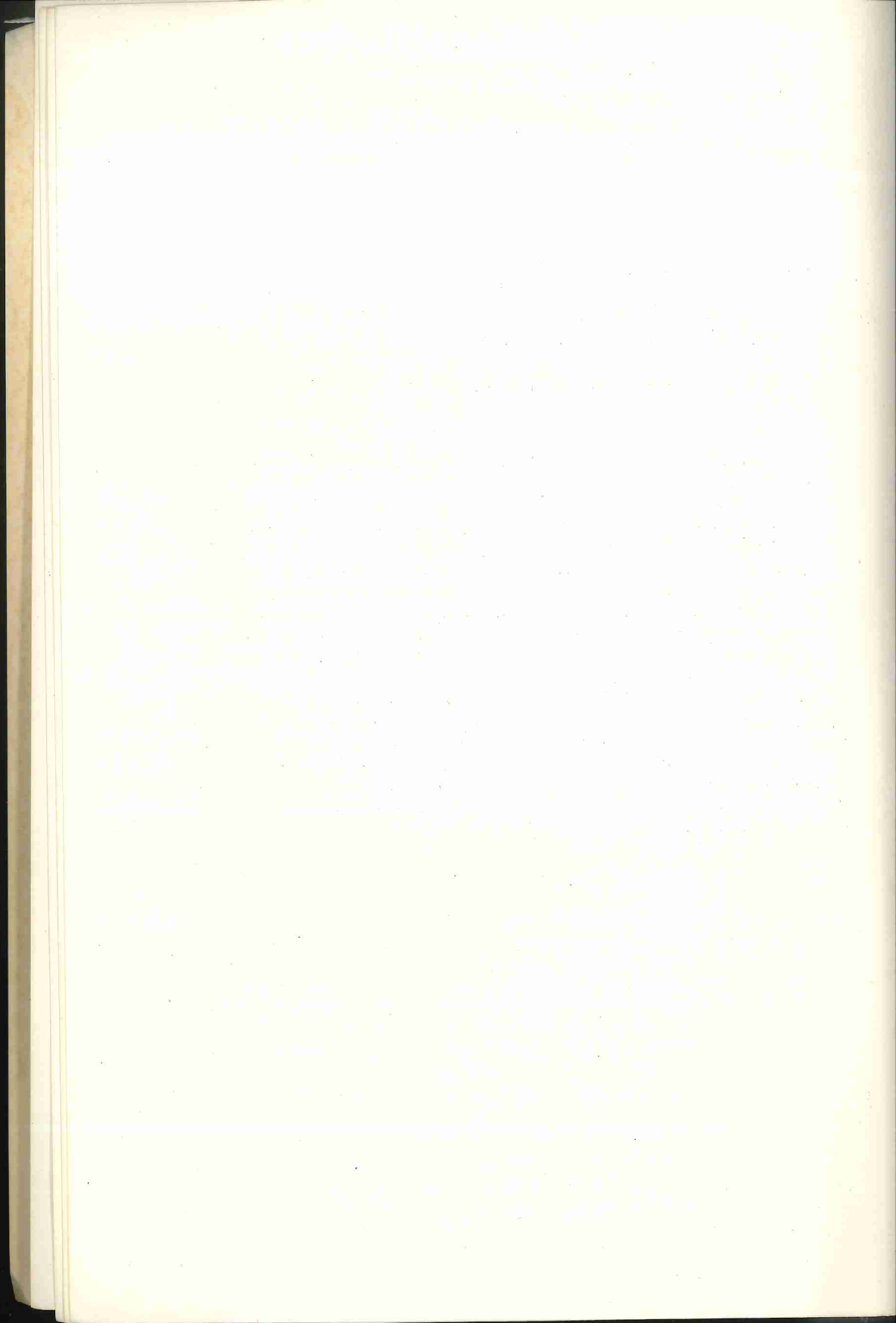
Devemos êste trabalho a um conjunto de circunstâncias e pessoas.

Ao Conselho Nacional de Pesquisas que nos honrou com uma bolsa de estudos, ao Dr. Taygoara Fleury de Amorim e Dr. Fausto Aita Gai, que abriram as portas do Instituto de Química Agrícola e possibilitaram esta publicação, nossos agradecimentos.

Estamos gratos ao Sr. Ismael Machado, do Gabinete Fotográfico do I. Q. A., pelas fotografias que ilustram o trabalho; estendemos esta gratidão aos que ajudaram, direta ou indiretamente, em sua realização: Antenor Machado, José Christiano Hohl, Wilson A. Ferreira, Eumenes Marcondes de Mello, Rubens Leitão, Jair Garrido e João Pereira dos Santos.

Firmamos dívida de gratidão pelo estímulo e orientação de Walter B. Mors, pelas valiosas sugestões e críticas de Joaquim Martins Ferreira Filho, e pela laboriosa revisão feita por Dr. Heitor Vasconcellos, Nuno Lisboa e Otto Rothe.

Muito obrigado.



IDENTIFICAÇÃO DE ALGUNS ALCALÓIDES

INTRODUÇÃO

A seleção dos processos de identificação dos alcalóides vem preocupando, de longa data, os analistas, tal a diversidade de estrutura apresentada por essas substâncias.

A tendência dominante tem sido a procura de um processo geral que permita a identificação de um determinado alcalóide com relativa rapidez, um mínimo de material, e um máximo de segurança. Foram enormes os progressos alcançados nos últimos 50 anos; do emprêgo de "reagentes gerais de precipitação" (atualmente não mais considerados gerais) passou-se ao uso dos reagentes de oxidação. Seguiram-se: a observação das formas cristalinas dos precipitados, o uso do espectro de absorção e a cromatografia.

Todos os processos gerais de identificação têm esbarrado nas dificuldades criadas pelas impurezas comumente presentes, na escassez de material, e na necessidade do conhecimento prévio do comportamento de todos os alcalóides e impurezas em face do processo de identificação.

Consideramos muito difícil a identificação precisa de pequenas quantidades de alcalóides, numa pesquisa indeterminada, utilizando apenas um único processo geral de identificação; para cada processo, tido como geral, existirão sempre alcalóides não determináveis, perfeitamente, e impurezas, ou outros alcalóides, cujo comportamento semelhante pode falsear a interpretação dos resultados.

Os toxicologistas, inclinados para a identificação por processos químicos, não desprezaram a microscopia dos cristais. Outros, mais dedicados à microscopia, não dispensam certas reações químicas. As propriedades óticas (fluorescência e espectro de absorção) vêm sendo cada vez mais utilizadas; a cromatografia veio revolucionar as técnicas clássicas, facilitando a pesquisa; os processos fisiológicos continuam a ser empregados.

A tendência atual é a de empregar-se a cromatografia em papel e o espectro de absorção, como processos gerais capazes

de uma aproximação do conhecimento da identidade do alcalóide, e uma absoluta evidência de sua ausência em quantidades identificáveis.

O progresso da química analítica dos alcalóides não reduziu a segundo plano as técnicas mais antigas, principalmente a microscopia dos cristais e as reações químicas; apenas orientou a utilização desses recursos na obtenção de resultados mais seletivos, e mesmo específicos.

Na pesquisa indeterminada de alcalóides, as reações químicas e a microscopia dos cristais devem ser, ainda, usadas como ensaios mais seletivos, para o grupo de alcalóides já delimitado pela cromatografia, ou espectro de absorção.

Na pesquisa de determinado alcalóide, como ocorre frequentemente na prática de controle de drogas, evidencição de alcalóides em planta, os processos seletivos de identificação acima continuam mais cômodos e eficientes.

A diferente utilização dos processos químicos e de microscopia dos cristais veio modificar o conceito que comanda a seleção dos processos empregados. Atualmente, um bom processo de confirmação é aquele que permite maiores esclarecimentos a respeito de menor número de substâncias, utilizando a menor quantidade possível de material.

Conseqüentemente, torna-se necessária a revisão dos processos de identificação, visando a seleção dos mais sensíveis, mais seletivos, e daqueles cujo mecanismo (teórico e prático) se tenha conhecimento bastante, para poder opinar pela especificidade dentro das condições da determinação.

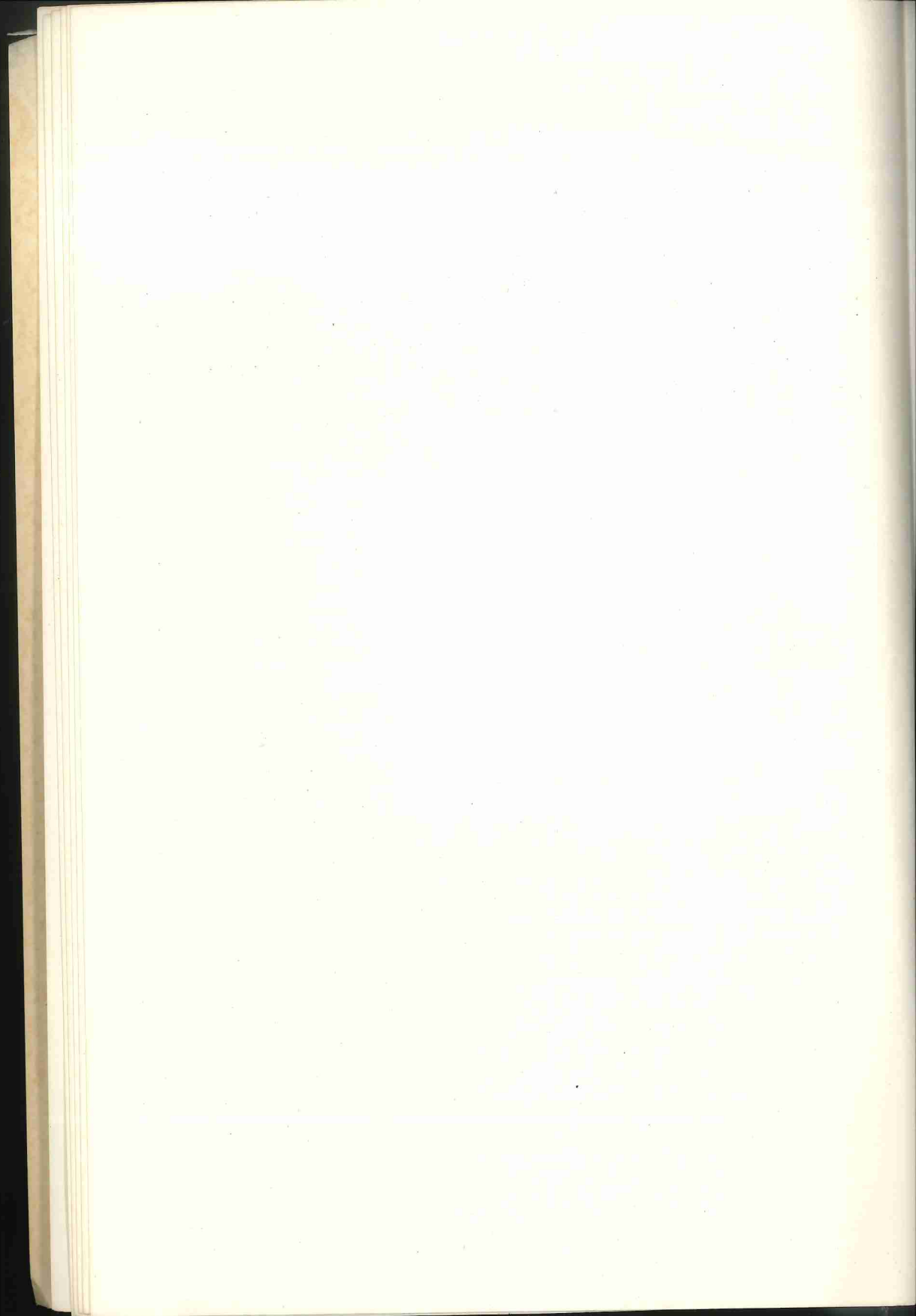
É esta a finalidade que se vê no notável trabalho de CLARKE e WILLIAMS, que selecionaram vários reagentes especialmente recomendáveis na identificação microscópica de cristais, insistindo no uso de reagentes gerais (como R. Froehde, Mandelin e Mecke), aperfeiçoado pelo emprêgo de micro-técnica muito interessante.

Falta no trabalho citado a utilização dos valiosos dados fornecidos pela observação microscópica com luz polarizada e, também, a escolha de reações químicas mais seletivas, para os alcalóides estudados.

Procurou-se neste trabalho selecionar os melhores processos de identificação para cada alcalóide. Entre os processos químicos, experimentados em cada caso, escolhemos os mais seletivos, sensíveis e adequados à química toxicológica e vegetal. A escolha dos melhores reagentes, para a observação microscópica de cristais, visou a obtenção de formas e agregados cristalinos característicos e reprodutíveis em diferentes concentrações, levando em conta as características óticas dos cristais observados.

Procurou-se eliminar, tanto quanto possível, a subjetividade na escolha dos melhores processos de identificação, e manter uma harmonia de eficácia entre eles. Com este intuito, preferiu-se apresentar certos alcalóides com apenas um processo de identificação, desprezando-se outros recursos analíticos, de valor duvidoso, que não contribuiriam, decisiva e convenientemente, para a identificação.

O trabalho fica, assim, menos completo pelo reduzido número de informações em certos casos. Por outro lado aponta as lacunas existentes na química analítica dos alcalóides e sugere o estudo de novas reações que sejam realmente de identificação.



GRUPO DA FENILETILAMINA

EFEDRINA

Identifica-se melhor a efedrina pela microscopia de cristais. As reações químicas são pouco sensíveis, ou baseadas em grupos funcionais pouco característicos.

Processos Químicos

A — Reações de amina secundária

A *efedrina* apresenta um grupo amina secundário que possibilita sua identificação. Apresentam o mesmo grupo outras substâncias: *coniina*, *peletierina*, *adrenalina*, *pilocarpina*, *dl-desoxiefedrina*, *sinefrina*, *neo-sinefrina* e *tetracaína*.

A ninidrina reage com a *efedrina*, em papel de filtro, produzindo, a quente, coloração azul violeta. Esta reação é ainda menos seletiva porque ocorre, também, com substâncias que possuem grupos amina primários. Pode aumentar-se a sensibilidade da reação, fazendo-a em presença de piridina; identificam-se, assim, 3 microgramas de *efedrina* (1).

As aminas secundárias reagem com o dissulfeto de carbono produzindo ditiocarbamatos; êstes evidenciam-se pelo precipitado formado de ion níquel (2), prata (3), ou pela ação catalítica sobre a reação do iodo com a azida de sódio (3). Em meio aquoso amoniacal, formam ditiocarbonatos apenas as aminas secundárias. Êsses podem, ainda, ser identificados pela formação de complexo com o MoO_3 (4); usando-se a mesma técnica de identificação dos álcoois, pela formação de xantatos alcalinos (4). A *desoxiefedrina* e *benzedrina* reagem da mesma maneira (4).

Identifica-se a efedrina por sua função amina secundária (5), em papel de filtro, pela reação de FEIGL-ANGER (3), característica desse grupo.

Técnica (5) — Adicionar, ao papel de filtro contendo efedrina, o reagente recém-preparado. Deixar 3 mi-

nutos em corrente de ar frio e adicionar a solução de carbonato de sódio. Secar em corrente de ar frio. A *efedrina* apresenta uma coloração azul esverdeada.

Sensibilidade — 20 microgramas.

Reagentes — Solução de nitroprussiato de sódio a 1% contendo 10% em volume de aldeído acético (recém-preparada).

Solução de carbonato de sódio a 10%.

B — Outras reações

A *efedrina*, segundo CHEN e KAO (6), reage com traços de sulfato de cobre, em presença de hidróxido de sódio (10%), produzindo substância de coloração púrpura, solúvel em éter colorindo-o de azul. A reação é muito pouco sensível.

FEIGL & FEIGL (7) propuzeram identificar a *efedrina* por reação de decomposição. A *efedrina* aquecida com hidróxido de sódio desprende metilamina, que pode ser identificada pelo produto de condensação com o 1-cloro-2-4-dinitrobenzeno. A reação ocorre, também, com a *adrenalina* e parece ser devida ao grupo $\text{—C(OH)H—C(R)H—NH—CH}_3$ existente na molécula, e não à função amina secundária, exclusivamente.

Microscopia de cristais

Pode-se identificar a *efedrina* pelos cristais que forma com o poliiodeto de bismuto, reagente de KRAUT, (8) (9). Os cristais apresentam-se como agulhas ramificadas, ou cruzadas, de cor castanha. O limite de identificação é de 25 microgramas (12); usando-se técnica micro-analítica especial, estende-se a 0,1 microgramas (8).

Os sais de platina, cloreto, brometo e iodeto, fornecem precipitados bem cristalizados com a *efedrina* e outras aminas simpaticomiméticas. Os cristais obtidos com os sais de platina vêm-se nas figuras 022, 023 e 024. Observamos que com o aumento do peso molecular do complexo precipitado, diminui o tamanho dos cristais (por aumentar a velocidade de precipitação), aumenta a sensibilidade da reação, e fica mais difícil utilizar suas propriedades óticas, para a identificação. O ácido cloroplatínico é reagente mais conhecido (8); o iodo-platínico tem sido utilizado, freqüentemente (10) (11).

O cloroplatinato e bromoplatinato de *efedrina* apresentam fraca birrefringência, e extinção paralela. O iodo-platinato de *efedrina* é opaco. Com amostras comerciais de *efedrina*, que apresentam os isômeros d- e l-, determina-se com difi- cul-

dade o sinal de elongação. Observam-se cristais com sinal ora positivo, ora negativo.

Atualmente, estuda-se a aplicação dos sais de paládio como reagente para efedrina.

Sensibilidade (13)	H ₂ PtCl ₆	H ₂ PtBr ₆	H ₂ PtI ₆
concentração limite	250 p.p.m.	200 p.p.m.	150 p.p.m.
limite de identificação	0,25 mcg	0,2 mcg	0,15 mcg

BIBLIOGRAFIA

- 1 — NAGASAWA, K. e OHKUMA, S. — *Detection of some nerve stimulants (sympathomimetics)*. J. Pharm. Soc. Japan, (1954), 74 (7) — 773-8.
- 2 — SHRINER, RALPH L., FUSON, Reynold. C. — *The systematic identification of organic compounds; A laboratory manual*, 3.^a Ed. New York, John Wiley & Sons, Inc., e London, Chapman & Hall, Ltd., 1948.
- 3 — FEIGL, FRITZ — *Spot tests; Organic Applications*, 4.^a Ed. Trad de Ralph Oesper, Amsterdam, Houston, London, N. Y., Elsevier Publishing Co., 195.
- 4 — BASTOS M. L. — Trabalho não publicado.
- 5 — HASSON, Aida. — *Aplicação à cromatografia em papel de algumas reações características de alcalóides e aminas simpaticomiméticas*, Anais da Academia Brasileira de Ciências, (1955), 27 (3): 286-88.
- 6 — CHEN, K. K. KAO, C. H. — *Ephedrine and pseudoephedrine, their isolation, constitution, isomerism, properties, derivatives and synthesis*, J. Amer. Pharm. Assn. (1926), 15:625-39.
- 7 — FEIGL, F., FEIGL, H. E. — *Helv. Chim. Acta*, (1955), 38:459.
- 8 — CLARKE, E. G. C., WILLIAMS, MARGARET — *Microchemical tests for the identification of alkaloids*. The Journal of pharmacy and pharmacology, (1955), 7 (4) : 255-62.
- 9 — GLYCART, Chris K. et al. — *Report on microchemical test for alkaloids*, Journal of the Association of Official Agricultural Chemist, (1931), 14:316-9.
- 10 — MORGAN, C. E. — *Methods for the collection and analysis of Horse saliva and urine for the detection or drugs*. New York. Assoc. of official Racing Chemist.
- 11 — BELLOW — Comunicação privada.
- 12 — SCHMID, Elisabeth, Jacob — *Estudios sobre el limite de sensibilidad de las reacciones para alcaloides; su aplicacion particular al control de doping*, Santiago. Chile. Tesis de Químicos Farmaceuticos. (1950), 2:158-79.
- 13 — BASTOS, M. L. — *Microscopia e técnica de precipitação dos alcalóides com sais platínicos*. Tese — 1957. Ribeirão Preto — Faculdade de Farmácia e Odontologia.

MESCALINA

A mescalina é identificada, com facilidade, por processos químicos e pela microscopia de cristais.

Processos Químicos

A — Reação de aminas

A *mescalina* possui um grupo amina primário alifático que pode ser evidenciado pela reação de oxidação com a ninidrina; o que se faz, facilmente, em papel de filtro, usando-se a técnica da reação de aminoácidos.

São, relativamente, poucos os alcalóides naturais que reagem com a ninidrina. Dependendo das condições de extração e purificação, a reação se torna bastante seletiva.

Técnica — Colocar o sal do alcalóide sobre o papel de filtro. Secar, borrifar com a solução de ninidrina e secar em estufa a 80° C. Em presença de mescalina observa-se coloração azul.

Reagentes — Dissolver 0,2 g de ninidrina em 100 ml de álcool isopropílico a 90° C, contendo 1% de ácido acético glacial.

B — Reação de oxidação

A *mescalina* apresenta três hidroxilas fenólicas vicinais e metiladas. Esta estrutura polifenólica é responsável por sua transformação em produtos coloridos pela oxidação.

Tratando-se a *mescalina* pelo ácido sulfovanádico (R. Mandelin) observa-se o aparecimento de uma coloração vermelha. O dicromato de potássio em meio sulfúrico provoca o mesmo fenômeno. Preferimos empregar o reativo nitro-perclórico-crômico (1), para efetuar a reação em papel de filtro. Observa-se a mesma coloração vermelha característica. Outros alcalóides podem produzir colorações semelhantes, mas nenhum deles reage com a ninidrina.

Observamos (2), também, que a reação de oxidação com a mistura nitro-perclórica-crômica pode ser realizada com o produto da reação com a ninidrina, pois esta oxida, apenas parcialmente, a *mescalina*, atacando sua função amina. A conjugação das duas reações torna muito precisa a identificação química da mescalina.

Técnica — Imergir o papel de filtro contendo o alcalóide, já revelado pela ninidrina, na solução reagente.

Reagente — Dissolver 0,5 g de cromato de sódio ($4H_2O$) em 10 ml de água, completar o volume a 100 ml com uma solução 1:1 (v/v) de ácidos nítrico e perclórico.

Microscopia de cristais

A *mescalina* pode ser identificada, com grande facilidade, por meio da microscopia de cristais.

Pode-se empregar o cloreto de mercúrio (3) (4), o cloreto de platina (3) (5), o iodeto de platina (6), ou o reagente de KRAUT (3) (4) (5) (7).

O cloreto de platina, (figura 013), forma cristais pouco birrefringentes, de extinção paralela e elongação positiva. *Limite de concentração 500 ppm, limite de identificação 0,5 microgramas* (8).

O reagente de KRAUT (poliiodeto de bismuto, figura 104), precipita a *mescalina* em cristais típicos, de birrefringência fraca, extinção paralela e elongação positiva.

CLARKE (7), recomenda o emprêgo do ácido estífnico.

BIBLIOGRAFIA

- 1 — BASTOS, M. L. — *Aplicações químico-toxicológicas de reagente crômico modificado*. Boletim do Instituto de Química Agrícola, (1956), 45:7-16.
- 2 — BASTOS, M. L., — *Identificação da Mescalina* — Revista Brasileira de Farmácia, (1957), 38 (5), 103-7.
- 3 — BELLOW — Comunicação privada.
- 4 — BAMFORD, Frank — *Poisons; their isolation and identification*, 3.^a Ed., revista por C. P. Stewart, London, J. & A. Churchill Ltd., 1951.
- 5 — DUCLOUX, Enrique Herrero — *Notas Microquímicas sobre Doping*, Buenos Aires, Pousser Ltd., 1943.
- 6 — MORGAN, C. E., — *Methods for the collection and analyses of Horse saliva and Urine for the detection of drugs* N.Y. A.O.R.C.
- 7 — CLARKE, E. G. V. — *Microchemical identification of some less common alkaloids*, Journal of Pharmacy and Pharmacology, (1957), 9:187-92.
- 8 — BASTOS, M. L. — *Microscopia e técnica de precipitação com sais platinicos* — Tese 1957. Ribeirão Preto, Faculdade de Farmácia e Odontologia.



GRUPO PIRIDÍNICO

NICOTINA

A nicotina é melhor identificada por processos químicos.

Processos Químicos

A — Reação de condensação

A *nicotina* não se condensa com os diversos aldeídos empregados, em meio sulfúrico, na química analítica dos alcalóides. Faz exceção o para-dimetilaminobenzaldeído, que reage em meio clorídrico (1), ou em meio sulfúrico diluído (2).

Observa-se coloração rósea com zona periférica azul, quando se faz a reação com o reativo diluído e a quente, em placa de toque, ou em vidro de relógio; obtém-se coloração vermelha, a frio, empregando-se condições especiais de acidez (2).

Vários alcalóides formam, também, produtos coloridos nas condições da reação; a *nicotina*, entretanto, é um dos poucos que, não reagindo com outros aldeídos, produz a coloração descrita acima. A especificidade do teste está, assim, ligada ao fato do alcalóide não reagir com o ácido sulfúrico formolado, por exemplo.

Técnica — Colocar em placa de toque uma porção da amostra sólida, ou evaporar à secura sua solução; adicionar uma gota da solução de dimetilaminobenzaldeído. Observar a coloração rósea que acusa presença de *nicotina*.

Reagente — Dissolver 1 g de para-dimetilaminobenzaldeído em 100 ml de ácido sulfúrico diluído (40 mililitros de ácido em 100 ml de água).

B — Reação de oxidação

A *nicotina* não fornece reações de oxidação características com os reagentes comumente empregados. Luis (3) em-

pregando o bismutato de sódio conseguiu identificar 0,075 microgramas do alcalóide, usando microtécnica especial. O meio deve estar tamponado. A presença de nicotina é indicada por uma coloração azul ou verde azulada.

Microscopia de cristais

A *nicotina* não fornece cristais muito característicos, daí o grande número de reagentes de precipitação recomendados: cloreto de platina (10), cloreto de ouro (11) (10), brometo de ouro (12), iodeto de ouro (11), poliiodeto de bismuto (11), tiocianato de cobalto (12), ácido pícrico (13) (14), cloreto mercúrico (10) (11) (13) (15), e brometo mercúrico (12).

Obtivemos melhores resultados com o cloreto mercúrico. Formam-se cristais laminares, radiantes, (figura 131) mas a forma varia, ligeiramente, com a natureza do ácido presente em excesso (15). Entre nicóis cruzados, os cristais apresentam birrefringência fraca, extinção paralela e elongação negativa. *Sensibilidade: 0,05 microgramas* (13).

Entre o ácido pícrico, cloreto de ouro e brometo de ouro preferimos o último, pela singularidade de suas propriedades óticas. Formam-se cristais muito pequenos, (figura 052) que, entre nicóis cruzados, apresentam birrefringência fraca, extinção oblíqua e sinal de elongação negativo.

BIBLIOGRAFIA

- 1 — TUNMANN, O. — *Zum Nachweis des Nicotins*, Chem. Zentr., (1919), 2:227.
- 2 — BAMFORD, F. — *Poisons; their isolation and identification*, 3.^a Ed., London, J. & A. Churchill Ltd., 1951.
- 3 — LUIS, P. — *A Micro-scale spot tests for nicotine*, The Analyst, (1956), 81:548-51.
- 4 — FEIGL, F. — *Chemistry of specific, selective, and sensitive reactions*, New York, Academic Press Inc. Publ., 1949.
- 5 — PESEZ, M., POIRIER, P. — *Méthodes de l'analyse générale; Reactions colorées et fluorescentes*, Paris, Masson et Cie., 1954.
- 6 — FEIGL, F. — *Spot tests; organic applications*, 4.^a Ed., Amsterdam et all. Elsevier Publishing Co., 1954.
- 7 — JEFFREY, R. N., EOFF, W. H. — *Paper chromatographic method for determining alkaloids in tobacco*, Analytical Chemistry, (1955), 27 (12): 1903.
- 8 — WINTON, A. L., WINTON, K. B. — *Analisis de alimentos*, Buenos Aires, Edit. Hispano Americana S. A., 1947.
- 9 — HUEBNER, C. F. — *Paper chromatography of Pyridine derivatives*, Nature, (1951), 167:119-120.
- 10 — WAGENAAR, M. — *Microchemical reaction of nicotine*, Pharm. Weekblad, (1929), 66:773-6, apud — C. A., 23:5542.

- 11 — BELLOW — Comunicação privada.
- 12 — WHITMORE, W. F., WOOD, C. A. — *Chemical microscopy of some toxicologically important alkaloids*, Microchemie, (1939), 27:249-334.
- 13 — CLARKE, E. G. C., WILLIAMS, Margaret, *Microchemical tests for the identification of alkaloids*, The Journal of pharmacy and Pharmacology, (1955), 7 (4):255-62.
- 14 — NELSON, Burt, LEONARD, Helen, A. — *Identification of alkaloids under microscope from the form of their picrate crystals*, Journal of Americal Chemical Soc., (1922), 44 (2):369-73.
- 15 — GLYCART, Chris K., et all. — *Report on microchemical test for alkaloids*, Journal of the Association of Official Agricultural Chemist, (1933), 16:345-6.

CONIÍNA

A *coniína* é melhor identificada por processos químicos. A microscopia dos cristais pode prestar bons serviços.

Processos Químicos

A — Reação do grupo amina secundário

A *coniína* possui um nitrogênio piperidínico que lhe comunica o caráter de amina secundária. Não reage com a ninidrina, mas forma ditiocarbamatos em meio aquoso, quando tratada com dissulfeto de carbono. O ditiocarbamato pode ser identificado pelo precipitado formado em presença de níquel (1), pelo precipitado escuro obtido em presença de prata (2), ou pela sua ação catalítica na reação entre o iôdo e a azida de sódio (2). A reação proposta por MELZER (3) para a *coniína* é baseada no mesmo princípio; o ditiocarbamato é reconhecido pela coloração amarela produzida com o sulfato de cobre, ou pela coloração castanha, solúvel em éter, obtida com o cloreto férrico.

Foram propostas outras reações baseadas neste grupo. A *coniína* pode ser identificada pela formação de um derivado N-nitrosado, solúvel em clorofórmio (4); êste derivado seria evidenciado pela reação de Liebermann (ácido sulfúrico e fenol) (4) ou pelo pentacianoaminoferreato de sódio (2).

Mais interessante é a identificação do grupo amina secundária pelo nitroprussiato de sódio e aldeído acético, conforme propuzeram FEIGL e ANGER para outras aminas (2),

empregando-se a técnica de HASSÓN para identificação de aminas simpatomiméticas (5).

Técnica (5) — Adicionar ao papel de filtro em exame o reagente recém-preparado. Deixar 3 minutos em corrente de ar frio, e adicionar a solução de carbonato de sódio. Secar em corrente de ar frio. Em presença de coniína observa-se uma coloração azul. As aminas secundárias interferem.

Reagentes — Solução de nitroprussiato de sódio a 1%, contendo 10% em volume de aldeído acético — Recém-preparada.

Solução de carbonato de sódio a 10%.

B — Reações de condensação

O cloranil, dissolvido em dioxana (2), em acetona (6), e em benzeno (7), reage com as aminas primárias e secundárias formando produtos de condensação coloridos.

A coniína reage dando um produto de coloração vermelha com o cloranil dissolvido em acetona (6), e um produto de coloração verde com o reagente dissolvido em benzeno (7). BANFORD (7) considera esta reação a mais adequada para a coniína.

Podem interferir a *anestésina*, *tutocaína*, *efedrina*, *cinchonidina*, *diidromorfina*, *heroína*, *morfina*, *pilocarpina*, *hioscina*, *apomorfina*, *atropina*, *etilmorfina*, *hiosciamina*, *lobelina*, *quinina*, *quinidina* e *esparteína*, quando se usa cloranil dissolvido em acetona (6). O cloranil dissolvido em benzeno reage com a *arecolina* dando coloração vermelha e com a *lupidina* dando coloração verde oliva (7).

Técnica (7) — Dissolver a coniína em 2 gotas de benzeno e adicionar igual volume do reagente. O líquido torna-se verde. Por evaporação obtém-se um resíduo verde, que azulece pela exposição ao ar.

Reagente — Solução a 1% de cloranil em benzeno. O cloranil é preparado, facilmente, aquecendo-se fenol em ácido clorídrico e adicionando, aos poucos, clorato de potássio. Os cristais amarelos formados são separados por filtração, lavados com bastante água e, depois, com um pouco de álcool.

Microscopia de cristais

A *coniina* forma precipitados cristalinos com poucos reagentes. O precipitante mais adequado é o poliodeto de cádmio. Formam-se agulhas muito finas, (figura 114), que entre nicóis cruzados apresentam birrefringência fraca, extinção paralela e sinal de elongação negativo. Os cristais obtidos experimentalmente não concordam com a descrição dada por BAMFORD (7); talvez devido à diluição do reagente com que trabalhamos.

O ácido pícrico serve para distinguir a *coniina* da *nicotina*, que precipita com maior facilidade (7). A descrição de outros reativos pode ser encontrada nos trabalhos de WAGENAAR (8), e de CLARKE (9), por exemplo: reagente de KRAUT e ácido iodoplatínico (9).

BIBLIOGRAFIA

- 1 — SHRINER, R. L., FUSON, R. C. — *The systematic identification of organic compounds*, A Laboratory Manual, 3.^a Ed. New York, John Wiley & Sons, Inc. London, Chapman & Hall Ltda., 1948.
- 2 — FEIGL, FRITZ — *Spot tests; Organic Applications* 4.^a Ed., Trad. de Ralph Oesper, Amsterdam, Houston, London, N. Y., Elsevier Publishing Co., 1954.
- 3 — FABRE, RENE, REGNIER, M. T. e CHERAMY, P. — *Leçons de Toxicologie*, Paris, Hermann & Cia. Editeurs, 1943, Vol. VII.
- 4 — SANCHEZ, JUAN A. — *Investigaciones analíticas de química funcional organica*, Buenos Aires, El Ateneo, 1937.
- 5 — HASSON, AIDA — *Aplicação à cromatografia em papel de algumas reações características de alcalóides e aminas simpaticomiméticas*, Anais da Academia Brasileira de Ciências, (1955), 27 (3):286-88.
- 6 — GONZALES, T. A., MORGAN, V., HELPERN, M. e UMBERGER, C. J. — *Legal Medicine, Pathology and toxicology*, 2.^a Ed., New York, Appleton Century Crofts, Inc., 1954.
- 7 — BAMFORD, FRANK — *Poisons; their isolation and identifications*, 3.^a Ed. revista por C. P. Stewart, London & Churchill Ltda., 1951.
- 8 — WAGENAAR, M. — *Microchemical reactions of coniine*, Pharm. weekblad (1929), 66:757-60.
- 9 — CLAKE, E. G. C. — *Microcheminal identification of some less common alkaloids*, Journal of Pharmacy and Pharmacology, (1957), 9:187-92.

ARECOLINA

A arecolina é melhor identificada pela microscopia dos cristais, porque não existem reações químicas satisfatórias.

Microscopia de cristais

A *arecolina* apresenta com o reagente de KRAUT, polio-deto de bismuto, cristais rômnicos, vermelhos, de pequeno tamanho, grande birrefringência, que são muito característicos e permitem identificação precisa. Todos os autores consideram este reagente o melhor para a arecolina. Ver fig. 103; sensibilidade, 0,025 microgramas (3).

A observação com luz polarizada é prejudicada pela intensa coloração do cristal. A birrefringência fica aparentemente fraca, e a extinção oblíqua. O sinal de elongação não é determinado com facilidade.

Foram propostos, ainda, para a *arecolina*, com resultados menos compensadores, o cloreto mercúrico (1) (2) o ácido pícrico (3), este último identificando 0,25 microgramas (3) de alcalóide.

BIBLIOGRAFIA

- 1 — DUCLOUX, Enrique Herrero — *Notas microquímicas sobre o Doping*. Buenos Aires, Pouser Ltd., 1943.
- 2 — BAMFORD, Frank — *Poisons; their isolation and identification*, 3.^a Ed., revista por C. P. Stewart, London, J. & A. Churchill Ltd., 1951.
- 3 — CLARK, E. G. C., WILLIAMS, Margaret — *Microchemical tests for the identification of alkaloids*. The Journal of Pharmacy and Pharmacology, 1955, 7 (4): 255-62.



GRUPO DA PURINA

CAFEÍNA

Existem, relativamente, poucas reações coloridas para os derivados xânticos. A mais importante é a reação do murexida, produto de oxidação das xantinas. A *cafeína* pode ser identificada por meio de reações comuns a todas as xantinas, e distinguida, das demais, pela microscopia dos cristais.

Processos Químicos

A — Reação de oxidação (*murexida*)

A reação baseia-se na oxidação da *cafeína*, e identificação do produto oxidado, pela coloração obtida depois de alcalinização.

Oxida-se, comumente, pelo cloro nascente (1) (2), originado da reação entre o ácido clorídrico e o clorato de potássio. O ácido nítrico, aconselhado por certos autores, oxida mal a *cafeína*, permitindo assim diferenciá-la do ácido úrico (3); quando em mistura com o ácido clorídrico (1 parte de HCl para 9 de HNO₃), a reação se processa normalmente, e sua sensibilidade equivale à obtida com os halogêneos em presença de ácido clorídrico (4). A cloramina é o oxidante que permite maior sensibilidade (1,5 *microgramas*) (4). A água oxigenada empregada em meio clorídrico apresenta-a menor (4).

O produto de oxidação é evidenciado, comumente, pela alcalinização com vapores de amoníaco. Pode substituir-se o amoníaco pela piridina, fenilamina, hidróxido de potássio ou mistura dessas bases, com a vantagem de diferenciarem-se as xantinas, pela coloração particular obtida com vários alcalinizantes (2). MORGAN e OPOLONICK (4) empregam a trietanolamina a fim de obterem cores mais estáveis. A sensibilidade da reação pode ser aumentada, segundo DENIGÉS, adicionando-se um sal mercúrico.

O produto de oxidação pode ser, também, evidenciado por reações de condensação com derivados da morfina, em presença de ácido sulfúrico concentrado. Empregando-se, inicialmente, a cloramina em meio clorídrico, e depois a codeína ou dionina em presença de ácido sulfúrico concentrado, obtêm-se colorações diferentes que permitem distinguir a *cafeína* da *teobromina* (5).

A reação de murexida ocorre com a *cafeína*, *teobromina*, *ácido úrico*, *teofilina* e *xantina* (1); outras substâncias podem dar produtos coloridos capazes de interferir na observação da reação (6), por exemplo: *piramido*, *antipirina* e *esparteína*.

Distingue-se, facilmente, a *cafeína* do *ácido úrico* porque o produto de oxidação obtido com êste mantém sua coloração, mesmo quando tratado com hidróxido de potássio.

Pode diferenciar-se a *cafeína* da *teobromina* pela reação de BUHRER. Baseia-se esta, na maior facilidade de oxidação da *cafeína* em meio alcalino, pelo complexo fosfomolibdico adicionado em suspensão aquosa (8).

Para diferenciação dos derivados da *xantina*, é mais interessante a microscopia de cristais. Recomendamos a reação de murexida como ensaio químico geral.

Técnica — Colocam-se 0,1 ml da solução de *cafeína* em microcadinho. Adicionam-se 0,05 ml de solução de cloramina T., 0,05 ml de ácido clorídrico diluído, e evapora-se em banho-maria. Ao resíduo de evaporação adicionam-se 0,05 ml de trietanolamina, observando-se o aparecimento de coloração púrpura.

Sensibilidade — 1,5 microgramas; concentração limite: 12,5 p.p.m.,

Reagentes — Solução de cloramina T. contendo 0,18% de cloro ativo. Ácido clorídrico diluído (1:9).

Técnica em papel de filtro (7) — Coloca-se uma gôta da solução de *cafeína* em papel de filtro e seca-se em placa aquecedora. Adiciona-se uma gôta de solução de clorato de potássio e seca-se. Adiciona-se uma gôta de ácido clorídrico, de tal forma que não ultrapasse a marca deixada pela evaporação da gôta da solução de *cafeína*. Seca-se em placa aquecedora e submete-se o papel aos vapores de amoníaco. Observa-se um anel purpúreo na periferia.

Sensibilidade — Limite de identificação de 5 microgramas.

Reagentes — Solução saturada de clorato de potássio. Ácido clorídrico concentrado.

Microscopia de cristais

A *cafeína* pode ser identificada, facilmente, pela microscopia de cristais, e distinguida de outros derivados da xantina.

O cloreto de ouro foi muito usado para a identificação de *cafeína* em vegetais (9). Não é o melhor reagente para a *cafeína*, se levarmos em conta a sensibilidade e a especificidade da reação microquímica (10). A vantagem do seu uso está na pequena influência dos interferentes. Formam-se agulhas agregadas em esferulitos (figura 043). Usando-se nicóis cruzados, observa-se birrefringência forte, extinção paralela e elongação negativa. Sensibilidade: 10 *microgramas* (17), ou 0,05 *microgramas* por técnica especial (14).

O brometo de ouro, usado originalmente por MARTINI (11), forma cristais menores (figura 051) e torna mais sensível a reação. Entre nicóis cruzados, observa-se uma birrefringência fraca, extinção paralela e elongação negativa.

As soluções de iodo, preparadas segundo BOUCHARDAT, ou WAGNER, não se prestam à identificação das bases xânticas (10). Empregando-se o reagente preparado com iodeto de cézio (10), ou a técnica descrita por ARREGUINE (12), obtêm-se cristais mais característicos do que os obtidos com os outros reagentes (13). A sensibilidade é menor.

O cloreto mercúrico é reagente de identificação superior ao cloreto de ouro, podendo identificar de 1 a 10 *microgramas*, concentração limite de 1.000 p. p. m., de *cafeína* (10) (17), ou 0,05 *microgramas* com técnica especial (14). Forma com a *cafeína* agulhas grupadas (figura 134), que observadas entre nicóis cruzados mostram birrefringência fraca e extinção paralela. Não é fácil a determinação do sinal de elongação.

A *cafeína* e a *teobromina* podem ser identificadas, microscopicamente, pela adição de hipobromito à solução ácida da base (15). GUIMARÃES e PÓVOA aplicaram a mesma técnica na identificação de *cafeína* no mate (16). Em experiências com mate preferimos o emprêgo do brometo de ouro.

BIBLIOGRAFIA

- 1 — SCOTT, W. W. — *Standard methods of chemical analysis* — 5.^a Ed., Poisons, Athur R. Maas, New York, D. Van Nostrand Co., 1950.
- 2 — GEMEINHARDT, Konrad — *The murexide and tetramethylloxanthin reaction and similar color reaction of pyrimidone*. Pharm. Ztg., (1949), 85:218-21.
- 3 — CHAO, E. H. — *The murexide reaction*, Excerpta Med. Sect. (1948), II, (I): 299, C. A., 47:1337.
- 4 — MORGAN, C. E. OPOLONICK, N. — *Adaptation of a color test to minute amounts of caffeine*, Ind. Eng. Chem., Anal. Ed., (1945), 17:526-7.

- 5 — EKKERT, Lad. — *Murexide reaction*, Pharm. Zentralhalle, (1931) 72:481-4, apud. C. A. 25:5246.
- 6 — DROMMOND, F. G., REX, E. H., POE, C. F. — *The murexide test for caffeine and theobromine*, Anal. Chim. Acta., (1952) 6:112-20, apud. C. A., 46:7474.
- 7 — OLIVEIRA, O. E. — Trabalho não publicado.
- 8 — BUHRER, NILTON E. — *Pesquisa diferenciativa de teobromina e cafeína*, Curitiba, I. B. P. T., Arquivos de Biologia e tecnologia, (1947), 2:29-32.
- 9 — MOLISH, HANS — *Mikrochemie der Pflanze*, Jena, 1923.
- 10 — WAGENAAR, M. — *Microchemical reaction of caffeine*, Pharm. Weekblad, (1928), 65:1334-9, apud. C. A. 23:930.
- 11 — MARTINI, Ardoine — *A new extremely sensitive test for caffeine and its application to detection of this purine derivative in vegetable tissues*. Mikrochemie, (1932), 12:109.
- 12 — ARREGUINE, V. — *A new microchemical reaction for caffeine and distinction from the other methylxanthines*. Argentina, Revista Univers. Nacional de Cordoba, (1942), 29:1732.
- 13 — KEENAN, George — *Note on the microscopic identification of caffeine*, Journal of the Association of Official Agricultural Chemist, (1948), 31:163-4.
- 14 — CLARKE, E. G. O. C., WILLIAMS, Margaret — *Microchemical tests for the identification of alkaloids*, The Journal of pharmacy and pharmacology, (1955), 7 (4):255-62.
- 15 — DENIGÈS, Georges — *Microchemie fetscher von H. Molisch*, (1936), 52-8 apud. C. A., 30:6509.
- 16 — GUIMARÃES, Cendy e PVOA, Odilla Pedrosa — *Algumas reações microquímicas das metil-xantinas*. Publicação Farmacêutica da rev. trimestral de S. Paulo, (1938), 3 (11): 13-55-17-20.
- 17 — SCHMID, E. J. — *Estudios sobre el limite de sensibilidad de las reacciones para alcalóides; su aplicacion particular al control de doping* — Santiago — Chile, Tesis de Químicos Farmaceuticos, (1950), 2:158-79.

TEOBROMINA

A teobromina, dimetilxantina, pode ser descoberta pela reação do murexida comum a tôdas as xantinas. Sua diferenciação da cafeína, efetua-se melhor pela microscopia dos cristais.

Processos Químicos

A — Reação de oxidação (murexida)

A teobromina, tratada por oxidantes, comporta-se como a cafeína, fornecendo um produto oxidado que se colore pela alcalinização com o amoníaco.

Quando utilizamos o amoníaco, ou a trietanolamina, como alcalinizante, observamos, praticamente, colorações semelhantes às da *cafeína*, um pouco mais avermelhadas. O emprêgo de uma mistura de amônia, piridina e KOH a 5%, como alcalinizante, permite distinguir a *teobromina* da *cafeína* e *teofilina*, pela coloração azul obtida com a primeira (1). O ácido úrico apresenta idêntico comportamento.

Se o produto de oxidação da *teobromina* fôr tratado com ácido sulfúrico, em presença de codeína ou dionina, obtém-se coloração vermelho cereja que permite distingui-la da *cafeína* e *teofilina* (2).

Trata-se de uma condensação, através da carbonila do composto aloxantínico produzido pela oxidação. Pode aproveitar-se a técnica utilizada para a determinação da *cafeína*, com cloranilo, adicionando-se ao microcadinho uma pequena quantidade de fosfato de *codeína* e 2 gôtas de ácido sulfúrico, logo depois da evaporação do material. A *cafeína* e *teofilina* apresentam colorações azul violeta.

Interferentes — Os mesmos da *cafeína*.

Técnica — Ver sob *cafeína*.

Microscopia de cristais

A *teobromina* pode ser diferenciada de outros derivados da xantina pela microscopia de cristais.

O cloreto de ouro, que precipita bem a *cafeína*, pode ser usado para a *teobromina* (3), embora seja preferível o iodeto de ouro (4). Os cristais obtidos com este reagente apresentam forma característica (figura 053) são opacos, não se prestam para observações entre nicóis cruzados. O brometo de ouro forma cristais pouco estáveis (9).

O poliiodeto de bismuto (6) (5), reagente de KRAUT, forma com a *teobromina* ótimos cristais (figura 102) que permitem uma identificação precisa. Esses cristais, observados entre nicóis cruzados, apresentam birrefringência intensa, extinção paralela e sinal de elongação positivo. A obtenção dos cristais nem sempre é fácil, dependendo da acidez do meio.

O bromo é um excelente reagente para a *teobromina*, apesar de ser pouco sensível. DENIGÉS (7) propôs a adição de uma solução de hipobromito sobre a do alcalóide em meio ácido. WHITMORE e WOOD (4), empregando a fórmula de FULTON, obtiveram ótimos resultados. Os cristais formados, (figura 061) desaparecem com a evaporação do bromo. Obser-

vados entre nicóis cruzados, apresentam birrefringência intensa, extinção paralela e sinal de elongação negativo.

O iodeto de platina, também, foi proposto como reagente (9).

BIBLIOGRAFIA

- 1 — GEMEINHARDT, K. — *The murexide and tetramethylalloxantin reactions and a similar colour reaction of pyramidone*. Pharm. Ztg. (1949) 85:218-21 — apud. C. A., 43:2437.
- 2 — EKKERT, Lad. — *Murexide reaction*, Pharm. Zentralhalle, (1931), 72:481-4, apud. C. A., 25:5246.
- 3 — WAGENAAR, M. — *Microchemical reaction of theobromine*, Pharm. Weekblad (1929), 66:131.
- 4 — WHITMORE, W. F. e WOOD, C. A. — *Chemical Microscopy of some toxicologically important alkaloids*, Microchemie, (1939), 27:249-334.
- 5 — GLYCART, Chris K. et. al — *Report on microchemical test for alkaloids*, Journal of the Association of Official agricultural chemists (1936), 19:512.
- 6 — BAMFORD, Frank — *Poisons; their isolation and identification*, 3.^a Ed., revista por C. P. Stewart., London, J. & A. Churchill Ltd., 1951.
- 7 — DENIGÈS, George — *Microchemie des methyl-xantines (caffeine, theobromine, theofiline)*, Mikrochemie Fetscher von H. Molisch, (1936), 74-5.
- 8 — FULTON, C. C. — *The precipitating agents for alkaloids*, Amer. J. Pharmac. (1932), 104:244-71, apud. C. A., 26:3330.
- 9 — CLARKE, E. G. C. — *Microchemical identification of some less common alkaloids*, J. of Pharm. and Pharmacol., (1955), 9:187.

TEOFILINA

Pode identificar-se a *teofilina*, metil-xantina, pela reação de murexida, comum a todas as xantinas. Diferencia-se, melhor, da *cafeína* e *teobromina* pela microscopia dos cristais.

Processos Químicos

Reação de oxidação

As cores observadas pela oxidação da *teofilina* e alcalinização (1), ou condensação com a *codeína* em meio sulfúrico (2), são semelhantes às obtidas com a *cafeína*, em idên-

ticas condições. A *teofilina* se presta menos à diferenciação por processos químicos que a *teobromina*.

Técnica — Ver sob *cafeína*.

Microscopia de cristais

Propuzeram-se diversos reagentes para a *teofilina*. O ácido nítrico (3), o nitrato de prata amoniacal (4) (5) (8) (2% de nitrato de prata em amônia a 5%), o iodeto de ouro (6) e de platina (7) e o cloreto mercúrico (8) (10).

O ácido bromoplatínico, em presença de ácido clorídrico, forma cristais em agulhas pouco estáveis (10).

Este último foi considerado (9) o melhor precipitante, dando agulhas isoladas (fig. 133) ou irradiadas de um centro único (8). Entre nicóis cruzados, estas agulhas apresentam birrefringência fraca; a determinação de sua extinção é difícil. O sinal de elongação é positivo. *Sensibilidade*: 0,25 microgramas (10).

BIBLIOGRAFIA

- 1 — GEMEINHARDT, K. — *The murexide and tetramethylalloxantin reaction and a similar colour reaction of pyrimidone*. Pharm. Ztg.; (1949), 85:218-21, apud. C. A., 43:2437.
- 2 — EKKERT, Lad. — *Murexide reaction*, Pharm. Zentralhalle, (1931), 72:481-4, apud. C. A., 25:5246.
- 3 — POZDNYAKOVA, V. T. — *Application of microcrystalloscopic analysis for the detection of some substances that are extracted from acid solution*, Apteknoe Nelo, (1953), 2(1):32-40, apud. C. A. 47:5311.
- 4 — GLYCART, Chris, K. et al. — *Report on microchemical test for alkaloids*, Journal of the Association of Official Agricultural Chemist. (1937), 20:551-3.
- 5 — DENIGÈS, Georges — *Mikrochemie des methyl-xantines (caffeine, theobromine, theophiline)*, Mikrochemie Fetschr. von H. Molish, (1926), 52-8 apud. C. A., 31:4449.
- 6 — MORGAN, C. E. — *Methods for the collection and analyses of Horse saliva and urine for the detection of drugs*, New York, Assoc. of official Racing Chemist.
- 7 — GONZALES, Thomas A., MORGAN, Vance, HELPERN, Milton, UMBERGER, Charles J. — *Legal Medicine, Pathology and toxicology*, 2.^a Ed., New York, Appleton Century Crofts, Inc., 1954.
- 8 — Official Methods of Analysis of the Association of official Agricultural Chemist, 8.^a Ed., A. O. A. C., 1955.
- 9 — WAGENAAR, ML — *Microchemical reaction of teophiline*, Pharm. Weekblad, (1929), 66:1-5.
- 10 — CLARKE, E. G. C. — *Microchemical identification of some less common alkaloids*, J. of Pharmacy and Pharmacology, (1957), 9:187-92.

GRUPO PIRROL - PIPERIDÍNICO

ATROPINA

Existem diversos processos de identificação para a *atropina*. O mais sensível é baseado na midríase da pupila do gato; o mais empregado o de VITALI. Os processos químicos e fisiológicos, entretanto, são comuns à maioria dos alcalóides do mesmo grupo, sendo imprescindível o emprêgo de processos cristalográficos, para distinguir a *atropina* de outros alcalóides.

Processos Químicos

A — Reação baseada no grupamento do ácido trópico

O ácido trópico, existente na *atropina*, *hiosciamina*, *escopolamina*; e o ácido apotrópico da *apoatropina*, são responsáveis por diversas reações que permitem diferenciar aqueles alcalóides da *cocaína*, *tropacocaína*, *homatropina* e *novatropina* que não possuem estes ácidos.

Empregam-se reações de oxidação que transformam o ácido trópico em ácido fenil-acético, ou em aldeído benzóico; identificando-se o produto de reação, pelo odor desprendido a quente. A sensibilidade dessas reações é pequena.

WASICKY (1) recomenda o aldeído para-dimetilaminobenzóico em meio sulfúrico (1 g do aldeído dissolvida em 1,7 ml de ácido sulfúrico e adicionada de 0,2 ml de água), para a identificação dos alcalóides que possuem ácido trópico. A reação é muito sensível e específica a frio, mas está sujeita à interferência de outras substâncias que reagem com o mesmo aldeído.

VITALI (2) propôs uma reação baseada na ação nitrante e oxidante do ácido nítrico, formando um produto que apresenta coloração violácea, quando tratado com álcalis em meio alcoólico. Foram propostas diversas modificações da técnica original (TROTARELLI; SCHWARTZENBACH, FORMANEK, LANGGLEY e KOHLE (3). As modificações mais interessantes

são: a) substituição do ácido nítrico pelo ácido sulfúrico e nitrato de sódio; b) diluição do resíduo nitrado em acetona, antes da adição de NaOH (MORIN) (4); c) substituição do álcool, utilizado na fase final, pelo etil-2-hexanol; d) substituição da solução alcoólica de potassa pela de hidróxido de tetraetilamônio em dimetil formamida (5).

A maior parte das modificações visa aumentar a estabilidade da coloração obtida, requisito indispensável para a análise colorimétrica desses alcalóides. A dissolução do resíduo nitrado em acetona altera a seletividade da reação, estendendo-a para outras substâncias.

Pode interpretar-se a reação de VITALI como dinitração do núcleo aromático. O produto m-dinitrado reagiria com o grupo metilênico, vizinho à carbonila, de um produto de oxidação do ácido trópico (aldeídico ou cetônico). Esta segunda fase torna a reação seletiva para a *atropina*, *apopatropina*, *hiosciamina* e *escopolamina*. A introdução de acetona, capaz de se condensar com o m-dinitro-derivado, possibilitaria a identificação de outros alcalóides como a *efedrina*, *cocaína*, *homatropina*, (6) (11).

A reação de VITALI sofre interferência da *veratrina* (7), *apomorfina* e outras substâncias que dão produtos coloridos em condições semelhantes: *colchicina*, *eserina*, *piramido* e *antipirina*.

Técnica — Colocar num micro-cadinho pequena quantidade do alcalóide, ou evaporar à secura uma gota da solução do seu cloridrato; adicionar 2 a 3 gotas de ácido nítrico fumegante e evaporar até secura, em banho-maria; depois de frio, umedecer o resíduo amarelado com 1 gota de potassa alcoólica. Em presença de *atropina*, *hiosciamina*, *escopolamina* e *apopatropina* aparece coloração violácea. *Sensibilidade*: 0,1 mg (8) ou o 0,01 microgramas (9), empregando aparelhagem especial.

Reagente — Solução de hidróxido de potássio 4% em álcool, preparada recentemente.

B — Reação baseada na basicidade do alcalóide

A alcalinidade dos alcalóides é propriedade relativa. Segundo a teoria moderna de bases e ácidos de Brönsted, a alcalinidade dos alcalóides pode ser expressa em *têrmos de constante ácido*, K_a . O logarítmo do inverso da constante de ácido, a que chamaremos de pK_a , permite expressar, comodamente, o caráter ácido ou básico de uma substância; aumentando o pK_a com o aumento do caráter básico.

O pKa dos alcalóides está profundamente ligado à estrutura e grupamento funcional da molécula. Sabe-se que a função amina de uma substância orgânica será tanto mais básica quanto maior fôr o número de átomos de hidrogênio substituídos por radicais alifáticos.

Por outro lado, existem grupos vizinhos ao átomo de nitrogênio que modificam, atenuando ou intensificando, seu caráter básico.

Dependendo do pKa e da concentração, o pH de uma solução do alcalóide pode variar do ácido ao alcalino. A *atropina*, *hiosciamina*, *coniina*, *colina* possuem o pKa superior a 9,0, em meio aquoso envermelhecem o papel de fenolftaleína. Tal propriedade não se verifica com outras substâncias que possuem pKa abaixo de 9,0, inclusive a *escopolamina* e *cocaína* (7).

A vantagem desta reação é a possibilidade da distinção química da *atropina*, da *apostatropina* e da *hiosciamina* dentre os alcalóides identificados pela reação de VITALI.

GERRARD propôs o emprêgo do cloreto mercúrico (2% em álcool), para a identificação desses alcalóides básicos, pela precipitação de óxido de mercúrio. Observa-se nessas condições uma diferença de comportamento entre a *atropina* e *hiosciamina*, mas a sensibilidade da reação é muito pequena (6 mg de *atropina*). A reação patenteia o caráter básico destes alcalóides.

A técnica que emprega fenolftaleína em papel de filtro diminui a quantidade de interferentes. O aquecimento do papel em estufa a 100° C elimina as substâncias básicas, de pequeno peso molecular (amoníaco, aminas alifáticas). Os sais de amônio quaternário podem ser eliminados, antes da reação, porque não são solúveis em éter ou clorofórmio. A *nicotina* e *coniina* podem interferir.

Técnica — Dissolve-se a base livre em 1 ml de clorofórmio, ou agita-se 1 ml da solução do sal com 2 ml de clorofórmio, e alcaliniza-se com amônia. Separa-se e filtra-se a camada clorofórmica. Evapora-se o clorofórmio, quase até secura, e coloca-se o concentrado sobre o papel reagente. Seca-se em estufa a 100° C, durante 10 minutos, e adiciona-se uma gota de água destilada no mesmo local onde se adicionou o alcalóide. O aparecimento da coloração vermelha indica a presença de *atropina* e *hiosciamina*.

Papel reagente — Molhar o papel em solução alcoólica, 0,5% de fenolftaleína, secar.

Determinação Fisiológica

A *atropina*, *hiosciamina*, *hioscina* e *homatropina* provocam nos animais (cobaias, coelhos e gatos) a dilatação da pupila. O mesmo efeito pode ser observado com a *coniina*, *glicosidos* (10) e certas impurezas. A reação é muito sensível.

Técnica — Umedecer a base livre com ácido clorídrico 0,1N. Evaporar em banho-maria; continuar o aquecimento, durante 30 minutos, para evaporar o excesso de gás clorídrico. Retomar o resíduo numa gota de água destilada e instilá-la no olho de um gato. Manter o animal em observação, comparando o olho tratado com o não tratado. Prolongar a observação durante uma hora.

Sensibilidade — 0,43 microgramas (10), concentração limite 25 mg (10).

Microscopia de cristais

O melhor reagente para a identificação microscópica da *atropina* é o poliiodeto de potássio. Obtêm-se cristais característicos que permitem fácil diferenciação da *hiosciamina*, *homatropina* e *tropacocaína*.

Os cristais apresentam-se isolados ou agrupados, pequenos, e sob a forma de bastonetes ou plaquetas triangulares, (figura 084). Os cristais não se prestam à observação com luz polarizada, por serem opacos.

O poliiodeto de potássio pode ser substituído pela solução de bromo (12) (13). Os cristais, então obtidos, são maiores, em forma de agulhas, conforme se pode ver na figura 062; sensibilidade 0,05 microgramas (9). Com luz polarizada, os cristais apresentam intensa birrefringência, extinção paralela e alongação positiva. A solução de bromo apresenta o inconveniente de exigir maiores concentrações de alcalóide (concentração limite 100 p. p. m. (13) e de exigir lamínula, para evitar a corrosão da objetiva pelos vapores de bromo.

A *atropina* pode ser, também, identificada por meio de reagentes como o cloreto ou iodo-iodeto de zinco (14) e pelo iodeto de chumbo (15) (16). Com este último obtêm-se cristais característicos, facilmente distinguíveis dos obtidos da *cocaína* (ver figura 092). Com luz polarizada mostram birrefringência intensa, extinção paralela e alongação positiva.

O poliiodeto de ouro e o de bismuto, também, podem ser usados (14), porém, com resultados menos compensadores.

O ácido pícrico é recomendado, unânimemente, para a identificação da atropina, pela forma do precipitado. Mas os cristais não se prestam à observação com luz polarizada, apesar de apresentarem belíssimas cores de birrefringência, devido à sua forma quadrangular (ver figura 124). Identificam-se 0,25 microgramas do alcalóide (9).

BIBLIOGRAFIA

- 1 — WASICKY, R. — *Eine neue sehr empfindliche Farbenreaktion der Atropins, Hyosyamins und Skopolamins*, Zeitschr. f. ana. chem., (1915), 54:392-5.
- 2 — VITALI — Archiv. d. Pharmaz. (1881), 3,18 (36):307.
- 3 — ROCHE, Raoul — *Formulaire général des réactions et réactifs chimiques et microscopiques*, Paris, Librairie Bernard Tignol, 1905.
- 4 — MORIN — *La réaction de Vitali. Nouvelle technique permettant une microestimation des corps donnant cette réaction*, J. Pharm. Chim. (1936), 23:545-7.
- 5 — FREEMAN, F. M. — *New reagents for colorimetric determination of Atropa alkaloids*, The Analyst, (1955), 80:520-2.
- 6 — PESEZ, Maurice — *Revue des méthodes d'identification de la cocaïne, Nouvelle réaction colorée*, Journ. de Pharm. e Chim., (1939), 30 (8):200-5.
- 7 — AUTENRIETH, Wilh. — *Die auffindung der Gifte und Stark Wirkender arzneistoffe zum gebrauchs in chemischen laboratorien*, 5.^a Ed. J. C. B. Mohr (Paul Siebeck), Tubingen, 1923.
- 8 — FABRE, R. — REGNIER, M. T. CHERAMY, P., *Leçons de toxicologie, Alkaloids*, Paris, Hermann & Cie, Editeurs, 1943.
- 9 — CLARKE, E. G. C. — WILLIAMS, M. — *Microchemical tests for the identification of alkaloids*, The Journal of pharmacy and pharmacology, (1955), 7 (4):255-62.
- 10 — ALLEN, A. H. — *Allen's commercial organic analysis*, Philadelphia Toronto, P-Blakiston's son Co., (1923-33).
- 11 — RHATHENASIKAM, E. — *A colour test for cocaine*, Analyst, (1950), 75:169 *A colour test for apomorphine*, Ibid, (1951), 76:115.
- 12 — BAMFORD, Frank — *Poisons, Their isolation and identification*, 3.^a Ed. Revista por C. P. Stewart. London, J. & A. Churchill Ltda., 1951.
- 13 — WHITMORE, W. F. — WOOD, C. A. — *Chemical Microscopy of some toxicologically Important alkaloids*, Mikrochemie, (1939), 27:249-334.
- 14 — BELLOW — Comunicação privada.
- 15 — WAGENAAR, G. H. — *Microchemical alkaloid reactions with a reagent containing lead iodide*. Pharm. Weekblad, (1939), 76:276-82, apud C. A., 33:4375.
- 16 — BACHMANN, Gerhard — *Microchemical identification of alkaloids*, Pharm. Ztg., (1948), 84:305-6, apud. C. A. 43:5535.

HIOSCIAMINA

A *hiosciamina* é estereoisômero da *atropina*. São idênticos os processos químicos e fisiológicos de identificação dos dois alcalóides; diferem, apenas, os baseados na microscopia de cristais.

Microscopia de cristais

Reveste-se de grande importância a observação dos cristais. A *hiosciamina* precipita pelo cloreto de ouro em plaquetas irregulares, quase incolores, às vezes curvas (1) (2); observadas entre nicóis cruzados, apresentam extinção paralela e sinal de elongação negativo. A vantagem do cloreto de ouro está na possibilidade de distinguir a *hiosciamina* da *hioscina*; o precipitado desta difere tanto na forma como nas propriedades óticas.

Empregando-se o iodeto de ouro (2), conseguem-se agulhas muito menores, inadequadas à observação entre nicóis cruzados, por serem opacas.

Prescreve-se o ácido pícrico, para diferenciar *atropina* da *hiosciamina* (3) (4) (5). As formas dos cristais são, realmente, muito diferentes e a determinação do ponto de fusão dos picratos permite a distinção exata. Podem identificar-se 0,25 microgramas do alcalóide (2).

Preferimos o emprêgo do iôdo em solução aquosa, reativo de WAGNER, para a mesma finalidade, de acôrdo com vários autores (5) (4). Formam-se cristais laminares, pequenos (figura 083), que, observados entre nicóis cruzados, apresentam fraca birrefringência, extinção paralela e sinal de elongação negativo. Limite de identificação: 0,05 microgramas (5).

O iôdo-iodeto de zinco é, também, ótimo reagente, para distinguir a *hiosciamina* da *atropina* (6).

BIBLIOGRAFIA

- 1 — GLYCART, C. K., et. al. — *Report on microchemical test for alkaloids*, Journal of the Association of Official Agricultural Chemist. (1935), 18:521-3.
- 2 — BELLOW — Comunicação privada.
- 3 — NELSON, Burt R., e LEONARD, Helen, A. — *Identification of alkaloids under microscope from the form of their picrate crystals*, Journal American Chemical So., (1922), 44 (2):369-73.
- 4 — BAMFORD, F. — *Poisons; their isolation and identification*, 3.^a Ed., revista por C. P. Stewart, London, J. & A. Churchill Ltd., 1951.

- 5 — CLARKE, E. G. C., WILLIAMS, Margaret — *Microchemical tests for the identification of alkaloids*. The Journal of Pharm. and Pharmacology, (1955), 7 (4):255-62.
- 6 — MORGAN, Charles E. — *Methods for the collection and analyses of Horse saliva and urine for the detection of drugs*, New York, Association of Official Racing Chemists.

HIOSCINA - ESCOPOLAMINA

A *escopolamina* possui ácido trópico em sua molécula, podendo ser identificada pelas reações características dêste; por exemplo: reação de VITALI, descrita para a *atropina*. A *escopolamina* produz, também, midríase nos animais de laboratório.

Quimicamente, a distinção entre a *escopolamina* e a *atropina*, ou *hiosciamina*, pode basear-se na basicidade do alcalóide. Tendo a *escopolamina* caráter menos básico, não envermelhece o papel de fenoltaleína empregado na determinação do caráter básico do alcalóide, nas condições descritas no estudo da *atropina* (ver página 27).

A microscopia de cristais permite a diferenciação perfeita da *escopolamina*.

Microscopia de cristais

O cloreto de ouro é excelente reagente para a *escopolamina*, principalmente, tendo em vista sua diferenciação da *hiosciamina*. Recomendam-no diversos autores (1) (2) (3), que chegam a aconselhar a determinação do ponto de fusão do *cloroaurato de hioscina*, como complemento de pesquisa. Obtêm-se cristais laminares, com os bordos serreados (figura 033). Existe uma ligeira diferença entre os cristais da *dl-hioscina* e da *d-hioscina*. Os cloroauratos obtidos com a primeira apresentam, geralmente, os bordos serreados dum só lado, enquanto com a última os bordos são irregulares dos dois lados. Observando entre nicóis cruzados, constata-se birrefringência intensa, extinção oblíqua e sinal de alongação positivo. Sensibilidade: 0,05 microgramas (5).

O cloreto de ouro pode ser substituído pelo brometo de ouro (4) (5) que, indubitavelmente, apresenta maior sensibilidade. Os cristais são semelhantes, mas menores; as propriedades óticas são determinadas com mais dificuldade.

Pode empregar-se, também, o poliodeto de bismuto, para identificar até 0,05 microgramas do alcalóide (5).

BIBLIOGRAFIA

- 1 — DUCLOUX, Enrique Herrero — *Notas Microquímicas sobre Doping*, Buenos Aires, Pousser Ltda, 1943.
- 2 — BELLOW — Comunicação privada.
- 3 — LUCAS, A. — *Forensic chemistry and scientific criminal investigation*, 4.^a Ed., London, Edward Arnold & Co., 1946.
- 4 — Official Methods of analysis of the Association of Official Agricultural Chemists, 8.^a Ed., A. O. A. C., 1955.
- 5 — CLARKE, E. G. C., WILLIAMS, Margaret — *Microchemical tests for the identification of alkaloids*, The Journal of pharmacy and pharmacology, (1955), 7 (4):255-62.

HOMATROPINA

A *homatropina* difere da *atropina* por ser um éster do ácido mandêlico e não do ácido trópico. Não apresenta, portanto, as propriedades químicas atribuídas a êste, embora possua propriedades fisiológicas semelhantes (midríase). A microscopia dos cristais é útil, para sua identificação.

Microscopia de cristais

A *homatropina* pode ser reconhecida pelo cloreto de ouro (1) ou pelo políiodeto de bismuto (2), mas as formas dos cristais são menos características que as obtidas com bromo ou iodo.

O bromo pode ser empregado sob a forma de reativo de EDER ($\text{Br}_2/\text{KBr}/\text{H}_2\text{O}$, nas proporções ponderais de 1:2:20) (3), ou do reativo de FULTON (4), obtendo-se cristais em lâminas opacas.

A solução de iodo (2), produz cristais muito pequenos, mas bastante característicos (figura 082) com a vantagem de distinguir, paralelamente, a *atropina* e a *hiosciamina*. Os cristais obtidos com o iodo são opacos e não se prestam a observações à luz polarizada, entre nicóis cruzados. Sensibilidade: 0,05 microgramas (2), idêntica à obtida com o políiodeto de bismuto (2).

BIBLIOGRAFIA

- 1 — GLYCART, Chris K. et al. — *Report on microchemical test for alkaloids*, Journal of the Association of Official Agricultural Chemists, (1935), 18:521-3.

- 2 — CLARKE, E. G. C., WILLIAMS, Margaret — *Microchemical tests for the identification of alkaloids*, The Journal of Pharm. and Pharmacology, (1955), 7 (4):255-62.
- 3 — WAGENAAR, M. — *Microchemical reaction for homatropine*, Pharm. Weekblad, (1928), 65:1213-6, apud. C. A., 23:667.
- 4 — WHITMORE, W. F., WOOD, C. A. — *Chemical Microscopy of some toxicologically important alkaloids*, Mikrochemie, (1939), 27:249-334.

COCAÍNA

Identifica-se melhor a *cocaína* por processos que utilizam a microscopia de cristais. Os processos químicos e fisiológicos são menos específicos e sensíveis.

Processos Químicos

Reação baseada no grupamento fenílico

A *cocaína* não dá a reação de VITALI, descrita para a *atropina* porque o produto nitrado, na primeira fase, não encontra grupo $=CH-CO-$ para reagir, quando se alcaliniza o meio.

A dissolução do produto nitrado em acetona, antes da alcalinização, facilita a reação. Para que esta seja mais sensível, é necessário que a nitração forneça a maior quantidade possível, do produto meta-dinitrado, pois este é o responsável pela reação com acetona em meio alcalino. PESEZ (1) e RATHENASIKAM (2) (3) desenvolveram técnicas que permitem a identificação da *cocaína* por este método.

A sensibilidade da reação é menor que a observada com a reação de VITALI. A cor do produto de reação pode variar com as condições da nitração; empregando-se a técnica de PESEZ (1), obtém-se com a *cocaína* coloração azul; pela técnica de RATHENASIKAM (2) (3) consegue-se coloração púrpura.

Processos Fisiológicos

Como anestésico local, a *cocaína* produz na ponta da língua sensação de dormência e inchaço, quando aí aplicada diretamente. Reagem da mesma maneira: *tropacocaína*, *psicocaína*, *alipina*, *cinamilcocaína* e *alfa* ou *beta-eucaína* (4).

Tôdas estas substâncias não dão reações químicas características, devendo-se identificá-las pela microscopia de cristais.

Microscopia de cristais

Os cristais de *picrato de cocaína* são usados, há muito tempo, para a identificação dêste alcalóide. Apesar de bastante característicos estão sendo postos de lado, pelo fato do ácido picrico sofrer interferências sérias: de impurezas, do excesso de ácido do meio, e por êle próprio interferir na observação das propriedades óticas do *picrato de cocaína*.

O permanganato de potássio fornece cristais muito característicos (4) (5), mas a técnica de obtenção é complicada em benefício da reprodutibilidade dos resultados.

Os iodetos de metais pesados, por exemplo: o iodeto de prata (6), e o iodeto de chumbo (7) (9), fornecem cristais bastante característicos. O iodeto de chumbo, preparado segundo WAGENAAR (7), precipita a *cocaína* em cristais típicos, (fig. 091) que permitem boa diferenciação da *atropina*. Os cristais são opacos e não se prestam à observação entre nicóis cruzados. A sensibilidade, segundo CLARKE-WILLIAMS (9), é de 0,025 microgramas com o iodeto de prata; a concentração limite é de 2.000 p. p. m. (6).

O cloreto de ouro é o melhor reagente para a *cocaína* (5) (8) (9). Os cristais apresentam-se com ramificações laterais paralelas, que fazem com o eixo maior um ângulo de 90°, (ver figura 034). Observados entre nicóis cruzados, mostram birrefringência intensa; os cristais se extinguem em posição oblíqua, num ângulo de 90° com a direção do nicól. Apresentam alongação positiva.

Podem identificar-se 2 microgramas de *cocaína* (10); ou 0,025 microgramas com auxílio de técnica especial (9).

O cloreto de platina pode ser empregado (11), para identificar 0,25 microgramas do alcalóide (11); limite de concentração: 250 p. p. m. (11).

BIBLIOGRAFIA

- 1 — PESEZ, Maurice — *Revue des méthodes d'identification de la cocaïne, nouvelle reaction colorée*, J. Pharm. Chim.; (1939), 30 (8):200-5.
- 2 — RATHENASIKAM, E. — *A colour test for cocaine*, Analyst, (1950), 75:169.
- 3 — RATHENASIKAM, E. — *A colour test for amphetamine*, Analyst, (1951), 76:115.

- 4 — BAMFORD, Frank — *Poisons; their isolation and identification*, 3.^a Ed. revista por C. P. Stewart, London, J. & A. Churchill Ltd. (1951).
- 5 — KEENAN, George L. — *Notes on the microscopy of some important alkaloids*, The Chemist Analyst, (1951), 40(1) :4-14.
- 6 — WHITMORE, W. F., WOOD, C. A. — *Chemical Microscopy of some toxicologically important alkaloids*. Microchemie, (1939), 27:249-334.
- 7 — WAGENAAR, G. H. — *Microchemical alkaloid reactions with a new reagent containing lead iodide*. Pharm. Weekblad, (1939), 76:276-82, C. A. 33:4375.
- 8 — BELLOW — Comunicação privada.
- 9 — CLARKE, E. G. C., WILLIAMS, Margaret — *Microchemical tests for the identification of alkaloids*. The Journ. Pharm. and Pharmacology, (1955), 7 (4) :255.
- 10 — WAGENAAR, M. — *Microchemical reactions of cocaine*, Pharm. Weekblad, (1930), 67:229.
- 11 — BASTOS, M. L. — *Microscopia e técnica de precipitação dos alcalóides com sais platinicos* — Tese — 1957 — Ribeirão Preto, Faculdade de Farmácia e Odontologia.

TROPACOCAÍNA

Identifica-se melhor a *tropacocaína* pela microscopia de cristais. Os processos químicos e fisiológicos são menos específicos e sensíveis.

A *tropacocaína* pode ser identificada pela forma e propriedades óticas dos cristais obtidos pela ação de reagentes precipitantes.

Pode empregar-se o ácido cloroplatínico, o cloreto de ouro e o poliiodeto de bismuto. São mais convenientes: bromo e iôdo.

O bromo forma cristais em agulhas e lâminas, o iôdo é o precipitante mais conveniente, por ser mais sensível. Obtêm-se cristais típicos (fig. 081), que, entre nicóis cruzados, apresentam birrefringência intensa, extinção paralela e sinal de elongação negativo.



GRUPO DO INDOL

ESTRICNINA

Os processos de identificação da *estricnina* são bastante precisos. Os químicos são específicos; a microscopia de cristais igualmente eficiente, e, eventualmente, indispensável, como no caso da distinção entre *cloropromazina* e *estricnina* (1).

Processos Químicos

A — Oxidação

Os alcalóides que possuem grupo indólico em sua molécula oxidam-se, por oxidantes fortes (dicromato de potássio e vanadato de amônia em meio sulfúrico), fornecendo, geralmente, produtos de cor azul ou violeta. O próprio indol transforma-se em produto vermelho violáceo; o *triptofano* e seus produtos de degradação, comumente encontrados em impurezas de material biológico, portam-se análogamente. Nas mesmas condições, a *estricnina* apresenta a particularidade de produzir cor violeta que se transforma em vermelha. Esta variação de cor é de grande importância na identificação.

MANDELIN propôs como oxidante o vanadato de amônio dissolvido em ácido sulfúrico (na concentração de 1%), para identificar até 1 *micrograma* de *estricnina*, ou 0,05 *microgramas*, empregando-se técnica especial (3). OTTO e outros (4) (5) (6), preconizam o dicromato de potássio, para identificar até 1,7 *microgramas* do alcalóide (7). O emprêgo do último reagente apresenta a vantagem de observar-se, inicialmente, a ação isolada do ácido sulfúrico concentrado sobre o material a ser analisado.

Técnica — Adicionar uma gota do ácido sulfúrico concentrado sobre o alcalóide, colocado na depressão da placa de toque. Agitar, vagarosamente, com bastão de ponta afilada, anotando o resultado da ação do

ácido. Juntar pequeno cristal de dicromato de potássio e continuar a agitação. Havendo *estricnina* a cor violeta inicial passa a vermelho.

Limite de identificação: 1,7 microgramas (7).

Técnica em papel de filtro — Adicionar uma gota do reagente oxidante ao papel de filtro que já contém *estricnina*. Observam-se as mesmas mudanças de cor (8).

Limite de identificação — 2 microgramas (8).

Reagente — Dissolver 0,4 g de cromato de sódio em 10 ml de água destilada. Completar o volume a 100 ml, com mistura 1:1 de ácido perclórico a 60% e ácido nítrico (p. e. 1,38).

B — Redução à tetraidroestricnina

A *estricnina*, dissolvida em ácido clorídrico concentrado e com amálgama de zinco, transforma-se, pelo hidrogênio, nascente em tetraidroestricnina e estricnidina (10). Identificam-se estas substâncias por meio de oxidantes que produzem com elas coloração vermelha, por exemplo: nitrito de sódio ou água de bromo.

DENIGÉS, autor da reação, a considera específica para a *estricnina* (9); TRUFFERT observou que podem interferir quantidades relativamente elevadas de cafeína (2). Realmente, não se encontrou outro alcalóide que não reaja com o nitrito de sódio a não ser depois de reduzido, dando coloração vermelha. Este fato permite distinguir a *estricnina* da *brucina*.

Segundo SANCHEZ, a reação processa-se através do grupo anilida cíclico da molécula da *estricnina*, que, reduzido e depois oxidado, transformar-se-ia em grupo aldeídico (7).

Técnica — Dissolver o alcalóide, colocado em tubo de ensaio, em um mililitro de ácido clorídrico. Juntar um grânulo de amálgama de zinco e aquecer, para manter forte efervescência, durante três minutos. Esfriar, adicionar 1 a 2 gotas de nitrito de sódio e observar a coloração vermelha produzida (2). Sobre outra porção do alcalóide, adicionar a solução de nitrito de sódio. Não deve aparecer coloração vermelha.

Sensibilidade — 1 micrograma de *estricnina* (2).

Reagentes — Ácido clorídrico concentrado.

Grânulos de amálgama de zinco, medindo aproximadamente 5 mm de diâmetro, e contendo 1 parte de zinco para 1 de mercúrio. Solução a 0,1% de nitrito de sódio, preparada recentemente.

Microscopia de cristais

A *estricnina* é um dos poucos alcalóides que reage com a maioria dos reagentes de precipitação dando precipitados cristalinos. A dificuldade está na escolha dos reagentes mais específicos e sensíveis, tendo em vista sua forma e propriedades óticas.

O cloreto mercúrico é aconselhado por diversos autores (14) como capaz de identificá-la em concentração limite de 1.000 p. p. m. (14). Formam-se cristais em agulhas (ver figura 141); entre nicóis cruzados, apresentam birrefringência fraca, extinção paralela, dificilmente determinada, e sinal de elongação negativo. O brometo mercúrico (11)(14) é mais sensível, concentração limite de 500 p. p. m. (14); apresenta agulhas mais finas e curtas, com algumas ramificações, ver figura 142). Os cristais obtidos com o brometo mercúrico, quando observados entre nicóis cruzados, apresentam birrefringência fraca, extinção paralela e sinal de elongação negativo; outro recurso, para aumentar a sensibilidade da reação, é usar o cloreto mercúrico em presença de periodato de potássio (12).

O poliiodeto de mercúrio foi indicado por CLARKE e WILLIAMS (3), para a identificação da *estricnina* por seus cristais. CAMPOS e ZEITNUNI (13) só conseguiram cristais característicos depois de 18 horas de contato. Essa diferença de resultados é explicada pela diferente composição dos reagentes e peculiaridade de técnica Sensibilidade: 0,001 microgramas (3), concentração limite de 200 p. p. m. (14).

O cloreto de ouro tem sido recomendado por diversos autores (12)(3), mas as propriedades óticas e formas dos cristais são menos convenientes que as dos obtidos com cloreto de platina (15)(16). O cloroplatinato de *estricnina* precipita, com facilidade, em forma característica (ver fig. 011), constituindo, ao nosso ver, o melhor reagente para este alcalóide. Entre nicóis cruzados, os cristais apresentam-se com birrefringência fraca, extinção paralela e sinal de elongação negativo. O mesmo reagente forma com a *brucina* cristais com sinal de elongação positiva. O limite de concentração de 500 p. p. m. (14)(17), limite de identificação: 0,5 microgramas (17).

O tiocianato de amônio (16) pode ser usado, para quantidades muito pequenas de *estricnina*. Os cristais são típicos, (ver figura 163). Entre nicóis cruzados o *tiocianato de estricnina* apresenta forte birrefringência, extinção paralela e sinal de elongação negativo.

BIBLIOGRAFIA

- 1 — DUQUENOIS, Ann. Med. Legale, (1954), 34:226
LE BRETON — HERVI — Ann. Med. Legale, (1954), 34:125.
- 2 — KOHN ABREST — *Précis de toxicologie*, 3.^a Ed. Paris, G. Doin & Cie., 1955.
- 3 — CLARKE, E. G. C., WILLIAMS, Margaret — *Microchemical tests for the identification of alkaloids*. The Journal of pharmacy and pharmacology, (1955), 7 (4); 255-62.
- 4 — OTTO, apud ROCHE, Raoul — *Formulaire général des Réactions et réactifs chimiques et microscopiques*, Paris, Librairie Bernard Tignol, 1905.
- 5 — WARD, J. C., MUNCH, J. C. — *Studies on strychnine; The reactivity of certain chemical and physiological tests*. J. Am. Pharm. Assoc., (1930), 19:954 — 7, apud, C. A. 25:2813.
- 6 — BAMFORD, Frank — *Poisons; their isolation and identification*, 3.^a Ed. revista por C. P. Stewart, London, J. & A. Churchill Ltd., 1951.
- 7 — SANCHEZ, J. A. — *Investigaciones analíticas de química funcional organica*, Buenos Aires, El Ateneo, 1937.
- 8 — BASTOS, Milton L. — *Aplicações químico-toxicológicas de reagente crômico modificado*. Rio de Janeiro, C. N. E. P. A., Boletim do Instituto de Química Agrícola, (1956), 45:7-16.
- 9 — DENIGES, Georges — *Théorie et modification rationnelle da la reaction de Malaquin pour la caractérisation de la strychnine*, Bull. Soc. Chim. (1911), 9:537-42.
- 10 — MALAQUIN, M. — Journal Pharm. et Chim. (1909) (6.^o) 20:546.
- 11 — WHITMORE, W. F., WOOD, C. A. — *Chemical microscopy of some toxicologically important alkaloids*, Mikrochemie, (1939), 27:249-334.
- 12 — BELLOW — Comunicação privada.
- 13 — CAMPOS, Maria Aparecida Pourchet, ZEITNUNI, Jamil — *Aspectos microcristalinos de precipitados alcalóidicos com o reativo de Mayer*, S. Paulo, Anais da Faculdade de Farmácia e Odontologia, (1948), 197-207.
- 14 — WAGENAAR, M. — *Microchemical reactions of strychnine*, Pharm. Weekblad, (1929), 66:1073-8.
- 15 — GLYCART, Chris K. et al. — *Report on microchemical test for alkaloids*, Journal of the Association of official agricultural chemist, (1927), 10:370-4 e (1928), 11:353-5.
- 16 — KEENAN, George L. — *Notes on the microscopy of some important alkaloids*, The chemist analyst, (1951), 50 (2):28-32.
- 17 — BASTOS, M. L. — *Microscopia e técnica de precipitação dos alcalóides com sais platínicos*, Tese — 1957. Ribeirão Preto, Faculdade de Farmácia e Odontologia.

BRUCINA

A observação microscópica de cristais é excelente processo de identificação da *brucina*. Os processos químicos limitam-se a reações de oxidação, destacando-se a do ácido nítrico, única capaz de tornar-se específica.

Processos Químicos

Oxidação-Nitração

O ácido nítrico transforma a *brucina* num produto vermelho, como qualquer outro oxidante. O produto formado transforma-se por nitração em cacotelina que é amarela. A cacotelina, de fórmula $C_{20}H_{22}N_2O_5 \cdot (NO_2)_2$ (1), pode ser identificada pela redução com cloreto estânico, ou sulfeto de amônio que a transforma em ametistina (2), de cor azul.

A reação com o ácido nítrico implica, provavelmente, numa demetoxilação do núcleo aromático, resultando grupo fenólico, facilmente nitrado e oxidado a quinona. Os redutores formariam, com a forma oxidada e nitrada, iminoquinonas azuis. Observamos que o ácido nítrico, completamente isento de ácido nitroso, não reage imediatamente com a *brucina*, porque possui menor velocidade de oxidação (3); esta observação corrobora a hipótese da reação primária do ácido nítrico (contendo normalmente ácido nitroso) ser oxidante.

O aparecimento de coloração vermelha, pela ação oxidante do ácido nítrico, não é característica específica da *brucina*. A redução da cacotelina formada é que permite sua identificação precisa.

Técnica — Adicionar ao alcalóide, colocado na depressão de uma placa de toque, 2 gotas de ácido nítrico p. e. 1,4). Observa-se o aparecimento de coloração vermelha que passa a amarela com o tempo. Adicionam-se, a esta solução, algumas gotas de cloreto estânico e observa-se coloração violeta.

Reagente — Solução de cloreto estânico a 5%.

Microscopia de cristais

A *brucina* precipita-se por numerosos reagentes, dando cristais característicos. A maioria dos autores prefere o cloreto de ouro. Formam-se cristais agrupados (ver figura 032).

pouco estáveis, devido à ação oxidante do reagente precipitante. Observados entre nicóis cruzados apresentam birrefringência fraca. As outras propriedades óticas são determinadas com dificuldade.

Tendo em vista as propriedades óticas, preferimos usar o cloreto de platina. Formam-se cristais alongados (ver figura 012) que entre nicóis cruzados apresentam birrefringência fraca, extinção paralela e sinal de elongação positivo. O sinal de elongação é oposto ao da *estricnina* com o mesmo reagente, permitindo uma nítida diferenciação. O limite de concentração é de 500 p. p. m.; o limite de identificação é de 0,05 microgramas (5) ou 0,5 microgramas (7).

A Association of Official Agricultural Chemists adotou os reagentes recomendados por GLYCART (4), isto é: o cloreto mercúrico e o iodeto de potássio. Outros autores recomendam o cromato de potássio, capaz de identificar 0,025 microgramas (5), cloreto de bismuto, que precipita o alcalóide nas concentrações limites de 5.000 p. p. m. (6), ou o mercúrio tiocianato de potássio (6).

BIBLIOGRAFIA

- 1 — FABRE, René, RÉGNIER, M. T., CHERAMY, P. — *Leçons de Toxicologie*, vol. VII, Paris, Hermann & Cie., Editeurs, 1943, 11 volumes, Actualités Scientifiques et industrielles.
- 2 — SANCHEZ, Juan — *Investigaciones analíticas de química funcional organica*, Buenos Aires, El Atenso, 1937.
- 3 — FEIGL, Fritz, Química, (1948), 2:49.
- 4 — GLYCART, C. et al. — *Report on microchemical test for alkaloids*, Journal of the Association of Official Agricultural chemist, (1930), 13:315-8.
- 5 — CLARKE, E. G. C., WILLIAMS, Margaret — *Microchemical tests for the identification of alkaloids*. The journal of pharmacy and pharmacology, 1955, 7 (4):255-62.
- 6 — WHITMORE, W. F., WOOD, C. A. — *Chemical microscopy of some toxicologically important alkaloids*, (1939), 27:249-334.
- 7 — BASTOS, M. L. — *Microscopia e técnica de precipitação dos alcalóides com sais platínicos*. Tese — 1957 — Ribeirão Preto — Faculdade de Farmácia e Odontologia.

IOIMBINA

A *ioimbina*, idêntica a *quebrachina*, é melhor identificada por processos químicos, devido à existência de grupo fenol vizinho à carbonila esterificada.

Esta peculiaridade de estrutura torna a *ioimbina* facilmente oxidável e capaz de condensar-se com aldeídos que não reagem com outros alcalóides.

Processos Químicos

A — Reação de oxidação

Por ser um derivado do indol, o produto de oxidação da *ioimbina* é azul. Pode-se efetuar a reação com oxidantes fracos (selenito e molibdato de amônio) ou fortes (dicromato e permanganato de potássio) em meio sulfúrico (1). Convém usar-se o oxidante mais fraco, por ser mais seletivo.

A *ioimbina*, em solução ou depositada sobre papel de filtro, apresenta fluorescência azul intensa. Observamos que esta fluorescência desaparece quando se adicionam os oxidantes, para obtenção do produto azul de oxidação (2). O desaparecimento da fluorescência é característica de identificação mais sensível que a coloração azul obtida por oxidação.

Preferimos condensar as duas propriedades numa só técnica de identificação. Assim, observamos: a fluorescência do alcalóide, ou o produto fluorescente de oxidação, à luz ultravioleta; o desaparecimento da fluorescência, pela adição do oxidante e o aparecimento da coloração azul, quando a quantidade de alcalóide for suficiente.

Técnica — Colocar sobre o papel de filtro uma gota da solução do alcalóide e observar à luz ultravioleta. Adicionar uma gota da solução de cromato de sódio em ácido nítrico-perclórico; observar o desaparecimento da fluorescência e a formação de produto azul de oxidação (12).

Reagentes — Cromato de sódio, 0,4 g, dissolvido em 10ml de água e completado o volume a 100 ml com mistura (1:1) de ácidos nítrico e perclórico.

B — Reação de condensação

Os aldeídos, em meio sulfúrico, reagem com diversos alcalóides dando produtos de condensação coloridos. Há certa diferença no comportamento desses aldeídos; uns são de emprego mais geral que outros. Destacam-se como reagentes para a *ioimbina*: a vanilina (3) e o cloral (4) (5). Rossi e colaboradores consideram o cloral como reagente específico de *ioimbina*, dando produto de condensação rósea que passa ao azul pelo aquecimento.

Técnica — (5) — Adicionar 0,5ml da solução do alcalóide a 3ml do reagente. Aquecer em banho-maria, entre 50-60°C; observar que a coloração rósea, obtida inicialmente, passa a azul.

Sensibilidade: 20 microgramas.

Reagente — Adicionar 0,2ml de solução de cloral a 20% a 3ml de ácido sulfúrico concentrado.

Microscopia de cristais

A identificação microscópica da *ioimbina* é difícil. Existem poucos reagentes de precipitação adequados; principalmente quando se analisam pequenas quantidades do alcalóide, em presença de impurezas.

O melhor reagente de precipitação é o carbonato de sódio (7) (9); a *ioimbina* precipita como base livre amorfa. Adiciona-se uma gota de álcool, para redissolver o precipitado, e observam-se, depois de algum tempo, cristais de *ioimbina*, (figura 143). Observando-os entre nicóis cruzados, verifica-se birrefringência intensa, extinção paralela e sinal de elongação negativo. WINCHEL (8), cita outras propriedades óticas, que podem servir para a identificação precisa deste alcalóide. O cianeto de potássio, também, pode ser usado para a precipitação da *ioimbina* (9). *Sensibilidade*: 0,5 microgramas para os dois reagentes.

BIBLIOGRAFIA

- 1 — AUTENRIETH, Wilh — *Die Auffindung der Gifte und Stark Wirkender Arzneistoffe zum gebrauch in chemischen Laboratorien*, 5.^a Ed., J. C. B. Mohr (Paul Siebeck), Tubingen, 1923.
- 2 — BASTOS, Milton L. — Trabalho não publicado.
- 3 — SANCHEZ, Juan A. — *Investigaciones analíticas de Química Funcional organica*, Buenos Aires, El Atenco, 1937.
- 4 — ROSSI, L., BOCA, A. D., LOBO, R. — *Ann. Pharm. Bioquímica*, (1932), 3:52.
- 5 — PEREZ — *New specific reaction for Yohimbine*, *Analyst*, (1935), 60:709.
- 6 — GEMEINHARDT, Konrad — *Yohimbine and its identification*, *Apoth. Ztg.* (1950), 62:7-10.
- 7 — GLYCART, Chris K. et al. — *Report on microchemical test for alkaloids*, *Journal of the Association of Official Agricultural Chemist*, (1937), 20:551-3.
- 8 — WINCHELL, Alexander N. — *The optical properties of organic compounds*, 2.^a Ed., New York, Academic Press Inc. Publishers, 1954.
- 9 — CLARKE, E. G. C. — *Microchemical identification of some less common alkaloids*, *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, (1957), 9:107-92.

ERGOTOXINA

A *ergotoxina*, *argonovina* e *ergosina* são os alcalóides principais do esporão do centeio (1). A cada um desses alcalóides corresponde um isômero que pode provir dele ou originá-lo (2). O isômero da *ergotoxina* é a *ergotinina*.

A *ergotoxina*, por suas propriedades pronunciadamente tóxicas, é o alcalóide mais importante, do ponto de vista toxicológico. O termo *ergotoxina* não designa um alcalóide definido, mas mistura de vários (*ergocornina*, *ergocristina* e *ergocriptina*) (1), todos contendo ácido lisérgico, ácido isobutilfórmico, prolina e amoníaco, mas diferindo no aminoácido existente na molécula (valina, finilalanina e leucina).

A natureza complexa e similar desses alcalóides torna difícil a identificação por processos químicos específicos, e pela microscopia dos cristais. Os processos fisiológicos são inigualáveis. Os alcalóides do grupo '*ergotoxina*' apresentam ação tóxica que se manifesta, principalmente, pela gangrena de certas partes do corpo; esta atividade fisiológica permite a identificação específica.

Processos Químicos

Reação de condensação

Todos os alcalóides do esporão do centeio contêm ácido lisérgico. O núcleo indólico deste ácido é responsável pela reação de condensação com o aldeído dimetil-para-aminobenzóico, em presença de ácido sulfúrico (2). A reatividade do reagente com inúmeros alcalóides torna a reação menos seletiva para os derivados do ácido lisérgico.

O reagente pode ser empregado: em solução alcoólica (2), ou em meio sulfúrico e em presença de cloreto férrico (3). Este último presta-se à determinação quantitativa desses alcalóides; o primeiro, entretanto, é mais seletivo.

Técnica — Colocar o alcalóide em microcadinho; adicionar duas gotas do reagente. Deixar evaporar à temperatura ambiente; aparece coloração azul-violeta que, pelo aquecimento, passa a violeta (2).

Reagente — Dissolver 1 g de aldeído dimetil-para-aminobenzóico em 100ml de álcool, acidulado com 20 gotas de ácido sulfúrico concentrado.

Experimentação Fisiológica

A gangrena provocada, experimentalmente, em animais, pela injeção intramuscular de substâncias que reagem com o para-dimetil-aminobenzaldeído, é específica para a *ergotoxina*.

Utiliza-se o galo ou a rã. A injeção do alcalóide em galo provoca o azulecimento (gangrena) da sua crista e barbas. Observa-se na rã a gangrena, pelo rompimento da pele na extremidade das patas.

Fluorescência

Os alcalóides do esporão do centeio, quando cromatografados, apresentam fluorescência (4) que permite fácil localização.

Esta propriedade não foi citada para a *ergotoxina* (4), embora seja peculiar ao seu isômero, *ergotina*. Torna-se necessário rever, experimentalmente, o comportamento desses alcalóides à luz ultravioleta, pois a fluorescência poderá prestar ótimas informações analíticas.

BIBLIOGRAFIA

- 1 — COOK, E. F. e MARTIN, E. W. — *Remington's Pratica of Pharmacy*, 10.^a Ed. Easton, The Mack Pub. Co., 1951.
- 2 — BAMFORD, Frank — *Poisons; their isolation and identification*, 3.^a Ed., revista por C. P. Stewart, London, J. A. Churchill Ltd., 1951.
- 3 — COOKING, apud Foster — *J. Pharm. Pharmacology*, (1955), VII:1.
- 4 — SCHOEN, G. — *Análise Cromatografica su carta*, 1954.

HARMINA

Identifica-se, facilmente, a *harmina* por suas propriedades físicas e químicas. Apresenta fluorescência azul intensa, que permite evidenciá-la quando em papel de filtro, depois de cromatografado, ou em soluções aquosas muito diluídas.

Processos Químicos

Reação de oxidação

Apresentando em sua molécula um núcleo indólico, a *harmina* produz compostos coloridos quando oxidada.

Reage com ácido sulfovanádico, reagente de MANDELIN, produzindo coloração violeta; com o cromato de sódio dissolvido em ácido nítrico e perclórico dando coloração vermelha. Existe divergência na descrição da cor produzida pela oxidação com o reagente de MANDELIN; CLARKE a descreve como azul que passa a verde, outros como violeta (1) (2).

Técnica — Adicionar uma gota do reagente oxidante ao papel de filtro que já contém *harmina*. Observa-se coloração vermelha.

Reagente — Dissolver 0,4 g de cromato de sódio em 10 ml de água destilada. Completar o volume a 100 ml, com mistura 1:1 de ácido perclórico a 60% e ácido nítrico (p. e. 1,38).

Microscopia de cristais

A *harmina* reage com diversos reagentes dando produtos cristalinos que se prestam à identificação microscópica, pela forma e propriedades óticas dos cristais.

Reage com o poliiodeto de bismuto, precipitando em agulhas de fraca birrefringência, extinção paralela e elongação negativa. O iodeto de potássio precipita o alcalóide em agulhas (4), servindo para identificá-lo até em quantidades de 0,025 microgramas, empregando-se técnica especial (4).

O cloreto mercúrico é ótimo reagente de precipitação, (figura 132 gentilmente cedida por Walter Mors e Perola Zaltzmann (3)). Os cristais observados entre nicóis cruzados, mostram intensa birrefringência, extinção paralela e sinal de elongação negativo.

O cloreto de ouro precipita a *harmina* em bastonetes (4) pouco birrefringentes, de extinção paralela e elongação negativa. Podem identificar-se até 0,025 microgramas de alcalóide (4) com técnica especial.

BIBLIOGRAFIA

- 1 — HENRY, Thomas Anderson — *The Plant alkaloids*, 4.^a Ed., London, J. & A. Churchill Ltd., 1949.
- 2 — ALLEN, Alfred Henry — *Allen's commercial organic analysis*, vol. VII, The vegetable alkaloids, Philadelphia-Toronto, P. Blakiston's Son Co., 1923-33.
- 3 — MORS, Walter B., ZALTZMAN, Perola — *Sobre o alcalóide da *Banisteria caapi*, Spruce e do Cabi paraensis*, Ducke C. E. N. E. P. A., Boletim do Instituto de Química Agrícola, (1954), 34:17-27.
- 4 — CLARKE, E. G. C. — *Microchemical identification of some less common alkaloids*, J. Pharmacy, Pharmacology, (1957), 9:187-92.

GRUPO ISOQUINOLÍNICO - FENANTRÊNICO

MORFINA

Existem numerosos processos químicos, para a identificação da *morfina*, que permitem diferenciá-la dos alcalóides normalmente encontrados no ópio. A ocorrência de derivados sintéticos da *morfina* modifica a seleção de processos de identificação e recomenda o emprêgo da microscopia dos cristais. A pureza da *morfina* é outro fator importante na seleção das reações, sendo comum o emprêgo de reações menos sensíveis desde que estejam menos sujeitas às interferências.

Processos Químicos

As reações químicas serão apresentadas em ordem crescente de seletividade.

A — *Reação de condensação com o formol.*
Reação de MARQUIS.

Os aldeídos, em presença de ácido sulfúrico, reagem com diversos alcalóides produzindo reações coloridas de condensação. O aldeído fórmico, em meio sulfúrico, reage com a maior parte dos alcalóides do ópio, e com os derivados da *morfina*, dando produtos violáceos ou vermelhos.

A seletividade desta reação é pequena; outros alcalóides, e substâncias orgânicas, reagem nessas condições dando produtos que podem ser confundidos com os obtidos dos alcalóides do ópio, ou derivados da *morfina*. A substituição do aldeído fórmico pelo dimetil-para-aminobenzaldeído prejudica ainda mais a seletividade.

Reagem a *morfina*, a *apomorfina*, a *heroína*, a *acetilmorfina*, o "*dilaudid*", a *codeína*, a *dionina*, o *eucodal*, o *dicodide*, a *narcotina* e a *tebaina* (esta última fornece cor vermelha pela simples ação do ácido sulfúrico). A *papaverina*, a *pseudo-morfina* e a *narceína* apresentam colorações diferentes das obtidas com os alcalóides citados acima (1).

Técnica — Colocar numa cápsula de porcelana, de 25 ml de capacidade, o resíduo sólido, ou evaporar a solução. Pingar sobre o resíduo uma gota do reagente de MARQUIS. Esfregar o fundo da cápsula com bastão de vidro, observando a cor vermelha que passa ao violeta na presença de morfina.

Sensibilidade — Limite de identificação, 5 microgramas, ou 0,05 microgramas com auxílio de técnica especial (3).

Reagente — Adicionar 2 gotas de formalina (formaldeído a 40%) a 3 ml de ácido sulfúrico concentrado. Usar o reagente recém-preparado.

B — Transformação em apomorfina

A morfina, seus éteres (*codeína*, *dionina*) e ésteres (*acetilmorfina* e *heroína*) podem ser transformados em *apomorfina*, com aquecimento em presença de ácido sulfúrico (4), ou de mistura de ácido sulfúrico e clorídrico (5).

A *apomorfina* formada pode ser identificada, em meio fracamente básico, por oxidantes como o cloreto mercúrico (4), ou solução de iodo (5), cujo excesso se elimina pelo tiosulfato de sódio. O produto de oxidação é, comumente, verde; pode ser extraído da solução aquosa pelo éter ou álcool amílico, a fim de aumentar a sensibilidade. O extrato etéreo toma a cor púrpura (5).

A reação não ocorre com a *papaverina*, *narcotina*, *tebaína*, nem com substâncias que não tenham estrutura que lhes permita transformar-se em derivados da *apomorfina*.

Além de seletiva, a transformação em *apomorfina* apresenta a vantagem de poder realizar-se com o produto da reação de MARQUIS (6). A combinação das duas técnicas é recomendável quando se dispõe apenas de pequenas quantidades de amostra. A técnica de MARQUIS, descrita anteriormente, já prevê esta combinação.

Técnica — Colocar em cápsula de porcelana pequena quantidade da substância sólida, ou evaporar a solução adicionada. Cobrir o resíduo com 2 a 3 gotas de ácido sulfúrico concentrado. (A combinação com a técnica de MARQUIS começa neste ponto). Aquecer até começar o escurecimento do líquido. Depois de resfriar, adicionam-se 5 ml de solução saturada de acetato de sódio, para neutralizar, e duas gotas de cloreto mercúrico a 5%. Aquecer até a fervura.

Obtém-se, com a *morfina*, seus éteres e ésteres, coloração verde que passa a amarela com adição de sulfeto de sódio. (4).

Sensibilidade — 20 microgramas de *morfina* (4).

C — *Reação de oxidação em meio sulfúrico concentrado*

Nessas reações a *morfina* transforma-se em substâncias de cor característica, na ausência de impurezas que interfiram na coloração. O selenito e molibdato de amônio, em presença de ácido sulfúrico, são os oxidantes ideais para a *morfina* pura.

O reagente de FROHDE (molibdato em meio sulfúrico) provoca uma sequência de reações, observadas pelas mudanças de coloração. Da cor violácea, inicial passa para verde acastanhado e amarelo. Podem identificar-se 5 microgramas do alcalóide (7); com técnica especial, identificam-se 0,05 microgramas (3).

O reagente de MECKE (selenito em meio sulfúrico) é menos sensível e específico para a *morfina*, mas permite boa diferenciação da *codeína* e *dionina*.

Técnica — Colocar a amostra sólida na depressão de uma placa de toque. Adicionar 1 a 2 gotas do reagente e espalhá-lo com um bastão de vidro. Em presença de *morfina* observa-se cor violácea que passa a verde acastanhada e a amarelo.

Reagente — Dissolver 1 g de molibdato de amônio em 10 ml de ácido sulfúrico concentrado.

D — *Reação de oxidação em meio aquoso*

Essas reações são devidas à hidroxila fenólica da molécula de *morfina*. Poderia ser identificada, direta e especificamente, pela ortonitrosação seguida da formação de um quelato com o íon cobalto, tratando a *morfina* pelo cobalto-nitrito de sódio em meio acético (8). Mas a presença de substâncias fenólicas, entre as impurezas que acompanham a *morfina* extraída de material biológico, impede esta evidência direta e obriga à identificação do alcalóide previamente separado por cromatografia.

São preferidas as reações que envolvem toda a molécula, e indiretamente a hidroxila fenólica, mesmo que as condições da reação favoreçam à hidrólise dos ésteres da *morfina*, que passarão a reagir, também.

Usam-se como oxidantes a água oxigenada e o ácido iódico.

1 — Oxidação por peróxido de hidrogênio

DÉNIGÈS (9) propôs a utilização da capacidade oxidante do peróxido de hidrogênio, em presença de íon cobre, para a identificação de compostos fenólicos e aminados cíclicos, através da formação de produtos coloridos, quinônicos ou iminoquinônicos. OLIVER (10) melhorou a sensibilidade aumentando, gradativamente, a quantidade de íon cupramínico presente, e eliminando seu excesso pela introdução de cianeto de potássio.

A reação ocorre com a *morfina* e seus ésteres (*heroína* e *acetilmorfina*) e com a *apomorfina*. Não reagem a *codeína*, *dionina*, *dicodide* e *eucodal* (1); com estes dois últimos a coloração obtida é muito fraca (11), o “*dilaudid*” apresenta coloração amarela característica (11).

Técnica (10) — Colocar num tubo de ensaio de 5 ml de capacidade a solução do alcalóide em ácido sulfúrico 0,1 N. Adicionar uma ou duas gotas de água oxigenada a 10 volumes e amônea suficiente para alcalinizar. Agitar com arame de cobre, enrolado em espiral, até que a solução fique rósea. Adicionar uma gota de KCN a 5%, para melhor observar a coloração vermelha. Esta coloração passa a castanha.

Sensibilidade — 30 microgramas para a *morfina* (9)

2 — Oxidação pelo ácido iódico

A solução aquosa de ácido iódico foi proposta por SELMI (12) e por outros autores como reagente específico da *morfina*. Embora haja certa seletividade na ação oxidante deste ácido, a *eserina*, a *geneserina*, a *pseudomorfina*, a *apomorfina* e várias substâncias redutoras são capazes de reduzi-lo também. Os próprios ésteres da *morfina* (*heroína* e *acetilmorfina*) reagem, embora lentamente, devido à hidrólise.

GUARINO (13) tornou específica a reação controlando o tempo de ação do ácido iódico, para evitar oxidação da *heroína* e *acetilmorfina*, e identificando o produto da reação (provavelmente um ortodifenol) pela ação complexante do cloreto de ferro em pH controlado. Essas reações sucessivas foram experimentadas com 2.000 substâncias sem que se observasse comportamento idêntico ao da *morfina* (14). A mesma sucessão de reações foi aplicada (15) para a determinação colorimétrica da *morfina*, empregando-se o níquel por metal complexante.

A *pseudomorfina* e a *apomorfina* reagem com o ácido iódico, mas não formam complexos com o Ni (15); a *normorfina*, a *N-alilnormorfina*, a *diidromorfina*, a *diidromorfinona*, a *heterocodeína*, a *heteroetilmorfina* e a *diidroheterocodeína* formam complexos com o Ni mas não são oxidadas pelo ácido iódico (15). A utilização do Ni requer maior contrôlo de pH mas permite dosar até 50 microgramas em 10 ml de solução (15), e a coloração do complexo destaca-se melhor das colorações estranhas.

Técnica — adaptada de GUARINO — O resíduo obtido da evaporação da solução do alcalóide é dissolvido em 2 ml de ácido clorídrico 0,1 N. Adicionam-se 0,2 ml de ácido iódico e 0,5 ml de solução de carbonato de amônio, exatamente dois minutos depois da primeira adição. Juntam-se 0,1 ml de solução de cloreto de ferro. Em presença de *morfina*, observa-se coloração vermelho-violeta. A adição de ácido acético pelas paredes produz coloração verde esmeralda na camada aquosa, colorindo-se o ácido de vermelho-violeta. A divisa dos líquidos colore-se de violeta.

Reagentes — Solução de ácido iódico — a 5% em água.
Solução de carbonato de amônio — saturada.
Cloreto férrico, solução a 0,1%.

Microscopia de cristais

A *morfina* pode ser identificada, com facilidade, pela observação dos cristais obtidos com diversos reagentes. Geralmente, emprega-se este processo de identificação, quando se deseja diferenciar a *morfina* dos seus derivados que dão reações químicas semelhantes.

Podem empregar-se como reagentes: o poliiodeto de bismuto (16), o brometo de mercúrio (16) (17), o cloreto de paládio (18) e outros (21). Prefere-se o poliiodeto de cádmio (16) (3) (19) (20) e o poliiodeto de potássio (3) (18) (19).

O poliiodeto de cádmio, reativo de MARMÉ, diluído 1:9, precipita a morfina em agulhas características (ver figura 111) semelhante às obtidas com o emprêgo do cloreto de cádmio (17).

Entre nicóis cruzados, os cristais apresentam birrefringência fraca, extinção paralela e sinal de elongação negativo. A vantagem deste reagente é distinguir a *morfina* da *codeína*, da *heroína* e de outros alcalóides. Sensibilidade: 0,025 microgramas (3).

O poliidoto de potássio, reagente de WAGNER, é mais conveniente para diferenciar a morfina e da codeína, e da diosmina. É menos sensível (19) que o de MARMÉ, mas apresenta uma forma bastante característica. (Ver figura 071). Entre nicóis cruzados, apresenta birrefringência fraca; a opacidade dos cristais dificulta a determinação das propriedades óticas. Observando-se com um só nicol, girando-se o cristal no campo do microscópio, observa-se o efeito de dicroísmo. Sensibilidade: 0,1 microgramas (3).

BIBLIOGRAFIA

- 1 — BAMFORD, Frank — *Poisons; their isolation and identification*, 3.^a Ed. revista por C. P. Stewart, London, J. & A. Churchill Ltda., 1951.
- 2 — FERREIRA, Joaquim Martins — Trabalho não publicado.
- 3 — CLARKE, E. G. C., WILLIAMS, Margaret — *Microchemical tests for the identification of alkaloids*, The Journal of pharmacy and pharmacology, (1955), 7 (4):255-62.
- 4 — DENIGÉS, G. — *Aplication et extension de la reaction de l'apomorphine de Grimbert-Leclère pour les alkaloids et l'adrenaline* J. Pharm. Chim., (1919), 19:49.
- 5 — PELLAGRI — apud. Bamford.
- 6 — DOURIS, Roger — *Toxicologie moderne*, 2.^a Ed., Paris, Vigot frères, 1951.
- 7 — OGIER, J., KOHN-ABREST, E. — *Traité de chimie toxicologique*, 2.^a Ed. Paris, G. Doin, 1924.
- 8 — FEIGL, Fritz — *Organic, Spot test analysis*, Analytical Chemistry, (1955), 27:1315-8.
- 9 — DENIGÉS, G. — *Une nouvelle reaction pour la morphine*, Bull. Soc. Pharm. Bordeaux, 5:465-8, apud. C. A. 5:567.
- 10 — BAMFORD, Frank — *The Denigés-Oliver test for morphine*, Analyst, (1931), 56:586-9.
- 11 — KING, J. — *The identification of dicodid, eucodid and Dilaudid*, Analyst, (1931), 56:498-503.
- 12 — ROCHE, R. — *Formulaire général des réaction et réactifs chimiques et microscopiques*, Paris, Librairie Bernard Tignol, 1905.
- 13 — GUARINO, S. — *A new specific reaction of morphine*, Boll. soc. ital. biol. sper., (1945), 20:754-7, apud. C. A., 40:6753.
- 14 — JAVICOLI, I. — *Experimental study of the "new specific reaction of morphine" of Guarino*, Boll. Soc. ital. Biol. sper., (1946), 21:815-17.
- 15 — PRIDE, R. A., STERN, E. S. — *A specific method for the determination of morphine*, J. of Pharmacy and Pharmacology, (1954), 6:590-606.
- 16 — BELLOW — Comunicação privada.
- 17 — WHITMORE, W. F., WOOD, C. A. — *Chemical microscopy of some toxicologically important alkaloids*, Mikrochemie, (1939). 27:249-334.
- 18 — PUTT, Earl B. — *Microchemical tests for the identification of some of the alkaloids*, J. Ind. Eng. Chem. (1912), 4:508-12.

- 19 — KEENAN, George L., — *Microscopic identification of morphine*, The Chemist Analyst, (1949), 38 (3):59 e 62.
- 20 — GLYCART, Chris K. — *Report on microchemical test for alkaloids*, Journal of the Association of Official Agricultural Chemist, (1927), 10:370-4 e (1928), 11:352-5.
- 21 — FULTON, C. C. DALTON, J. B. — *Microcrystal identification test for morphine, heroine, dilaudid and cocaine*. J. of crim. law and criminology, (1941), 32:358-65.

APOMORFINA

A *apomorfina* é o produto de desidratação da *morfina*; apresenta como característica estrutural grupamento orto-difenólico, responsável pelas melhores reações químicas de identificação. Os processos de microscopia dos cristais e fisiológicos são inferiores aos processos químicos.

Processos Químicos

A — *Reação de condensação com aldeídos*.
Reação de MARQUIS.

A *apomorfina* condensa-se com o aldeído fórmico, em presença de ácido sulfúrico, produzindo coloração vermelha que passa ao violeta. A reação é comum a todos os derivados da *morfina*, e alcalóides do ópio, servindo como reação de grupo.

Técnica — Ver em *morfina* (página 53).

B — *Reação de grupamento orto-difenólico*

Os orto-difenóis gozam das propriedades da função fenólica e das propriedades especiais que se originam da posição orto de suas hidroxilas. Dentre estas destacamos a de sua fácil oxidação, dando produtos intensamente coloridos, e a de formarem complexos com os compostos de antimônio e bismuto (1).

GRIMBERT e LECLÉRE (2) propuseram para a *apomorfina* o cloreto mercúrico como oxidante em presença de acetato de sódio. O aquecimento produz um produto de oxidação de cor azul, que passa ao álcool amílico colorindo-o de azul esver-

deado. A reação foi aproveitada, para a identificação da *morfina* e seus derivados, depois de transformados em derivados da *apomorfina*.

O ácido iódico, utilizado como reagente inicial para a identificação específica da *morfina* (3), reage com a *apomorfina* dando um produto azul esverdeado, que se precipita, quando neutralizado.

Os oxidantes, em geral, oxidam a *apomorfina* dando um produto de coloração verde. A técnica de GRIMBERT e LECLÉRE (2) apresenta a vantagem de maior seletividade e sensibilidade. Reagem, também, dando produtos de cor vermelha: a *adrenalina*, a *cinchonina* (4) e a *brucina*; mas somente a *apomorfina* apresenta a coloração azul em álcool amílico.

Técnica — Ferver em tubo de ensaio, 1 ml de solução com 1 gôta de cloreto mercúrico e duas gotas de acetato de sódio. Na presença de *apomorfina* forma-se produto de coloração azul. Adicionando-se 3 gotas de álcool amílico e agitando-se observa-se que a camada alcoólica apresenta coloração azul esverdeada.

Sensibilidade — Concentração limite: 2 mg/litro (2)

Reagentes — Solução de cloreto mercúrico — 5%.
Solução de acetato de sódio — 10%.

Microscopia de cristais

A *apomorfina* precipita com alguns reagentes dando cristais típicos.

O cloreto (5), o brometo (6) e o iodeto de ouro (7) são utilizados para a observação imediata, mas apresentam o inconveniente de oxidar, lentamente, o alcalóide.

O cloreto de ouro (figura 041), forma cristais fortemente birrefringentes que servem, muito bem, para a identificação, pela extinção oblíqua que apresentam, ao lado da elongação positiva. O brometo e o iodeto de ouro são mais sensíveis: 0,05 microgramas (6), 1 micrograma (7).

CLARKE e WILLIAMS (6) recomendam, também, o poliiodeto de bismuto, reativo de KRAUT, para identificar até 0,05 microgramas do alcalóide; a A.O.A.C. oficializou o emprêgo do iodeto de potássio (5), apesar de sua pequena sensibilidade.

BIBLIOGRAFIA

- 1 — FEIGL F. — *Chemistry of Specific, Seletive and Sensitive Reactions* New York, Academic Press Inc. Publi., 1949.
- 2 — GRIMBER, L., LECLÉRE, A. — *Une reaction extrêmement sensible pour l'apomorphine*, J. Pham. Chim. (1915), II — 23-4.
- 3 — GUARINO, S. — *A new specific reaction of morphine*, Boll. Soc. ital. biol. sper., (1945), 20:754-7.
- 4 — OCIER, J., KOHN-ABREST, E. — *Traité de chimie toxicologique*, 2.^a Ed. Paris, G. Doin, 1924.
- 5 — GLYCART, C. K. — *Report on microchemical test for alkaloids*, Journal of the Ass. of Official Agricultural chemist, (1937), 20:551-3.
- 6 — CLARKE C. G., WILLIAMS M. — *Microchemical tests for the identification of alkaloids*. The Journal of pharmacy and pharmacology 1955, 7 (4):255-62.
- 7 — WACENAAR M. — *Microchemical reactions of apomorphine*, Pharm. Weekblad, (1930), 321-2.

PSEUDOMORFINA

A *pseudomorfina*, conhecida como oxidimorfina, oximorfina e deidromorfina é o produto de oxidação branda da *morfina*. Possui fórmula dimolecular de *morfina*, de estrutura não conhecida com certeza (1). É melhor identificada por processos químicos.

A — Reação de condensação

A *pseudomorfina* condensa-se com o aldeído fórmico, em meio sulfúrico (reação de MARQUIS), produzindo coloração diferente das observadas com os demais derivados da *morfina*. A tonalidade é violácea com laivos verdes (2), e não vermelha. A fim de comprovar a reação de MARQUIS, para a *pseudomorfina*, adiciona-se ao produto da reação um pequeno cristal de permanganato de potássio (2); ou gota de ferricianeto de potássio (3). Normalmente, observa-se coloração violeta; existindo *pseudomorfina* aparece uma coloração verde azulada (2).

A presença de *pseudomorfina* pode ser confirmada empregando-se outros aldeídos, para a condensação; a escolha judiciosa destes permite identificar a *pseudomorfina* em presença da *morfina* ou dos seus derivados. A vanilina em meio clorídrico (0,3%) produz a 100° C coloração verde intensa

com a *pseudomorfina* (4); a sensibilidade da reação não é muito grande (4). O ácido glioxílico, a 100° C, em meio de ácido sulfúrico, provoca coloração verde (5).

Técnica — Colocar a substância sólida num tubo de ensaio de 5 ml de capacidade, adicionar 1 ml do reativo de SANCHEZ (6) e aquecer em banho-maria a 100° C, durante dois minutos. Em presença de *pseudomorfina* observa-se coloração verde.

Reagentes — SANCHEZ — 0,3 g de vanilina puríssima, em 100 ml de ácido clorídrico concentrado.

B — Reações de oxidação

Sendo a própria *pseudomorfina* produto de oxidação da *morfina*, é natural que suas reações de oxidação sejam diferentes. Isto verifica-se, principalmente, com o reagente sulfo-molibdico (2), que com a *pseudomorfina* dá fraca coloração castanha, reagindo melhor com a *morfina*.

C — Reação em meio sulfúrico-anidrido acético

Observaram, LEURIER e DREVON (7) que a *pseudomorfina* forma com anidrido acético, em presença de ácido sulfúrico, produto de côr violeta, que permite identificar “especificamente” pequenas quantidades de *pseudomorfina*. Aproveitou-se a mesma reação para a dosagem colorimétrica do alcalóide (8) em quantidades superiores a 20 microgramas, o que permite avaliar a sensibilidade do processo.

Técnica — Dissolver a substância em 2 ml de ácido sulfúrico concentrado, em tubo de ensaio seco e de capacidade conveniente. Resfriando a solução e evitando mistura adicionam-se 0,1 a 0,2 ml de anidrido acético sobre o ácido, impedindo qualquer aquecimento. Observa-se, na divisa dos líquidos, coloração violeta que, com o tempo, se difunde por toda a massa.

BIBLIOGRAFIA

- 1 — BENTLEY, K. W. — *The Chemistry of the morphine alkaloids*, Oxford, Claredon Press, 1954.
- 2 — BAMFORD, Frank — *Poisons; their isolation and identification*, 3.^a Ed. Revista por C. P. Stewart, London J. & A. Churchill Ltda., 1951.

- 3 — GRIMBERT, L., LECLÉRE, A. — J. Pharm. Chim., (1914), 10(7):425.
- 4 — DREVON, M. B. — *A propos de la réaction vaniline chlorohydrique de la morphine. Action différentielle de quelques aldehydes aromatiques sur la morphine et l'oxydimorphine* — J. de Pharmacie et de Chimie (1937), (8), 26:292-9.
- 5 — PESEZ, M. M. — *Two new reagent which differentiate morphine from oxydimorphine*, J. Pharm. et de Chimie, (1938), 27:255.
- 6 — SANCHEZ Jaun A. — *Étude chimique fonctionnelle de la morphine; Nouvelle réaction colorée de la morphine et de ses dérivés pseudoliques; son étude critique*, J. Pharm. et de Chimie, (1937), (8), (25:346-51).
- 7 — LEURIER, A., DREVON, B. — *Reactif de Marquis et l'oxydimorphine*. Bul. Soc. Chim. Biol., (1932), 24:521.
- 8 — DREVON, B. — *Méthode de dosage de l'oxydrimorphine*, J. Pharm. et Chimie, (1935), 22:97-106.

DIONINA

A *dionina* difere da *morfina* pela esterificação de seu grupo fenólico. As reações de identificação da *morfina*, devidas à hidroxila fenólica, não ocorrem com a *dionina*.

A *dionina* difere da *codeína*, por possuir um grupo etoxila. As reações químicas de condensação de transformação em *apomorfina*, de oxidação em meio sulfúrico concentrado, são comuns a todos os éteres da *morfina*, não servindo para distingui-los uns dos outros. Há de recorrer-se à microscopia dos cristais, ou à identificação específica de sua etoxila.

Processos Químicos

A — Reação do grupamento etoxila

O ácido sulfúrico possui ação hidrolisante que liberta o álcool etílico da etoxila. Este pode ser oxidado à aldeído, e como tal identificado fora do meio da reação (1). Escolhem-se reativos de aldeído que não reajam com o aldeído fórmico, que poderia originar-se de metoxilas existentes em outros derivados da morfina.

SANCHEZ (2) recomenda a execução da reação em meio aquoso diluído, usando o dicromato de potássio e destilando o produto da reação. O aldeído destilado, proveniente da etoxila, pode ser identificado pela fucsina descorada.

FEIGL e SILVA (1) empregam técnica mais aperfeiçoada, para a *dionina*, identificando o aldeído acético pela reação com o nitroprussiato de sódio e morfolina, ou piperazina. Nenhum outro alcalóide do ópio apresenta esta reação. É preciso evitar a presença de qualquer vestígio de álcool etílico capaz de falsear o resultado.

Técnica (1) — Colocar em microtubo, 1 gôta da solução, ou alguns miligramas da substância sólida. Adicionar a solução de dicromato de potássio e colocar na boca do tubo um papel contendo uma gôta da solução reagente. Aquecer em banho-maria e observar a coloração azul no papel, característica do aldeído acético desprendido.

Sensibilidade — 200 microgramas (1)

Reagentes — 1 g de dicromato de potássio dissolvido em 7,5 ml de ácido sulfúrico concentrado; completar o volume a 60 ml. Solução reagente: Misturar partes iguais das seguintes soluções: a) nitroprussiato de sódio a 5%, b) morfolina a 20%.

Microscopia de cristais

A *dionina* pode ser diferenciada dos alcalóides do ópio pela microscopia dos cristais. Esta distinção é importante, quando se suspeita da presença da *codeína* (metoxi-morfina), quimicamente semelhante à *dionina* (etoxi-morfina).

Podem usar-se como reagentes o brometo de platina (3), o cloreto mercúrico (4), o poliodeto de cádmio (5) ou o poliodeto de potássio (4) (6). Este último é particularmente recomendável, pois produz cristais característicos (figura 074), bem diferentes dos obtidos com a *codeína*.

O poliodeto do alcalóide, observado entre nicóis cruzados, apresenta-se em cristais muito birrefringentes, dicróicos, que se extinguem paralelamente aos nicóis e apresentam sinal de elongação negativo. As propriedades óticas são diferentes das observadas com a *codeína*, além de serem de mais fácil determinação.

BIBLIOGRAFIA

- 1 — FEIGL, Fritz — *Spot test in Organic Analysis*, 5.^a Ed., Amsterdam, Elsevier Pu. Co., 1956.
- 2 — SANCHEZ, J. — *Investigaciones analíticas de Química funcional organica*, Buenos Aires, El Ateneo, 1937.

- 3 — WHITMORE, W. F., WOOD, C. A., *Chemical microscopy of some toxicologically important alkaloids*, Mikrochemie, (1939), 27:249-334.
- 4 — GLYCART, Chris, K. et al., *Report on microchemical test for alkaloids*, Journal of the Association of official agricultural Chemist, (1927), 10:370-4; (1928), 11:353-5.
- 5 — BELLOW — Comunicação privada.
- 6 — PUTT, Earl B. — *Microchemical tests for the identification of some of the alkaloids*, J. Ind. Eng. Chem., (1912), 4:508-12.

CODEÍNA

A *codeína* difere da *morfina* pelo grupo fenólico eterificado. Os outros éteres da *morfina* (etil e benzil morfina) são menos importantes.

Os processos químicos de identificação, baseados na estrutura da molécula são iguais aos da *morfina*, diferindo apenas aqueles que envolvem, diretamente, a hidroxila fenólica; isto é: oxidação pela água oxigenada em presença de íon cobre, e as reações sucessivas com ácido iódico, carbonato de amônio e cloreto férrico.

Diferenciam-se os éteres da morfina (*codeína*, *dionina* e *peronina*), mais facilmente, pela microscopia dos cristais, pois as reações químicas diferem pouco umas das outras, e as propriedades fisiológicas não permitem diferenciação.

Processos Químicos

A — Reação de condensação com aldeído em meio sulfúrico

A *codeína* reage com o aldeído fórmico, em meio sulfúrico, dando coloração vermelho-violácea semelhante à observada com a *morfina* e seus derivados. A substituição do aldeído fórmico pelo ácido glioxílico (1) permite observar diferentes colorações com os alcalóides do ópio. A vanilina em meio clorídrico (2) tem ação seletiva sobre a hidroxila alcoólica da *codeína*, *dionina*, *peronina*, *morfina*, e *heroína*; não reagindo, porém, com a *apomorfina*, *diidromorfinona*, *diidrocodeinona* e *diidroxicodeinona* (2); a sensibilidade desta reação é, entretanto, inferior à da reação com ácido sulfúrico formulado.

Técnica — SANCHEZ (2) — Colocar pequena quantidade da substância sólida num tubo de ensaio e introdu-

zir 1 ml do reagente. Agitar e colocar o tubo em banho-maria a 100° C. Depois de alguns minutos, obtém-se coloração vermelha-violácea muito estável.

Reagente — 0,3 g de vanilina puríssima, em 100 ml de ácido clorídrico concentrado.

B — Transformação em apomorfina

Pode diferenciar-se a *codeína* dos alcalóides de estrutura diferente da *morfina*, por transformar-se em derivado da *apomorfina*. Reagem do mesmo modo a *morfina*, *heroína*, *acetilmorfina*, *dionina* e *peronina*.

Técnica — Ver sob *morfina* (página 57).

C — Reação de oxidação em meio sulfúrico concentrado

Os éteres da *morfina* reagem melhor com o ácido sulfosselenioso, produzindo colorações verdes que permitem distingui-los dos outros derivados da *morfina*.

Observam-se colorações esverdeadas com a *apomorfina*, *dionina*, *morfina*, *mescalina* (3), *narcotina*, *tebaína* e *narceína* (4). Entretanto, é distinta a coloração verde obtida com os éteres morfínicos; quando puros, pode-se diferenciá-los dos outros alcalóides.

A identificação do aldeído fórmico produzido pela hidrólise da metoxila, em meio sulfúrico, e oxidação pelo peróxido de benzoíla (5), serve para os éteres da *morfina*.

Vários alcalóides do ópio apresentam idêntica reação, por exemplo: a *codeína*, *narcotina*, *narceína*, *papaverina*; mas, entre os alcalóides capazes de transformar-se em *apomorfina*, unicamente a *codeína* fornece o formaldeído.

O aldeído fórmico pode ser identificado, especificamente, pelo ácido cromotrópico em meio sulfúrico, podendo utilizar-se da reação para diferenciar a *codeína* da *dionina*; porque o grupo metila ligado ao nitrogênio cíclico dos derivados da *morfina* não interfere, não se transformando em aldeído fórmico.

Técnica — Colocar a substância sólida, ou evaporar a solução problema, na depressão da placa de toque. Adicionar 2 gotas do reagente sulfosselenioso. Em presença de *codeína*, observa-se coloração verde esmeralda.

Reagente — MECKE — 1 g de ácido selenioso em 200 ml de ácido sulfúrico concentrado.

LAFON — Dissolver 1 g de selenito de amônio em 20 ml de ácido sulfúrico concentrado (7).

Técnica — (FEIGL - SILVA) — Evaporar num tubo para gôta pendente, a gôta da solução, ou alguns miligramas de sólido. Adicionar uma gôta de H_2SO_4 concentrado e 1 gôta da solução de peróxido de benzoíla. Colocar, em seguida, como gôta pendente, uma solução de ácido cromotrópico em ácido sulfúrico concentrado. Aquecer em banho de óleo a 120-130° C, durante 1 a 3 minutos. Em presença de *codeína* observa-se coloração violácea na gôta pendente.

Sensibilidade: 40 microgramas.

Reagentes — Solução de peróxido de benzoíla a 10% em benzeno. Solução saturada, recém-preparada, de ácido cromotrópico em ácido sulfúrico.

Microscopia de cristais

É particularmente recomendada para diferenciar a *dionina* da *codeína*, e dos demais alcalóides do ópio.

Podem empregar-se por precipitantes o ácido picrolônico (8), o poliodeto (8) ou o brometo mercúrico (9). Os cristais obtidos com o poliodeto de cádmio e poliodeto de bismuto são melhores para a identificação (10) (11) (4). O cloreto paladoso, também, pode ser usado.

Os cristais obtidos com o poliodeto de cádmio (fig. 112), são pequenos, formam agregados irregulares, e apresentam propriedades interessantes, quando observados entre nicóis cruzados. A birrefringência é fraca, a extinção oblíqua e o sinal de alongação negativo. Difere, óticamente, da *morfina* e da *coniina* por apresentar a extinção oblíqua. A sensibilidade seria de 0,05 microgramas (4), concentração limite de 1.000 p. p. m. (13).

O poliodeto de potássio forma com a *codeína* precipitado amorfo que cristaliza aos poucos em lâminas amareladas, ramificadas, contrastando com os cristais obtidos com a *dionina*. Os cristais (figura 073), quando observados entre nicóis cruzados, apresentam birrefringência fraca, extinção paralela e alongação de difícil determinação. As propriedades óticas permitem distinguir, muito bem, a *codeína* da *dionina*. A sensibilidade é menor que a conseguida com o poliodeto de cádmio, cerca de 0,1 microgramas (4).

BIBLIOGRAFIA

- 1 — PESEZ, Maurice. — *Nouveau reagent pour differencier la morphine de la oxydimorphine*. J. Pharm. Chim. (1938), 27 (8):255-62., apud C. A. 32:8078.
- 2 — SANCHEZ, Juan. — *Étude chimique fonctionnelle de la morphine. Nouvelle reaction colorée de la morphine et de ses dérivés pseudoliques; son étude critique*, J. Pharm. Chim., (1937), (8) 25:346-51.
- 3 — GONZALES, Thomas, A., MORGAN, Vance, HELPERN, Milton e UMBERGER, Charles, J. — *Legal Medicine, Pathology and toxicology*, 2.^a Ed., New York, Appleton Century, Inc., 1954.
- 4 — CLARKE, E. G. C. WILLIAMS, Margaret — *Microchemical tests for the identification of alkaloids*. The Journal of Pharm. and Pharmacology, (1955), 7 (4), 255-62.
- 5 — FEIGL, F. — *Spot test in Organic Analysis*, 5.^a Ed., Amsterdam, Elsevier Pu. Co., 1956.
- 6 — LAFON, Compt. Rendus de l'Academie des Sciences, (1885), 100:1543.
- 7 — MECKE — *Ein neues Reagens auf Alkaloide, Nachweis von Opium*, Chemisches Zentralblatt (1899), 70 (II) — 683-6.
- 8 — BAMFORD, Frank — *Poisons; their isolation and identification*, 3.^a Ed., revista por C. P. Stewart, London, J. & A. Churchill Ltd., 1951.
- 9 — WHITMORE, W. F., WOOD, C. A. — *Chemical Microscopy of some toxicologically important alkaloids*, Microchemie, (1939), 27:249-334.
- 10 — GLYCART, Chris K. et al. — *Report on microchemical test for alkaloids*, Journal of the Association of Official Agricultural Chemist, (1928), 11:253-4.
- 11 — BELLOW — Comunicação privada.
- 12 — PUTT, Earl B. — *Microchemical tests for the identification of some of the alkaloids*, J. Ind. Eng. Chem. (1912), 4:508-12.
- 13 — WAGENAAR, M. — *Microchemical reactions of codeine*, Pharm. WEEKBLAD, (1927), 64:671.

HEROÍNA

A heroína, diacetilmorfina, difere da morfina por suas duas hidroxilas esterificadas. A acetilmorfina, outro éster da morfina, é menos importante.

Os processos químicos de identificação assemelham-se aos da morfina, mesmo os baseados na hidroxila fenólica, devido à facilidade de hidrólise dos ésteres. Existem, entretanto, grandes diferenças no comportamento químico da heroína, devidas ao grupo éster da molécula. A microscopia dos cristais é recomendável, principalmente, para distinguir a heroína da acetilmorfina.

Processos Químicos

A — Reação de condensação com aldeído — Reação de MARQUIS

A *heroína* comporta-se como a *morfina*, produzindo um produto de cor vermelha violácea com o aldeído fórmico em presença de ácido sulfúrico (Reativo de MARQUIS). O ácido glicoxílico, em meio sulfúrico, produz coloração que desaparece pela diluição (1), distinguindo-se, pois, da *morfina*.

Técnica — (MARQUIS) — Ver em *morfina*.

B — Transformação em apomorfina

A *heroína* tratada com ácido sulfúrico ou clorídrico nas condições expostas para a *morfina*, transforma-se em *apomorfina*, e como tal pode ser identificada. Esta reação é útil na diferenciação da *heroína* dos alcalóides que possuem estrutura diferente da *morfina*. Pode realizar-se com o produto da reação de MARQUIS. Ver a técnica sobre *morfina* (página 57).

C — Oxidação em meio de ácido sulfúrico concentrado

Os ácidos sulfomolíbico, sulfosselenioso, sulfovanádico oxidam a *heroína* dando produtos coloridos que diferem dos obtidos com outros derivados da *morfina*. A sensibilidade das reações é muito pequena, e as colorações obtidas são inexpressivas, principalmente em presença de impurezas.

D — Oxidação em meio aquoso

A *heroína* não apresenta hidroxila fenólica livre, não reage com o cloreto férrico em meio aquoso, e não reduz o ácido iódico imediatamente. Tal comportamento permite diferenciá-la da *morfina*.

GUARINO (2), ao propor sua reação específica para a *morfina* (oxidação com ácido iódico, ajuste de pH e ação do cloreto férrico), salienta que o tempo de contato com o ácido iódico, em meio ácido, deve ser apenas de dois minutos, a fim de evitar que a *heroína* possa reagir.

A facilidade da hidrólise da função éster permite que a *heroína* apresente algumas oxidações típicas da função fenólica. Tanto ela como a *acetilmorfina* são oxidadas pelo peróxido de hidrogênio em presença de íon cupramínico (reação de OLIVER & DÉNIGÈS) (3) (4). Esta reação só ocorre com a

morfina, *apomorfina*, “*dilaudid*”, *acetilmorfina* e *diacetilmorfina* (*heroína*).

BAMFORD (5) salienta o fato da coloração vermelha obtida com a *heroína* persistir durante cerca de meia hora, enquanto que as colorações obtidas com outros alcalóides modificam-se passando ao castanho. Este comportamento corrobora na diferenciação da *heroína*.

Técnica — Ver sob *morfina* (página 57).

E — *Reação do grupamento éster*

Podem identificar-se os ácidos orgânicos e seus derivados pela transformação em ácidos hidroxâmicos, por meio da hidroxilamina em solução alcalina. Os ácidos hidroxâmicos reagem com cloreto férrico produzindo complexos coloridos (6).

Vários alcalóides são estéres, podendo ser identificados pela transformação dos respectivos ácidos em derivados hidroxâmicos: *ioimbina*, *arecolina*, *cocaína*, *hiosciamina*, *hioscina*, *atropina*, *heroína*, *acetilmorfina*, *reserpina*. Os anestésicos derivados do ácido para-aminobenzóico e a colchicina, que possui função amida, reagem da mesma maneira (7).

Nem todos os ésteres reagem com a mesma facilidade (7); podem reagir outras substâncias sem serem ésteres, propriamente ditos; o cloreto férrico reage, ainda, com outras substâncias (7), prejudicando a observação da reação.

A técnica proposta por WACHSMUT (8), para a identificação da *heroína*, parece ser mais seletiva, pelas condições mais brandas de hidrólise alcalina, do que a técnica adotada por FEIGL para os ésteres em geral (6).

Deve completar-se a identificação da *heroína* por sua transformação em *apomorfina* e pela microscopia de cristais.

Técnica (8) — Colocar 1 ml da solução em tubo de ensaio. Adicionar 0,1 ml de hidróxido de sódio; agitar e acidular com 0,1 ml de ácido clorídrico. Adicionar 2 gotas de cloreto férrico e observar a cor violeta característica da *heroína*.

Sensibilidade — 10 microgramas em 10 ml (8).

Reagentes — Soluções de cloridrato de hidroxilamina a 3%, de hidróxido de sódio 1 N, de ácido clorídrico 1 N, de cloreto férrico a 3%.

Microscopia de cristais

Indica-se para a *heroína* a microscopia de cristais; principalmente, tendo em vista sua distinção da *acetilmorfina*.

São poucos os reativos capazes de originar precipitados adequados. O ácido cloroplatínico foi proposto (9) e citado como reagente (10), embora seja difícil a precipitação da forma cristalina desejada. WHITMORE & WOOD (11) propuseram o brometo de platina, para concentração limite de 0,3%, mas os resultados não satisfazem. São reagentes razoáveis o poliodeto de mercúrio, reagente de MAYER (12) (13), e o poliodeto de bismuto, reagente de KRAUT (12).

O melhor precipitante para a *heroína* é o poliodeto de cádmio, segundo opinião unânime dos químicos atuais. Formam-se cristais filiformes, às vezes recurvados (figura 113), que, entre nicóis cruzados, apresentam birrefringência fraca, extinção paralela e elongação negativa. Pode usar-se, o cloreto de cádmio (11), mas a sensibilidade é inferior.

Também, pode usar-se o cloreto de ouro, em ácido clorídrico concentrado, ou o picrato de sódio (13) (14).

BIBLIOGRAFIA

- 1 — PESEZ, Maurice — *Two new reagents which differentiate morphine from oxydimorphine*, J. Pharm. Chim., (1938), (8), 72:255-62, apud. C. A., 32:8078.
- 2 — GUARINO, S. — *A new specific reaction of morphine*, Boll. soc. ital. biol. sper. (1945), 20:654-7, apud. C. A., 40:6753.
- 3 — DÉNIGÉS, George — *Une nouvelle réaction pour la morphine*, Bull. soc. pharm. Bourdeaux, (1911), 50:465-8, apud. C. A., 5:567.
- 4 — OLIVER — The Lancet, (1914), 11:244.
- 5 — BAMFORD, Frank — *Poisons; their isolation and identification*, 3.^a Ed., revista por C. P. Stewart, London, J. & A. Churchill Ltda., 1951.
- 6 — FEIGL, F., ANGER, V., FREHDEN, O. — *Mikrochemie*, (1934), 15:12.
- 7 — GONZALES, Thomas A., MORGAN, V., HELPERN, M. e UMBERGER, C. J. — *Legal Medicine, Pathology and toxicology*, 2.^a Ed., New York, Appleton Century Croft. Inc., 1954.
- 8 — WACHSMUTH, H. — *A very sensitive reaction of diacetylmorphine*, J. Pharm. Belg., (1953), 8 (11-12):569.
- 9 — PUTT, Earl B. — *Microchemical tests for the identification of some of the alkaloids*, J. Ind. Eng. Chem. (1912), 4:508-12.
- 10 — Official methods of analysis of the Association of official Agricultural Chemist. 8.^a Ed., A. O. A. C., 1955.
- 11 — WHITMORE, W. F., WOOD, C. A. — *Chemical Microscopy of some toxicologically important alkaloids*, Mikrochemie, (1939), 27:249-334.
- 12 — WILLIAMS, G. D., FULTON, C. C. — *Microscopic identification of heroin*, Amer. J. Pharm., (1933), 105:436-40.
- 13 — BELLOW — Comunicação privada.
- 14 — FULTON, C. C., DALTON, J. B. — *Microcrystal identification test for morphine, heroin, dilaudid and cocaine*, J. of crim. law and criminology, (1941), 32:358-65.

TEBAÍNA

A *tebaína* é um éter enólico da *codeinona*, transformando-se nesta por hidrólise. Apesar de apresentar estrutura semelhante a da *morfina*, a *tebaína* não se transforma em *apomorfina*; é diferenciada quimicamente dos outros derivados da *morfina* pela reação com ácidos minerais.

As reações químicas permitem melhor identificação.

Processos Químicos

A — Reação com ácidos minerais

A *tebaína* tratada com ácidos minerais (sulfúrico, clorídico), apresenta coloração vermelha alaranjada.

O mecanismo da reação não está definitivamente estabelecido. Supõe-se que haja uma reação de condensação, através de produtos intermediários.

São, relativamente, poucos os alcalóides que formam produtos coloridos pela ação do ácido sulfúrico puro, e mais raros ainda os que reagem com o ácido clorídrico concentrado, por exemplo: a *colchicina*, a *veratrina* e a *emetina*. A reação com o ácido clorídrico é portanto mais aconselhável.

A ação dos ácidos minerais sobre a *tebaína* mascara tôdas as reações de condensação que utilizam o ácido sulfúrico ou clorídrico concentrados: ácido sulfúrico formolado e vanilina clorídrica (1). As reações de oxidação em meio sulfúrico ficam, igualmente, prejudicadas.

Técnica — Colocar num tubo de ensaio pequena quantidade da substância sólida, ou evaporar a seco a solução desta substância; adicionar 1 ml de ácido clorídrico concentrado e aquecer em banho-maria; observa-se coloração alaranjada, em presença de *tebaína*.

B -- Reações baseadas na obtenção de derivados da *tebaína*

A *tebaína* pode ser transformada num derivado de caráter aromático, ou num p-alquilfenol, e então identificada.

A *tebaína* não copula normalmente com o sal de diazônio da paranitroanilina. Quando se reduz este alcalóide, em meio clorídrico, com o auxílio de zinco metálico, forma-se um produto bimolecular e aromático de caráter fenólico, capaz de copular com um sal de diazônio (2). Realiza-se, vantajosa-

mente, a reação com o produto obtido pela ação do ácido clorídrico puro.

Fervida com ácido clorídrico diluído, a *tebaína* transforma-se em *tebenina* (3). Sendo esta um para-alkilfenol condensa-se com o alfa-nitroso-beta-naftol, que possui ação específica sobre este tipo de substância (4), por exemplo: a *tirosina*, *veritrol*, *simpatol* e *suprifeno*.

REICHARD (5), propôs o alfa-nitroso-beta-naftol para identificar a *tebaína* em meio clorídrico. Aquece-se a substância sólida, durante dois minutos, com ácido clorídrico a 25% e adiciona-se, quando ainda quente, uma solução alcoólica de alfa-nitroso-beta-naftol a 0,2%. Observa-se coloração vermelha.

A *tebenina*, obtida da *tebaína*, pode ser ainda identificada por reação de copulação, depois de reduzida com zinco. A reação é bastante sensível.

Técnica (6) — Colocar em tubo de ensaio pequena quantidade da substância sólida, ou evaporar a seco sua solução. Juntar 10 gotas de ácido clorídrico concentrado; aquecer em banho-maria, durante 5 minutos, e introduzir um grânulo de zinco. Continuar o aquecimento por mais 5 minutos. Decantar, para separar o zinco, juntar 5 ml d'água, e 1 ml do sal de diazônio; agitar e alcalinizar com gotas de hidróxido de sódio normal.

Reagentes — Sal de diazônio (7) — A) Solução de 5 g de p-nitroanilina em 3 ml de ácido clorídrico; diluir com água até 100 ml. Conservar na geladeira. B) Solução de nitrito de sódio a 0,7%, recém-preparada. Adicionar 1 ml de ácido clorídrico concentrado a 5 ml da solução (A); juntar 5 ml da solução (B) e diluir a 100 ml. Deixar repousar por 2 horas.

Microscopia de cristais

São poucos os reativos que dão precipitados aproveitáveis com a *tebaína*. O cloreto de platina foi proposto por alguns autores (8) (9), mas a precipitação da base livre é mais interessante como meio de identificação (9).

A *tebaína* precipita diretamente das soluções básicas sob a forma de cristais pequenos, prismáticos em rosetas, (figura 153). O álcali empregado é o carbonato de sódio, não sendo necessária nenhuma recristalização com álcool, aquecimento, ou qualquer outro recurso de técnica.

Entre nicóis cruzados, a *tebaína* apresenta pequena birrefringência, extinção paralela e elongação negativa.

Sensibilidade: 0,05 microgramas, usando-se técnica especial (9).

BIBLIOGRAFIA

- 1 — SANCHEZ, Juan A. — *Étude chimique fonctionnelle de la morphine. Nouvelle reaction colorée de la morphine et de ses dérivés pseudoliques; son étude critique*, J. Pharm. Chim., (1937), 25:346-51.
- 2 — BENTLEY, K. W., ROBISON, R., WAIN, A. E., — *The reduction of thebaine and dihydrothebaine by sodium and ammonia*, Journal Chem. Soc., (1952) 958-66.
- 3 — BENTLEY, K. W. — *The chemistry of the morphine alkaloids*, Oxford, Claredon Press, 1954.
- 4 — FEIGL, F. — *Spot tests; Organic applications*, Amsterdam et all. Elsevier. Pub. Co., 1954.
- 5 — REICHARD, C. — *Alkaloids Reactions*, J. Chem Soc., (1906), 90 (11)-909.
- 6 — GONZALES, Thomas, A., MORGAN, V. HELPERN, Nilton, UMBERGER, Charles, J. — *Legal Medicine, Pathology and toxicology*, 2.^a Ed. New York, Appleton Century Crofts, Inc., 1954.
- 7 — SANCHEZ, Juan — *Investigaciones analíticas de Química funcional organica*, Buenos Aires, El Ateneo, 1937.
- 8 — BELLOW — Comunicação privada.
- 9 — CLARKE, E. G. C., WILLIAMS, Margaret — *Microchemical tests for the identification of alkaloids*, The Journal of pharmacy and pharmacology, (1955), 7 (4):255-62.



GRUPO DA ISOQUINOLINA

PAPAVÉRINA

Os processos químicos prestam-se melhor à identificação da *papaverina*. Apesar de encontrar-se entre os alcalóides do ópio, pertence como a *narcotina* ao grupo da quinolina; por isso não produz a coloração característica dos alcalóides fe-nantrênicos do ópio, com ácido sulfúrico e aldeído fórmico. A sensibilidade da reação é menor: forma-se a metilenopapaverina devido à reatividade do grupo $\text{—CH}_2\text{—}$ que une o grupo isoquinolínico ao benzênico.

Processos Químicos

A — Reação de ciclização

Quando se aquece a *papaverina* com anidrido acético, e adiciona-se ácido sulfúrico, forma-se um produto de fluorescência verde amarelada (1). Possivelmente, ocorre uma ciclização e formação de derivado de estrutura semelhante á da *coridalina*, que é fluorescente.

A *papaverina*, como a *narcotina*, oxida-se espontaneamente, até uma substância de fluorescência azul esbranquiçada, maximé em papel de filtro. Aquela fluorescência verde amarelada, obtida com a ciclização, é muito mais intensa e permite identificar até 50 microgramas de *papaverina* (1).

Aperfeiçoamos (2) a técnica, tendo em vista sua aplicação em cromatografia, utilizando o método sugerido por FERREIRA FILHO (13), para reações em meio sulfúrico sôbre papel de filtro sem carbonizá-lo.

Técnica — Sôbre o resíduo sêco no papel de filtro, adicionar uma gôta de anidrido acético e aquecer suavemente, até evaporar o excesso de anidrido. Repetir o tratamento e colocar o papel de filtro entre duas lâminas de vidro molhadas com ácido sulfúrico con-

centrado. Observar a fluorescência verde amarelada à luz ultravioleta. Com o tempo aparece coloração violácea.

Sensibilidade — 10 microgramas (2).

B — *Reação de oxidação da metileno-papaverina*

A *papaverina* pode ser transformada em metileno-di-papaverina pela ação do ácido sulfúrico formolado (3), ou apenas pelo ácido sulfúrico a quente, que vai buscar o aldeído fórmico de uma das metoxilas existentes na própria molécula da *papaverina*.

A metileno-papaverina, quando oxidada, fornece produtos coloridos, comumente azuis, que proporcionam boa especificidade e sensibilidade às determinações da *papaverina*, via metileno-papaverina.

WARREN (4) propôs a identificação da *papaverina* pela oxidação do produto de reação com o ácido sulfúrico formolado, utilizando, como oxidante, um cristal de permanganato de potássio. Obtém-se, desta maneira, coloração azul intensa, que não pode ser confundida com a verde azulada conseguida com a *pseudomorfina* (5), ou outros alcalóides (6). SHU-SING CHENG (7) critica a reação de WARREN pela delicadeza do ensaio, sensível ao excesso e à umidade dos cristais de permanganato empregados, e recomenda o emprêgo do ácido sulfovanádico (R. MANDELIN) como oxidante ideal para a metileno-papaverina.

SANCHEZ (8) propôs uma técnica que, provavelmente, envolve os mesmos fenômenos químicos; passando pela metileno-papaverina, e chegando ao produto final de oxidação com auxílio, apenas, do ácido sulfúrico a quente. A coloração do produto de oxidação é observada após diluição e alcalinização.

SANCHEZ atribuiu a reação à desmetoxilação da *papaverina* e à formação de um anion pouco ionizado em meio ácido e muito ionizado em meio alcalino.

SOBOLEVA (9), recentemente, apresentou uma técnica adequada à determinação colorimétrica da *papaverina*. A metileno-papaverina é obtida pela ação do ácido sulfúrico formolado, e oxidada pela água de bromo. Alcaliniza-se com amônia; o produto colorido pode ser extraído com clorofórmio, e reconhecido pela coloração azul violácea que toma este solvente. Considera-se específica esta reação, e capaz de identificar *papaverina* em soluções de 5 mg/litro (9). A técnica é muito delicada. Preferimos a oxidação e observação direta do produto de reação obtido com o ácido sulfúrico formolado.

Técnica — Ao resíduo obtido pela evaporação da solução de papaverina, base-livre, na depressão de uma placa de toque, adicionar uma gota de ácido sulfúrico formolado; imediatamente depois, adicionar uma gota de solução de vanadato de amônio em ácido sulfúrico. Observa-se, em presença de papaverina, uma coloração azul esverdeada que passa ao azul celeste, e finalmente ao amarelo, depois de algum tempo. Os cloretos, carbonatos e oxalatos interferem.

Reagentes — Ácido sulfúrico formolado: Adicionar 2 a 3 gotas de formalina (40%) a 3 ml de ácido sulfúrico. Ácido sulfovanádico: Dissolver 0,5 g de vanadato de amônio em 100 ml de ácido sulfúrico.

Microscopia de cristais

É mais difícil identificar a papaverina pela microscopia de cristais.

O poliideto de cádmio (10) ou o iodeto de cádmio (11), podem ser utilizados, mas a precipitação é difícil. O cloreto de zinco é considerado o melhor reagente (10(12), capaz de identificar 0,025 *microgramas* do alcalóide (10). Recomenda-se seu emprego com um excesso de ácido clorídrico (12).

Obtivemos excelentes resultados com o ácido pícrico (figura 123). Os cristais, observados entre nicóis cruzados, apresentam birrefringência intensa, extinção paralela e sinal de elongação positivo. As formas cristalinas do próprio ácido pícrico interferem na observação entre nicóis cruzados.

BIBLIOGRAFIA

- 1 — AWE, Walther — *Characterization of papaverine by a color reaction with acetic anhydride and sulfuric acid*, Pharm. Zentralhalle, (1930), 77:157-60, apud, C. A., 30:3744.
- 2 — BASTOS, Milton L., NOBREGA, Paulo, NOBREGA, Alzira F. — Trabalho não publicado.
- 3 — FREUND, M., FLEISCHER, K. — *Synthese hochmolekularer Derivate des Papaverines*, Ber., (1915), 48:40619.
- 4 — WARREN, L. E. — *Laboratory manual for the detection of poisons and powerful drugs*, Tradução americana, 6.^a Ed., Philadelphia, Blakiston's Son & Co., 1928.
- 5 — BAMFORD, Frank — *Poisons; their isolation and identification*. 3.^a Ed., revista por C. P. Stewart, London, J. & A. Churchill, Ltd., 1951.
- 6 — AUTENRIETH, Wilh — *Die Auffindung der Gifte und Stark Wirkender Arzneistoffe zum Gebrauche in chemischen Laboratorien*, 5.^a Ed., L. B. C., Mahr (P. Siebeck), Tubingen, 1923.

- 7 — CHENG, Shu-Sing — *A double coloration test for the differentiation of opium alkaloids*, J. of Amer. Pharm. Assoc. Sc. Ed., (1954), 43:767-9.
- 8 — SANCHEZ, Juan A. — *Investigaciones analíticas de Química funcional organica*, Buenos Aires, El Ateneo, 1937.
- 9 — SOBOLEVA, O. N. — *Colorimetric determination of papaverine and its salts*, Aptechnoe Delo, (1955), 4 (4):37-9, apud. Analytical abst., 3:503.
- 10 — CLARKE, E. G. C., WILLIAMS, Margaret — *Microchemical tests for the identification of alkaloids*, The Journal of Pharmacy pharmacology, (1955), 7 (4):255-62.
- 11 — WHITMORE, W. F., WOOD, C. A. — *Chemical Microscopy of some toxicologically important alkaloids*, Mikrochemie, (1939), 27:249-334.
- 12 — GLYCART, Chris K. et al. — *Report on microchemical test for alkaloids*, Journal of the Association of Official Agricultural Chemist, (1934), 17:433.
- 13 — FERREIRA FILHO, Joaquim Martins — Comunicação privada.

NARCOTINA

Identifica-se melhor a *narcotina* por métodos químicos. Sua estrutura molecular é muito semelhante à da *hidrastina*, da qual difere por um grupo metoxila, vizinho do grupamento éter-metilênico de o-fenol. Em poucas palavras: enquanto a *hidrastina* é um orto-difenol isoquinolínico, a *narcotina* é um trifenol vicinal-isoquinolínico.

Existem reações comuns aos dois alcalóides, por exemplo: as do éter metilênico de o-fenol; entretanto, as de oxidação diferem completamente. Como exemplo, podemos citar a fácil oxidação da *hidrastina* em *hidrastinina*, fluorescente; a *narcotina* também oxida-se dando um produto fluorescente, a *cotarnina*, quando depositada em papel de filtro, mas a velocidade de oxidação é muito menor e menos influenciada pela luz ultravioleta. Em compensação, a *narcotina* dá cristais característicos com mais facilidade do que a *hidrastina*, principalmente quando tratada com solução de carbonato de sódio.

Processos Químicos

A — Reação de grupo característico

A *narcotina* é éter metilênico de o-fenol; êste pode ser hidrolizado pelo ácido sulfúrico e oxidado a aldeído fórmico, que se evidencia pela adição de solução de gaiacol, tanino ou

ácido gálico ao meio, segundo técnica de LABAT (1); forma-se um produto vermelho quando se usa o gaiacol, ou verde esmeralda que passa a azul pelo aquecimento com o ácido gálico. Em presença de impurezas é preferível retirar o aldeído fórmico do meio da reação e fazê-lo reagir, livremente, sobre o ácido cromotrópico em meio sulfúrico (2).

A reação ocorre, também, com a *cotarnina*, *hidrastina*, *hidrastinina*, *berberina*, *quelidonina*, *sanguinarina*, *piperina* e *narceína*.

Técnica — Dissolver o alcalóide em gôta de ácido clorídrico 0,1 N. Juntar uma gôta de solução de ácido gálico e 1 ml de ácido sulfúrico concentrado. Aquecer em banho-maria e observar a côr esverdeada que passa a azul.

Reagente — Solução de ácido gálico a 5% em álcool.

Técnica — FEIGL & HAINBERGER (2) — Colocar em aparelho de absorção de gás, pelo sistema da gôta pendente (3), pequena quantidade de material. Adicionar 1 a 2 gotas de ácido sulfúrico concentrado. Molhar o bastão de absorção de gás, com uma solução recém-preparada de ácido cromotrópico em ácido sulfúrico. Fechar o aparelho e aquecer em banho de óleo, ou glicerina, a 170° C, durante 1 a 10 minutos. O ácido cromotrópico toma côr violeta, mais nítida quando se esfrega o bastão de vidro numa placa de porcelana.

Sensibilidade — 0,2 microgramas (2).

B — Reação de oxidação

Oxidada brandamente pelo ácido nítrico, a *narcotina* transforma-se em *cotarnina* (4). Com outras condições e oxidantes, obtêm-se produtos coloridos que permitem distingui-la da *hidrastina*.

O reativo sulfosselenioso de MECKE tem sido aconselhado para a *narcotina* (5); produz-se coloração azul esverdeada que passa a vermelha. Muitos autores preferem utilizar halogêneos como oxidantes. SANCHEZ (6) usa água de bromo, KOHN ABREST (7) ácido sulfúrico clorado, podendo usar-se, ainda, o ácido sulfúrico adicionado de clorato de potássio (8), para obter o produto colorido. Seguindo-se a técnica de KOHN ABREST, que usa ácido sulfúrico clorado, obtêm-se colorações mais características.

SANCHEZ (6) atribui a reação ao grupo metoxila vizinho do grupo éter-metilênico de o-fenol, porque a *hidrastina*, sem esta metoxila, não reage nas mesmas condições utilizadas para a *narcotina*. Salienta, também, o fato do produto vermelho de oxidação ser extraído pelo clorofórmio, permitindo uma nítida diferenciação da *brucina*, cujo produto de oxidação vermelho é insolúvel neste solvente (6).

Continuam-se a empregar os oxidantes clássicos de MANDELIN e FROEHDE. Usando-os com técnica especial, CLARKE e WILLIAM conseguiram identificar 0,2 e 0,05 microgramas de *narcotina* (9). Não nos satisfazem as colorações obtidas; preferimos utilizar o ácido sulfúrico clorado. Além da *narcotina*, reagem a *narceína* e *brucina*.

Técnica — Ao resíduo seco do alcalóide, adicionar uma gota do ácido sulfúrico saturado de cloro. Em presença de *narcotina*, observa-se coloração violeta que passa a vermelho de vinho.

Reagente — O ácido sulfúrico saturado de cloro, pode ser obtido suspendendo-se uma gota do ácido, com auxílio de bastão de vidro, numa atmosfera contendo cloro, durante 5 minutos.

Microscopia de cristais

A característica mais notável da *narcotina* é sua facilidade de precipitação em meio alcalino sob a forma de agulhas. Nenhum outro alcalóide precipita com tanta facilidade, sem precisar cristalização em álcool ou aquecimento. Usam-se como alcalinizantes: hidróxido de potássio, ou de amônio (10), carbonato de sódio (9), e tetraborato de sódio (11). Os cristais obtidos com os diversos precipitantes equívalem-se (ver figura 154). Observados entre nicóis cruzados, apresentam birrefringência intensa, extinção paralela e sinal de elongação negativo. Sensibilidade: 0,05 microgramas (9).

O cromato de potássio, também, pode ser usado para a precipitação (9); é capaz de identificar 0,05 microgramas do alcalóide (9). Outros reagentes são inferiores.

BIBLIOGRAFIA

- 1 — LABAT, A. — *Sur une reaction de la fonction éther méthylenique dans la serie aromatique*, Bull. Soc. Chim. France, (1909), 5:745.
- 2 — FEIGL, F. HAINBERGER — *Nachweis von o-diphenolmethylenather*, Mikrochimica Acta, (1955), 4:806-11.

- 3 — FEIGL, F. et al. — *Spot tests; Inorganic applications*, 4.^a Ed., Amsterdam, Elsevier Publishing Co., 1954.
- 4 — HENRY, T. A. — *The plant alkaloids*, 4.^a Ed., London, J. & A. Churchill Ltd., 1949.
- 5 — SCOTT, W. — *Standard methods of chemical analysis; "Poisons"*, por Arthur R. Haas, New York, D. van Nostrand, Co. Inc., 1950.
- 6 — SANCHEZ, J. A. — *Investigaciones analíticas de Química funcional orgánica*, Buenos Aires, El Ateneo, (1937).
- 7 — KOHN ABREST — *Précis de toxicologie* 3.^a Ed., PARIS, G. Doin & Cie, 1955.
- 8 — ALLEN, A. H. — *Allen's commercial organic analysis; The vegetable alkaloids*, vol. VII, Philadelphia, Toronto, P. Blakiston's Son Co., (1923-33).
- 9 — CLARKE, E. G. C., WILLIAMS, N. — *Microchemical tests for the identification of alkaloids*, The Journal of pharm. and pharmacology, (1955), 7 (4):255-62.
- 10 — GLYCART, Chris K., et al. — *Report on microchemical tests for alkaloids*, Journal of the Association of Official Agricultural Chemist, (1939), 22:706-9.
- 11 — WHITMORE, W. F., WOOD, C. A. — *Chemical Microscopy of some toxicologically important alkaloids*, Mikrokhemie, (1939), 27:249-334.

NARCEÍNA

Pode identificar-se, facilmente, a *narceína* pela ação do iodo. Combina-se este processo químico de identificação com a observação microscópica dos cristais formados.

Estruturalmente, a *narceína* assemelha-se à *narcotina*, apresentando algumas reações em comum: de grupo característico e de oxidação pelo ácido sulfúrico clorado (1).

Processos Químicos

A — Reação de grupo característico

A *narceína* é éter metilênico de o-fenol. Este grupo fornece de hidrólise o aldeído fórmico, identificável pela técnica de LABAT (2), ou pelo processo de FEIGL & HAINBERGER (3). Reagem ainda: *hidrastina*, *hidrastinina*, *narcotina*, *berberina*, *cotarnina*, *quelidonina*, *sanguinarina*, *piperina* e vários alcalóides das lauráceas e amarilidáceas que possuem o mesmo grupo.

Técnica — Ver em *narcotina*, à página 75.

B — Formação de composto de adsorção

A amina terciária da *narceína* parece responsável pela formação de compostos de adsorção com o iôdo.

É bem conhecida a capacidade de formação de compostos de adsorção de iôdo, a moléculas que possuem um átomo de oxigênio, nitrogênio ou enxôfre que servem de ponte entre duas partes da molécula (4). Sua formação depende, geralmente, de solventes adequados, sendo mais freqüente em solventes orgânicos.

O iôdo em meio etéreo reage com a *quinina*, *emetina*, *esparteína*, e *narceína*. KOHN ABREST (1) recomenda-o para identificar quantidades da ordem de 10 microgramas de *narceína*: a formação do produto de adsorção pode verificar-se pela coloração azul, que não ocorre com nenhum outro alcalóide, exceto a *hiosciamina* quando adsorvida em papel de filtro.

Ao contrário do que acontece com outros alcalóides, a *narceína* adsorve iôdo mesmo de soluções aquosas (5) (6); SANCHEZ (5) preconiza o emprêgo de soluções 0,01 N de iôdo, para observação da coloração azul, e refere-se à sua destruição pela amônia.

Observamos que se pode obter a reação, em papel de filtro, pela ação dos vapores de iôdo ou de solução aquosa de iôdo 0,01 N, e na própria lâmina utilizada para a microscopia de cristais, com a solução de iôdo adequada à obtenção de precipitados cristalinos. Fornecem ainda compostos de adsorção azuis com a *narceína* outros reagentes utilizados na microquímica dos cristais, por exemplo: soluções de iodeto de zinco e de chumbo.

Na prática, procuramos observar a coloração azul por ocasião da microscopia de cristais; pois é a solução de iôdo o reagente de precipitação que fornece com a *narceína* cristais mais característicos, comumente azulados.

Técnica — Colocar uma gota da solução do alcalóide em papel de filtro, secar, e submeter o papel aos vapores de iôdo. Em presença de *narceína* e *hiosciamina* observa-se coloração azul.

Microscopia de cristais

A *narceína* pode ser identificada pelo cloreto de platina (7), pelo iodeto de chumbo (8), iôdo-iodeto de zinco (7), poliiodeto de potássio (7) (8) e ácido arsenomolibdico (7).

FULTON (7) considera o iôdo-iodeto de zinco o melhor reagente para a *narceína*. O poliiodeto de potássio é muito

eficiente; fornece agulhas azuladas (figura 072) que, observadas entre nicóis cruzados, apresentam birrefringência fraca, extinção paralela e alongação negativa. Sensibilidade: 0,025 microgramas (8).

A narceína fornece produto de adsorção azul, tanto com o iodo-iodeto de potássio quanto com os demais iodetos; de zinco, de chumbo etc. A cor azul é uma característica importante, vantajosamente observada na técnica da microscopia de cristais. Com o iodeto de chumbo: identificam-se até 0,05 microgramas do alcalóide (8).

BIBLIOGRAFIA

- 1 — KOHN-ABREST E. — *Précis de toxicologie* 3.^a Ed. PARIS, G. Doin & Cie, 1955.
- 2 — LABAT, A. — *Sur une réaction de la fonction éther méthylénique dans la série aromatique*. Bull. Soc. France, (1909), 3:745.
- 3 — FEIGL, F. — *Chemistry of specific, selective and sensitive reaction*, New York, N. Y. Academic Pres Inc. Publishers, 1949.
- 4 — FEIGL, F. — HAINBERGER — *Nachweis von o-diphenolmethylenather*, Mikrochimica, (1955), 4:806-11.
- 5 — SANCHEZ, F. A. — *Investigaciones analíticas de Química funcional organica*, Buenos Aires, El Ateneo, 1937.
- 6 — FABRE, R. REGNIER, M. T., CHERAMY, P. — *Léçons de Toxicologie*, Paris, Hermann & Cie, Editeurs, 1943.
- 7 — GLYCART, Chris K. et al. — *Report on microchemical tests for alkaloids*, Journal of the Association of official Agricultural Chemist, (1939), 22:706-9.
- 8 — CLARKE, E. G. C., WILLIAMS, Margaret — *Microchemical tests for the identification of alkaloids*, The Journal of pharmacy and pharmacology, (1955), 7 (4):255-62.

HIDRASTINA

Os processos químicos de identificação da *hidrastina* são superiores aos cristalográficos. A melhor reação é sua transformação em *hidrastina*, fluorescente.

Processos Químicos

A — Reação de grupo característico

A *hidrastina* é um éter metilênico de o-fenol, capaz de libertar aldeído fórmico pela ação do ácido sulfúrico.

LABAT (1), evidencia o formaldeído com o gaiacol, tanino ou ácido gálico, obtendo, a quente, com o primeiro, coloração vermelha, com os dois últimos, coloração verde intensa, que passa a amarelo pela adição de sulfito de sódio. É preferível isolar o aldeído fórmico do meio da reação, para evitar interferência de impurezas que possam reagir com o ácido sulfúrico. Melhor é reconhecê-lo, pelo ácido cromotrópico em solução sulfúrica, depois de destilá-lo.

A reação ocorre com a *narceína*, *narcotina*, *hidrastinina*, *canadina*, *berberina*, *cotarnina*, *quelidonina*, *sanguinarina*, *piperina* e com vários alcalóides das lauráceas e amarilidáceas.

Técnica de LABAT — Dissolver a substância sólida em 1 gota de álcool. Adicionar 1 gota de solução alcoólica de ácido gálico e 1 ml de ácido sulfúrico concentrado. Observar, imediatamente, a cor inicial e sua alteração pelo aquecimento, passando a azul.

Reagentes — Solução de ácido gálico — 5 g em 100 ml de álcool, ou solução de gaiacol.

Técnica de FEIGL-HAINBERGER (2) — Em aparelho de absorção de gás, pelo sistema da gota pendente (3), colocar pequena quantidade de material. Adicionar 1 a 2 gotas de ácido sulfúrico concentrado. Molhar o bastão de absorção de gás com solução sulfúrica de ácido cromotrópico. Fechar o aparelho e aquecer a 170° C em banho-óleo, ou de glicerina, durante 1 a 10 minutos. O ácido cromotrópico toma coloração violeta, que se observa melhor quando se espalha a gota pendente em placa de porcelana.

Reagentes — Solução saturada de ácido cromotrópico em ácido sulfúrico, preparada no momento de usar.

Sensibilidade — 0,2 microgramas (2).

B --- Reação de oxidação — Transformação em *hidrastinina*

A *hidrastina*, tratada com solução aquosa e ácida de permanganato de potássio, transforma-se em *hidrastinina* que apresenta intensa fluorescência azul (4), visível em concentrações inferiores a 50 mg/ litro (5).

Verificamos que a simples ação da luz ultravioleta acelera a oxidação do alcalóide ao ar, quando se lhe expõe uma gota da solução em papel de filtro. Pode identificar-se em presença de outras substâncias fluorescentes, incluindo a *hidrastinina*,

quando se cobre parcialmente, o local da mancha; a parte descoberta apresentará maior intensidade de fluorescência. A *berberina*, que poderia interferir devido à grande intensidade de sua fluorescência amarela, fica adsorvida ao papel de filtro e localiza-se no centro da mancha, espalhando-se a *hidrastina* pela periferia; a fluorescência azul da *hidrastinina* circunda a mancha fluorescente da *berberina* (5).

Técnica — Colocar sobre papel de filtro uma gôta da solução de *hidrastina*. Cobrir a mancha, parcialmente, com uma moeda e submetê-la à ação da luz ultravioleta, durante 10 minutos. Comparar a fluorescência da parte exposta com a da parte recém-descoberta. O tempo de exposição pode ser abreviado tocando-se a mancha com um bastão de vidro molhado em permanganato de potássio 0,01 N; a reação neste caso é menos seletiva. A *narceína* e *narcotina* não interferem.

Oxidação em produto mais complexo

O reativo de MANDELIN provoca coloração vermelha acastanhada, que passa a alaranjado e a amarelo esverdeado. Empregando-se técnica especial identifica-se até 0,1 microgramas de alcalóide (5).

Serve esta reação para diferenciar a *hidrastina* da *hidrastinina*, quando não se dispõe de luz ultravioleta. A *narcotina* apresenta, também, coloração avermelhada com o reagente.

Microscopia de cristais

A *hidrastina* forma cristais característicos com o ferro-cianeto de potássio, em meio clorídrico (6) (7) (8); usando-se técnica especial, identificam-se 0,5 microgramas do alcalóide (6). A forma dos cristais pode ser vista na figura 164. Este é considerado o melhor reagente microquímico para a *hidrastina*. Sua reação com outros alcalóides pode ser estudada no trabalho de COLE (9).

O carbonato de sódio pode ser usado para precipitar a base livre (6). A cristalização é difícil; somente empregando-se a técnica proposta por CLARKE e WILLIAMS (6) e BAMFORD (4), conseguem-se cristais de *hidrastina*. Caso contrário, obtêm-se apenas cristais de carbonato de sódio, estes, entre nicóis cruzados, apresentam sinal de elongação contrário ao da *hidrastina* (10). A sensibilidade é de 0,5 microgramas (6).

BIBLIOGRAFIA

- 1 — LABAT, — N. A. — *Sur une réaction de la fonction éther méthylénique dans la série aromatique*, Bull. Soc. Chim. France, (1909) 5:745-6.
- 2 — FEIGL, Fritz — HAIMBERGER, L., *NACHWEIS von o-diphenolmethylenather*, Mikrochimica Acta, (1955), 906-11.
- 3 — FEIGL, Fritz, — *Spot tests, Organic Applications*, 4.^a Ed., Tradução de Ralph Oesper, Amsterdam et al., Elsevier Publishing Co., 1954.
- 4 — BAMFORD, Frank — *Poisons; their isolation and identification*, 3.^a Ed., revista por C. P. Stewart, London, J. & A. Churchill Ltd., 1951.
- 5 — BASTOS, Milton L. — *Identificação simultânea da berberina, hidrastina e hidrastinina em plantas*, Rio de Janeiro, C. N. E. P. A., Boletim do Instituto de Química Agrícola, (1956), 46:9-13.
- 6 — CLARKE, E. G. C., WILLIAMS, Margaret — *Microchemical tests for the identification of alkaloids*, The Journal of pharmacy and pharmacology, (1955), 7 (4):255-62.
- 7 — KEENAN, George L. — *Notes on the microscopy of some important alkaloids* The Chemist analyst, (1951), 4 (1):4-14.
- 8 — GLYCART, Chris K. et all. — *Report on microchemical test for alkaloids*, Journal of the Association of official agricultural Chemist. (1937), 20:551-3.
- 9 — COLE, H. I. — *Potassium ferrocyanide as a reagent in microscopic qualitative chemical analysis of the common alkaloids*, Philippine Journal of Science, (1923), 23:97-101.
- 10 — WINCHELL, Alexandre N. — *The optical properties of organic compounds*, 2.^a Ed., New York, Academic Press Inc., Publishers, 1954.

HIDRASTININA

A hidrastinina é produto de oxidação da hidrastina. Apresenta como característica principal, fluorescência azul que não se intensifica, no papel de filtro, pela ação dos raios ultravioletas, nem por fenômeno de adsorção, como acontece com a berberina. Este comportamento é singular, porque existem três estruturas na hidrastinina que correspondem às da berberina (1).

Processos Químicos

A — Reação de grupo característico

A hidrastinina conserva o grupo éter-metilênico de o-fenol da hidrastina. Este grupo fornece, por hidrólise, o aldeído fórmico identificável pela técnica de LABAT (2), ou pelo pro-

cesso de FEIGL & HAINBERGER (3) que utiliza o ácido cromotrópico, para identificar o aldeído destilado.

A *hidrastina*, *narceína*, *berberina*, *cotarnina*, *quelidonina*, *sanguinarina*, *piperina* e vários alcalóides das lauráceas e amarilidáceas, que possuem o mesmo grupo, reagem da mesma maneira.

Técnica — Ver em *hidrastina*, à página 80.

B — Reação de oxidação

O reagente de MANDELIN provoca com a *hidrastinina* coloração alaranjada que passa a verde pálido. É interessante notar que estas cores assemelham-se às finais da mesma reação com a *hidrastina*, não se observando as colorações transientes.

A reação permite diferenciar a *hidrastinina* de outros alcalóides como a *hidrastina* e *cotarnina*.

Empregando-se técnica especial, conseguem-se identificar 0,05 microgramas do alcalóide (4).

Microscopia de cristais

A *hidrastinina* forma cristais mais facilmente que a *hidrastina*. O cloreto mercúrico precipita-se em agulhas transparentes que se ramificam, rapidamente, em soluções neutras ou fracamente ácidas (4) (5). Usa-se, também, o permanganato de potássio por precipitante (4) (5), mas há, então, maior interferência das impurezas redutoras.

Pode usar-se o ferrocianeto de potássio, em meio clorídrico a 5%, para identificação da *hidrastinina* (5); com a vantagem de precipitar, também, a *hidrastina* (5). Entretanto, a reação é menos sensível do que a de outros reagentes.

BIBLIOGRAFIA

- 1 — HENRY, Thomas Anderson — *The Plant alkaloids*, 4.^a Ed., London, J. & A. Churchill, 1949.
- 2 — LABAT, M. A. — *Sur une réaction de la fonction éther méthylénique dans la série aromatique*, Bull. Soc. Chim. France, (1909), 5:745-6.
- 3 — FEIGL, Fritz, HAINBERGER, L. — *Nachweis von o-Diphenolmethylenather*, *Mikrochimica Acta*, (1955), 906-11.
- 4 — CLARKE, E. G. C. — WILLIAMS, Margaret — *Microchemical tests for the identification of alkaloids*, *The Journal of pharmacy and pharmacology*, (1955), 7 (4):255-62.
- 5 — GLYCART, Chris K. et al. — *Report on microchemical test for alkaloids*, *Journal of the Association of Official Agricultural Chemists*, (1938), 21:525-7.

BERBERINA

Reconhece-se, facilmente, a *berberina*, por sua fluorescência. Os processos químicos de identificação são inferiores aos cristalográficos.

Fluorescência

A *berberina* apresenta fluorescência amarela que se intensifica, quando a solução salina é colocada em papel de filtro. A concentração limite de identificação é de 0,33 mg/litro (1).

A fluorescência amarela é pouco comum entre os alcalóides; sua intensificação, quando adsorvida em papel, amido, ou talco, (1), é atribuída ao deslocamento do equilíbrio entre as diversas formas tautômeras (forma aldeído), base amônio quaternário, carbinol, favorável à formação do composto mais fluorescente. Esta singular intensificação de fluorescência, não ocorre com outros alcalóides que possuem, também, três formas tautômeras, por exemplo: a *hidrastina*.

A *berberina* adsorve-se fortemente ao papel de filtro. Aproveita-se esta propriedade quando se deseja identificá-la em presença de outras substâncias interferentes; colocando uma gota da solução em papel de filtro, há fixação da *berberina* e difusão dos interferentes por efeito capilar. Dêste modo, sua fluorescência amarela pode ser observada em presença de outras substâncias fluorescentes (7).

Processos Químicos

A — Reação de grupo característico

A *berberina* tem a função de éter metilênico de o-fenol, capaz de hidrolisar-se em aldeído fórmico, pelo ácido sulfúrico. O aldeído pode ser evidenciado adicionando-se-lhe solução de gaiacol, tanino ou ácido gálico, pela técnica de LABAT (2), formando-se produto vermelho (com gaiacol), e verde esmeralda que passa ao azul pelo aquecimento (com ácido gálico). É preferível isolar o aldeído fórmico do meio da reação, para evitar a interferência de impurezas que reagem com o ácido sulfúrico, identificando-o pelo ácido cromotrópico em solução sulfúrica (3).

A reação ocorre ainda com a *narcotina*, *hidrastina*, *hidrastina*, *cotarnina*, *quelidonina*, *sanguinarina*, *piperina*, *canadina*, mas nenhuma dessas substâncias apresenta as propriedades fluorescentes da *berberina*.

Técnica — Dissolver o alcalóide, em gôta de ácido clorídrico 0,1 N. Adicionar gôta de solução alcoólica do reagente e 1 ml de ácido sulfúrico concentrado. Observar a côr, após a adição dos reativos e depois de aquecimento em banho-maria.

Reagente — Solução alcoólica de ácido gálico a 5%.

Técnica — FEIGL & HAINBERGER (3) — Colocar em aparelho de absorção de gás, pelo sistema de gôta pendente (4), pequena quantidade de material. Adicionar 1 a 2 gotas de ácido sulfúrico concentrado. Molhar o bastão de absorção de gás com a solução recém-preparada de ácido cromotrópico em ácido sulfúrico. Fechar o aparelho e aquecer em banho de óleo, ou de glicerina, a 170° C, durante 1 a 10 minutos. O ácido cromotrópico toma coloração violeta, de mais fácil observação quando a gôta pendente é espalhada em placa de porcelana.

Sensibilidade — 0,2 microgramas (3).

Microscopia de cristais

Apesar de inferior aos processos químicos, a microscopia de cristais presta-se à identificação da *berberina* em cortes de plantas. Serve de precipitante o ácido nítrico diluído (uma parte de ácido na densidade 1,4 e 2 partes de água). Forma-se o nitrato de berberina, muito menos solúvel que o cloridrato ou o sulfato. Forma agulhas (ver figura 122).

Observando-se à luz polarizada e nicóis cruzados, nota-se birrefringência intensa, extinção paralela e sinal de elongação negativo.

Pode usar-se, ainda, o ácido cloroplatínico para a identificação da berberina. Formam-se agulhas irradiantes de um só centro, quando se deixa evaporar completamente a solução. Entre nicóis cruzados, os cristais apresentam birrefringência intensa, extinção paralela e sinal de elongação negativo. Empregando-se um só nicol, pode observar-se o dicróismo.

CLARKE (9) recomenda, também, o ácido pícrico e o cianeto de ouro, que fornecem com a berberina cristais característicos.

BIBLIOGRAFIA

- 1 — ZOCHER, H. TOROK, C. — *Algumas experiências sôbre relações entre a fluorescência e adsorção*, Anais da Assoc. de Química do Brasil, (1947), 8:6-19.

- 2 — LABAT, M. A. — *Sur une reaction de la fonction éther méthylénique dans la serie aromatique*, Bull. Soc. Chim. France, (1909), 5:745-6.
- 3 — FEIGL, Fritz, HAIMBERGER, L. — *Nachweis von o-Diphenolmethylenäther*, Microchimica acta, (1955), 806-11.
- 4 — FEIGL, Fritz — *Spot tests, Organic Applications*, 4.^a Ed., Tradução de Ralph E. Oesper, Amsterdam, Houston, London, New York Elsevier Publishing Co., 1954.
- 5 — OTTO, Ess. Schwiz. Apoth. Ztg., (1918), 56:104.
- 6 — HENRY, Thomas Anderson — *The Plant Alkaloids*, 4.^a Ed., London, J. & A. Churchill Ltd., 1949.
- 7 — BASTOS, Milton L. — *Identificação simultânea de berberina, hidrastinina, e hidrastina em plantas*, Rio de Janeiro, C. N. E. P. A., Boletim do Instituto de Química Agrícola, (1956), 46:9-13.
- 8 — CLARKE, E. G. C. — *Microchemical identification of some less common alkaloids*, J. Pharm. and Pharmacology, (1957), 9:187-92.

EMETINA

Identifica-se melhor a *emetina* por processos químicos. A *cefalina* apresenta reações químicas semelhantes, como é de esperar, pelo fato de diferir da *emetina* apenas pelo grupo fenólico não metilado.

Processos Químicos

A — Reação da oxidação

O permanganato de potássio, dissolvido em ácido sulfúrico (solução a 1%) foi recomendado por DENIGÉS (1) como reagente para a *emetina*; obtém-se coloração violácea. É interessante notar que os oxidantes de potencial de oxidação inferior ao do permanganato de potássio (vanadato e molibdato de amônio) são incapazes de reagir desta maneira. Distingue-se, deste modo, a *emetina* dos alcalóides indólicos, que dão produtos coloridos, e da própria *cefalina*, oxidada pelos oxidantes mais fracos, por possuir hidroxila fenólica.

Técnica — Colocar o alcalóide na depressão da placa de toque e adicionar uma gota do reagente oxidante. Esfregar os reagentes com bastão de vidro e observar a coloração violácea produzida. Repetir a experiência com o reagente de MANDELIN; não se deve obter coloração violeta; observa-se côr verde pálida.

Reagentes — Triturar 50 mg de permanganato de potássio em 5 gotas de ácido sulfúrico concentrado.

MANDELIN — Dissolver 1 g de vanadato de amônio em 100 ml de ácido sulfúrico.

B — *Transformação em derivado da berberina*

SENESTRARI (2) propôs identificar a *emetina* por um produto dotado de fluorescência amarela, que se forma pela ação do iôdo e alcalinização com amônia, e pode ser um derivado da berberina (3). Atribui-se esta propriedade à estrutura isoquinolínica particular da *emetina*, *cefalina*, *canadina*, *coridalina*, *psicotrina*, *ofiocarpina*, *sinactina*, *ceilantifolina* e *coribulbina* (3). A reação é, assim, seletiva para os alcalóides acima.

Técnica (3) — Colocar uma gota da solução de *emetina* em papel de filtro; secar e submeter o papel aos vapores de iôdo, durante 20 minutos; borrifar o papel com solução de amônia (1:3) e secá-lo, em seguida, entre outros papéis. Observar a fluorescência amarela dourada.

Sensibilidade — 0,03 microgramas de cloridrato de *emetina* (3).

Microscopia de cristais

A *emetina* não se presta a ensaios microquímicos baseados em formas ou propriedades óticas de cristais. Seus precipitados geralmente são amorfos. O melhor reagente de identificação é o iodeto de chumbo, proposto por WAGENAAR (4). Obtêm-se bastonetes isolados ou em esferulitos (figura 094). Entre nicóis cruzados, mostram birrefringência fraca e extinção paralela; o sinal de elongação é determinado com dificuldade.

BIBLIOGRAFIA

- 1 — DENIGÉS, George, CHELLE, Louis, LABAT, André — *Précis de Chimie Analytique*, 6.^a Ed., Paris, Editions médicales Norbert Maloine, 1930.
- 2 — SENESTRARI, Frederico — *A fluorescent reaction for the identification of emetine*. Revista da Assoc. bioquímica Argentina, (1942), 8 (24):40-2, apud. C. A., 38:6054.
- 3 — BASTOS, Milton L. — *Contribuição ao estudo e identificação da emetina*. Rio de Janeiro, C. N. E. P. A., Boletim do Instituto de Química Agrícola, (1956), 46:15-23.
- 4 — WAGENAAR, G. H. — *Microchemical alkaloid reactions with a new reagent containing lead iodide*, Pharm. Weekblad, (1939), 76:276-82.

GRUPO DA QUINOLINA

QUININA

Processos Químicos

A — Reação de decomposição

Submetidos à ação do calor, alguns alcalóides decompõem-se libertando produtos de fácil caracterização. Os da quina desprendem característicos vapores vermelhos, côr de vinho. Esta reação foi proposta por GRAHE (1), para a distinção entre as quinas verdadeiras e falsas.

LUIZ FARIA (2) melhorou a técnica e verificou que a *cinchonina* e *quinidina* reagem mais facilmente do que a *quinina* quando se aquecem os sais dos alcalóides, e que a reação se processa melhor em presença de tanino, reproduzindo-se, o mais possível, as condições do ensaio de GRAHE. Segundo FARIA (2), a reação processa-se entre a quinoleína, formada durante a decomposição térmica dos alcalóides, e um produto de decomposição do tanino.

A principal vantagem desta técnica é a distinção das quinas, não exigindo nenhum outro trabalho que o aquecimento à seco. São responsáveis pela reação: a *quinina*, *quinidina*, *cinchonina* e *cinchonidina*.

Técnica (2) — Colocar no fundo de um tubo de ensaio seco, pequena quantidade da droga vegetal, ou de mistura de alcalóide com tanino. Cingir a parte superior do tubo com um pedaço de algodão umedecido. Inclinar o tubo e aquecer sua extremidade inferior. Em presença de alcalóides da quina, observava-se um anel vermelho ou violáceo na parte fria do tubo.

B — Reação de oxidação

A *quinina* e a *quinidina* diferem, estruturalmente, da *cinchonina* e *cinchonidina*, por possuírem função fenólica

metilada. Esta diferença estrutural explica as propriedades químicas da *quinina* e *quinidina* em face dos halogêneos (3). A *cinchonina* e *cinchonidina* não reagem.

O halogêneo proposto inicialmente foi o cloro. DOMINGOS FREIRE e AZEVEDO MONTEIRO (1866) propuzeram o bromo (2).

Aparentemente, trata-se de reação em cadeia. Forma-se, pela oxidação em meio ácido, um produto intermediário quinolínico (4) (5), provavelmente uma acetona dihalogenada (5); esta, reduzida pelo ferrocianeto de potássio, e alcalinizada, produz a eritroquinina (coloração vermelha); alcalinizada apenas pela amônia produz a taleoquinina (coloração verde), e oxidada por excesso de reagente, em meio alcalino, produz outros compostos, desprovidos de interesse analítico.

Reagem da mesma maneira a *quinina*, *quinidina*, *cupreína*, *hidroquinina*, *diquinidina*.

A reação da taleoquinina (coloração verde) realiza-se com mais segurança quando se elimina o excesso de oxidante, antes da alcalinização (6). Elimina-se o bromo, por exemplo, com ácido sulfossalicílico ou fenol.

A reação da eritroquinina (coloração vermelha) é muito mais delicada, tendo influência o pH do meio (4), a relação entre bromo adicionado e alcalóide presente, tempo decorrido entre adição de bromo e de ferrocianeto de potássio, a proporção relativa entre bromo e ferrocianeto, e a quantidade de amônia adicionada, para alcalinizar. É vantajoso saturar o meio, antes da oxidação, de cloreto de amônio, o qual serve, provavelmente, de tampão e absorve o excesso de bromo (6). A reação fica, assim, menos delicada, mais sensível e conveniente.

Técnica — Taleoquinina — Adicionar 3 a 5 gotas de água de bromo a 1 ml da solução de quinina. Adicionar uma gota de solução de fenol, ou um cristal de ácido sulfossalicílico. Alcalinizar com 10 ou mais gotas de amônia e observar a coloração verde produzida.

Reagentes — Solução de fenol a 5%.

Sensibilidade — 10 microgramas (6).

Técnica — Eritroquinina (6) — Saturar 1 ml da solução de *quinina* com cloreto de amônio. Adicionar 3 gotas de água de bromo e 3 gotas de ferrocianeto de potássio. Depois de 10 segundos, aproximadamente, adicionar gotas de amônia e 0,25 ml de clorofórmio. Agitar, enérgicamente, e observar a coloração rósea na camada clorofórmica.

Reagentes — Água de bromo-solução saturada..

Amônia-solução aquosa concentrada.

Ferrocianeto de potássio — 10 g do sal hidratado em 100 ml d'água.

Sensibilidade — 6 microgramas (6).

Técnica em papel de filtro — Colocar uma gota da solução neutra do alcalóide em papel de filtro, ou umedecer com água o alcalóide cromatografado. Submeter a mancha úmida aos vapores de bromo, durante alguns segundos. Esperar que se evapore o excesso de bromo, em seguida, submeter aos vapores de amoníaco. A presença de quinina manifesta-se pela coloração verde da mancha.

Microscopia de cristais

Propuseram-se vários reagentes, para a identificação da quinina. O iodeto de platina (9) apresenta a vantagem de precipitar também a *cinchonina*, facilitando a distinção dos dois alcalóides; é capaz de identificar 0,05 microgramas de alcalóide, mas a cristalização é muito demorada (9). KEENAN (10) propôs a identificação da *quinina* em forma de *tiocianato* e de *sulfato de quinina*. Os cristais obtidos com tiocianato de potássio são realmente valiosos, pois permitem boa distinção da *quinidina*. Entre nicóis cruzados, o sinal de alongação dos da *quinina* e de *quinidina* são diferentes. A forma (figura 161), também, permite boa diferenciação.

O poliiodeto de bismuto dá com a *quinina* cristais típicos, pequenos e opacos (ver figura 101). BELLOW e MORGAN (11) aconselham este reagente.

Os álcalis não precipitam a *quinina* em cristais típicos. Foi proposto o emprêgo do fosfato de sódio com bons resultados (9) (12). Podem identificar-se 0,1 microgramas do alcalóide (9). O ácido cítrico foi, também, recomendado (11). FULTON (13) propôs um reativo, a base de iodo, que serve perfeitamente para a identificação da *quinina*, desde que se tenham concentrações suficientes do alcalóide e cuidados de técnica. Formam-se cristais (figura 063) de *iôdo-sulfato de quinina* que apresentam, notável efeito dicróico, quando observados com um só nicol. Entre nicóis cruzados, observa-se extinção paralela. O sinal de alongação é de difícil determinação.

BIBLIOGRAFIA

- 1 — GRAHE, F. — *Ueber eine neue Reaktion der Chinarinden und Chinabasen*, Chemisches Zentralblatt, (1858):97-100.
- 2 — FARIA, Luiz — *Breve estudo sobre as quinas*, Revista de Química e Farmácia, (1935), I (4): 1-11.
- 3 — FUHNER, H. — *Zur Thalleiochinreaction des Chinins und des Kynure — saurereaction von Jaffé*. Berichte, (1905), 38:2713-15.
- 4 — BARKOVIC, D. — *Quinone reaction of some p-hidroxy-quinoline derivatives*. I — *Identification of quinine and quinidine by means of quinone reaction*, Acta Pharm. Jugoslav. (1951), 1:73-83, C. Abstract, 46:5261.
- 5 — DENIGÈS, G. — CHELLE, L., LABAT, A. — *Précis de Chimie Analytique*, 6.^a Ed., Éditions médicales Norbert Maloine, 1930.
- 6 — BASTOS, M. L. — *Identificação da quinina*. Engenharia e Química (1955), 7 (6):22-4.
- 7 — BARKOVIC, D. — *The Thalleiochin reaction at its 115.^o the anniversary*. Farm. Glasnik (1951), 7:379-81, apud. C. A. 46:10541.
- 8 — SIGEL FILHO, E. — *Contribuição ao estudo farmacoquímico da quinina*, Tese — Curitiba, 1945.
- 9 — CLARKE, E. G., WILLIAMS, Margaret — *Microchemical tests for the identification of alkaloids*. The journal of pharmacy and Pharmacology, (1955), 7 (4):255-62.
- 10 — KEENAN, George — *Notes on the microscopy of some important alkaloids*, The Chemist Analyst, (1951), 40 (2):28-32.
- 11 — MORGAN, Charles — *Comunicação privada*.
- 12 — *Official Methods of Analysis of the Association of Official Agricultural Chemist*, 8.^a Ed., A. O. A. C., 1955.
- 13 — FULTON, Charles C. — *Iodosulfate microchemical identification test for cinchona alkaloids*. Industrial and Engineering Chemistry, Analytical Edition, (1941), 13:848-50.

QUINIDINA

A *quinidina* é isômero da *quinina*. Apresenta as mesmas características reacionais. Analiticamente, pode ser identificada por meio de reação de decomposição, ou de oxidação com halogênios, por exemplo: produção da taleoquinina e eritroquinina descritas para a *quinina*.

BARKOVIC (1) diferencia, quimicamente, a *quinina* da *quinidina* aproveitando a maior estabilidade do produto de oxidação da *quinidina* ao bromo, em condições padronizadas.

Ver a discussão e as técnicas de reação em *quinina*.

Microscopia de cristais

Foram propostos diversos reagentes de precipitação para a *quinidina*: cloreto de ouro (2) (3), iodeto de potássio (4) (5), tiocianato de potássio (3) e carbonato de sódio (4). Obtêm-se cristais com dificuldade, e ainda inferiores aos precipitados pela solução iodo-acética de FULTON (6). O iodeto de potássio precipita, 0,25 microgramas, pela técnica ultra sensível de CLARKE - WILLIAMS (4).

O reagente de FULTON (6) precipita a *quinidina* em cristais característicos, permitindo fácil distinção da *quinina* (ver figura 064).

Os cristais observados com um só nicol não apresentam o dicroísmo típico dos cristais de *iodo-quinina*. Entre nicóis cruzados observa-se birrefringência intensa, e extinção oblíqua, igualmente, útil para distinção dos cristais. A determinação do sinal de elongação é difícil.

BIBLIOGRAFIA

- 1 — BARKOIC, D. — *Quinone reaction of some p-hidroxiquinoline derivatives, II — Differentiation of quinine and quinidine and the basis of the quinone reaction*. Acta. Pharm. Jugoslav. (1951), 1:91-5, apud C. A., 46:5262.
- 2 — BAMFORD, Frank — *Poisons, their isolation and identification*. 3.^a Ed. revista por C. P. Stewart, London, J. & A. Churchill Ltd., 1951.
- 3 — KEENAN, George, L. — *Notes on the microscopy of some important alkaloids*. The Chemist Analyst, (1951), 40 (2):28.
- 4 — CLARKE, E. G. C., WILLIAMS, Margaret — *Microchemical tests for the identification of alkaloids*. The Journal of Pharmacy and pharmacology, (1955) 7 (4), 255-62.
- 5 — GLYCART, Chris K. et al. — *Report on microchemical test for alkaloids*, Journal of the Association of official agricultural chemist (1929), 12:282-4.
- 6 — FULTON, C. — *Iodosulfate microchemical identification test for cinchona alkaloids*. Industrial and Engineering chemistry, Analytical Edition, (1941), 13:848-50.

CINCHONINA

Identificam-se os alcalóides da quina por reações químicas, reservando-se a microscopia de cristais para sua diferenciação.

Processos Químicos

Reação de decomposição

A *cinchonina* e *cinchonidina*, aquecidas em presença de tanino, decompõem-se dando vapores vermelhos, côr de vinho. Esta reação foi proposta por GRAHE (1) para a distinção entre as quinas falsas e verdadeiras, e incluída em nossa Farmacopéia.

LUIZ FARIA (2) melhorou a técnica, preconizando o emprego sistemático do tanino a fim de reproduzir, o mais possível, as condições encontradas no ensaio de GRAHE para as cascas de quina.

Técnica (2) — Colocar no fundo de um tubo de ensaio sêco pequena quantidade da droga vegetal, ou a mistura dos alcalóides com tanino. Cingir a parte superior do tubo com um pedaço de algodão umedecido. Inclinar o tubo e aquecer sua extremidade inferior. Em presença de alcalóides da quina observa-se um anel vermelho a violáceo na parte refrigerada do tubo.

Microscopia de cristais

A *cinchonina* pode ser distinguida dos demais alcalóides da quina pelo iodeto de platina (3)(4), pelo tiocianato de potássio (5) ou pelos cristais obtidos da alcalinização.

Usa-se carbonato de sódio (3)(6), tetraborato de sódio (4), e fosfato dissódico (6). O carbonato dá ótimos resultados, provocando a formação de precipitado em forma de agulhas, freqüentemente irradiando-se de um centro (figura 151). A recristalização em álcool é recomendada.

A observação entre nicóis cruzados permite melhor diferenciação da *cinchonidina*. Os cristais de *cinchonina*, pertencendo ao sistema triclinico, extinguem-se com dificuldade na posição em que são observados, ao contrário do que acontece com a *cinchonidina* cujos cristais são do sistema ortorrômico. A extinção é paralela; birrefringência fraca, o sinal de elongação positivo.

O tiocianato de potássio (5)(7) é mais adequado para distinguir a *cinchonina* da *quinina*. A forma (figura 162), e o tamanho dos cristais permitem fácil distinção.

As propriedades óticas, observadas entre nicóis cruzados, diferem apenas pelo sinal de elongação.

A *cinchonina* forma com o tiocianato cristais muito birrefringentes, que se extinguem paralelamente e apresentam elongação negativa. A sensibilidade é pequena, concentração limite de 33.000 p. p. m. (7).

BIBLIOGRAFIA

- 1 — GRAHE, F. — *Ueber eine neue Reaktion der Chinarinden und Chinabasen*, Chemisches Zentralblatt, (1858):97-100.
- 2 — FARIA, Luiz — *Breve estudo sobre as quinas*, Revista de Química e Farmácia, (1935). I (4):1-11.
- 3 — CLARKE, E. G. C., WILLIAMS, Margaret — *Microchemical tests for the identification of alkaloids*. The Journal of Pharmacy and pharmacology, (1955), 7 (4):255-62.
- 4 — WHITMORE, W. F., WOOD, C. A. — *Chemical Microscopy of some toxicologically important alkaloids*, (1929), 27:249-334.
- 5 — KEENAN, George, L. — *Notes on the microscopy of some important alkaloids*, The chemist Analyst, (1951), 40(1):4-14.
- 6 — Official Methods of analysis of the Association of official Agricultural Chemist, 8.^a Ed., A. O. A. C., 1955.
- 7 — WAGENAAR, M. — *Microchemical reaction of cinchonine*, Pharm. Weekblad, (1929), 250-3.

CINCHONIDINA

Sendo isômero da *cinchonina*, a *cinchonidina* apresenta as mesmas características reacionais.

Pode identificar-se a *cinchonidina* pela reação descrita para a *cinchonina*, *quinina*, e *quinidina*; não reage com os halogêneos, não produz a taleoquinina ou a eritroquinina.

Microscopia de cristais

Distingue-se a *cinchonidina*, melhor, pela microscopia dos cristais. Usa-se o cloreto de platina (1) (2) (3), que não forma cristais característicos com nenhum dos outros alcalóides da quina. Usando-se técnica especial (1) pode-se atingir a um limite de identificação de 0,025 microgramas de alcalóide.

WHITMORE & WOOD propuseram, também, o emprêgo de tetraiodoestanho de sódio e hexaclorostmionito de sódio (2); KEENAN (4) prefere o tiocianato de potássio, FULTON (5), seu reagente a base de iodo. WAGENAAR conseguiu identificar o alcalóide em *concentração limite de 1%* empregando o tiocianato de amônio (6).

Pode identificar-se o alcalóide em forma de base livre, precipitada pelo carbonato de sódio (1) (3), benzoato de sódio (3), ou tetraborato de sódio (2). Deve redissolver-se o precipitado em álcool, para que se observem agregados cristalinos esféricos (figura 152), formados por cristais muito finos

agrupados ao redor do centro. Na fotografia, n.º 152, notam-se alguns cristais de *cinchonina*, presente como impureza. O limite de identificação é de 0,1 microgramas usando-se técnica especial (1).

É particularmente interessante a observação à luz polarizada. Entre nicóis cruzados, os cristais apresentam-se extintos quando paralelos aos nicóis, dando ao conjunto o aspecto de cruz de polarização dos grãos de amido. A extinção é paralela, o sinal de elongação positivo.

BIBLIOGRAFIA

- 1 — CLARKE, E. G. C., WILLIAMS, Margaret — *The Microchemical tests for the identification of alkaloids*. The Journal of Pharmacy and Pharmacology, (1955), 7 (4):255-62.
- 2 — WHITMORE, W. F., WOOD — *Chemical microscopy of some toxicologically important alkaloids*. Microchemie, (1939), 27:249-334.
- 3 — GLYCART, Chris K. et all. — *Report on microchemical test for alkaloids*, Journal of the Association of Official Agricultural Chemist (1929), 12:282-4.
- 4 — KEENAN, George L. — *Notes on the microscopy of some important alkaloids*, The Chemist analyst, (1950), 39 (4):79-87.
- 5 — FULTON, Charles C. — *Iodosulfate microchemical identification test for cinchona alkaloids*. Industrial and Engineering Chemistry, Analytical edition, (1941), 13:848-50.
- 6 — WAGENAAR, M. — *Microchemical reactions of cinchonidine*, Pharm. Weekblad, (1929), 261-4.



GRUPOS DIVERSOS

ESPARTEÍNA

Para identificar a *esparteína* é melhor recorrer à microscopia dos cristais.

Processos Químicos

A — Formação de compostos de adsorção

Os alcalóides que contém nitrogênio heterocíclico terciário têm tendência a formar produtos de adsorção, quando tratados com halogêneos ou enxôfre dissolvidos em solventes orgânicos.

O enxôfre dissolvido em éter (1), em presença de gás sulfídrico, forma compostos de adsorção com a *esparteína* (precipitado vermelho), *atropina* e *coniína*. GRANWAL & VALSER preferem utilizar o polissulfeto de amônio, para identificar a *esparteína* através do produto de adsorção vermelho alaranjado.

Pode usar-se, também, a solução etérea de iôdo, para reagir com alcalóides dissolvidos em éter.

Técnica — A solução que contém alcalóide é alcalinizada com soda cáustica e extraída com éter; êste é seco por sulfato de sódio, filtrado e evaporado à temperatura ambiente. Ao resíduo seco adiciona-se uma gota de polissulfeto de amônio. A presença de *esparteína* provoca coloração vermelha ou alaranjada, o que depende da quantidade do alcalóide.

Reagente — Solução de polissulfeto de amônio, saturado, amarela. Limite de identificação — 0,5 miligramas (2).

B — Reação de oxidação seletiva

Os ácidos sulfovanádico, sulfomolibdico ou nítrico, oxidantes comumente empregados em química toxicológica, não produzem reações coloridas com a *esparteína*. Neste particular, os halogêneos comportam-se diferentemente, talvez por adicionarem-se à molécula do alcalóide.

O iodo, que seria fixado inicialmente com mais facilidade, possui pequeno potencial de oxidação. O cloro oxida facilmente a *esparteína*, quando se emprega técnica utilizada para a identificação da *cafeína*, mas sua fixação inicial é discutida. Entre os dois extremos, o bromo é ideal para a reação, considerada como de oxidação seletiva porque o oxidante é previamente fixado à molécula.

GRANT (3) empregou a água de bromo, para identificar a *esparteína*: o precipitado amarelo obtido, inicialmente, torna-se vermelho, quando seco e submetido aos vapores de amoníaco. COUCH (4) faz a reação em papel de filtro, expondo o alcalóide aos vapores de bromo, amoníaco e, depois, aquecendo-o numa superfície quente. Forma-se mancha vermelha estável.

Observamos (5) que a reação se dá melhor quando se submete a mancha, ainda úmida, aos vapores de bromo, durante um minuto, e alcaliniza-se, rapidamente, com amoníaco. Não compensa substituir o bromo pela solução de hipobromito de sódio a 2%, utilizada em algumas reações em papel. A *emetina*, *quinina*, *cafeína*, *colchicina*, não dão a coloração rósea observada com a *esparteína*.

Técnica (5) — Adicionar uma gota da solução salina do alcalóide ao papel de filtro, ou umedecer, nebulizando com água, o local em que se encontra o alcalóide cromatografado. Submeter o papel à ação dos vapores de bromo, durante 1 minuto, logo em seguida ao amoníaco, durante alguns segundos. Colocar o papel de filtro sobre placa aquecida e observar, depois de algum tempo, o aparecimento de coloração rósea característica da *esparteína* oxidada.

Microscopia de cristais

Pode identificar-se a *esparteína* pelos cristais característicos que forma com o cloreto de ouro (6) (7) (8) (12). São plaquetas freqüentes conjugadas, duas a duas, conforme mostra a figura 042. Entre nicóis cruzados apresentam birrefringência fraca, extinção paralela e sinal de elongação negativo. Limite de identificação de 25 microgramas (10), ou

0,025 microgramas com auxílio de técnica especial (7); concentração limite de 0,1% (11).

O brometo de ouro é reagente mais sensível, precipita mais facilmente o alcalóide, mas torna difícil a observação das propriedades óticas.

O poliodeto de cádmio, reagente de MARMÈ, reage bem com a *esparteína* (6) (7). Formam-se cristais laminares, de bordos irregulares (ver figura 121). Entre nicóis cruzados, mostram birrefringência fraca, extinção oblíqua e sinal de alongação negativo. A extinção oblíqua é fenômeno de grande valor na identificação deste alcalóide. O limite de identificação é 25 microgramas (10); com técnica especial este passa a 0,05 microgramas (7).

Outros autores recomendam, ainda, o cloreto mercúrico (9) (10), para identificar a *esparteína*; limite de identificação: 5 microgramas (10). Na prática não obtivemos precipitados satisfatórios.

BIBLIOGRAFIA

- 1 — JORISSEN, A. — *A reaction of sparteine*, Ann. Chimie. anal., (1911), 16:412-3, apud. C. A., 6:667.
- 2 — HIRT, J. — *Galenical preparations of broom, determination of sparteine and total alkaloids*, Journal Pharm. et Chimie, (1929), 10 (8):11-24 e 145161.
- 3 — SANCHEZ, J. A. — *Investigaciones analíticas de Química funcional organica*, Buenos Aires, El Ateneo, 1937.
- 4 — COUCH, James Fitton — *Note on Grant's test for sparteine*, American J. Pharm., (1925), 97:38-9.
- 5 — BASTOS, Milton L. NOBREGA, Paulo, NOBREGA, Alzira F. — Trabalho não publicado.
- 6 — BAMFORD, Frank — *Poisons, their isolation and identification*, 3.^a Ed., revista por C. P., Stewart, London, J. & A. Churchill Ltd., 1951.
- 7 — CLARKE, E. G. C., WILLIAMS, Margaret — *Microchemical tests for the identification of alkaloids*, The Journal of Pharm. and Pharmacology, (1955), 7 (4):255.
- 8 — GLYCART, Chris K. et al. — *Report on microchemical test for alkaloids*, Journal of Association of official agricultural chemist., (1933), 16:345-6.
- 9 — DUCLOUX, Enrique Herrero — *Notas Microquímicas sobre Dopring*, Buenos Aires, Pouser Ltd., 1943.
- 10 — SCHMID, E. J. — *Estudios sobre el limite de sensibilidad de las reacciones para alcaloides, su aplicacion particular al control de dopring*; Chile, Santiago, Tesis de Químicos Farmaceuticos, (1950), 2:158-79.
- 11 — WAGENAAR, M. — *Microchemical reactions of sparteine*, Pharm. weekblad, (1929), 66:809-12.

ESERINA (FISOSTIGMINA)

Identifica-se a *eserina* melhor por processos químicos, do que por processos cristalográficos. Acreditava-se, mesmo, não existir precipitado cristalino aproveitável para fins analíticos.

Processos Químicos

A — Reação de oxidação

A *eserina*, quando alcalinizada com hidróxido de potássio e aquecida, produz coloração vermelha que passa ao azul. Reação atribuída a VEE. Podem identificar-se, desta maneira, 10 microgramas do alcalóide em 1 ml da solução (1). Passa-se lentamente a reação ao ar, o que parece indicar tratar-se de oxidação, acelerada em meio alcalino.

Quando se aquece a *eserina*, em presença de amônea, e evapora-se à secura, o resíduo é solúvel em álcool, com cor azul; esta solução tratada com ácido acético torna-se dicrótica, isto é: azul violácea por transparência e vermelha por refração.

SANCHEZ (2) explica a reação pela saponificação do grupo $-\text{CH}_2-\text{NH}-\text{COOR}$ da *eserina*, formando-se a *eserolina*, uma oxiquinonimina vermelha, capaz de transformar-se em rubreserina azul, pela ação do ácido acético.

Técnica — Colocar, em micro-cápsula de porcelana, pequena quantidade da substância sólida. Adicionar gotas de amônea e evaporar a secura em banho-maria. Em presença de *eserina* obtém-se resíduo azul, solúvel em álcool; a adição de ácido acético à solução alcoólica provoca o dicroísmo: o líquido fica vermelho por refração e violeta por transparência.

Reagentes — Amônea e ácido acético concentrados.

B — Ação catalítica

A *eserina* catalisa a oxidação da benzidina pela água oxigenada. Assemelha-se pois, às substâncias com atividade de peroxidase, por exemplo: às porfirinas. Semelhança de atividade e de estrutura; a fórmula da *eserina* apresenta a mesma estrutura de heterocíclicos aminados das porfirinas do sangue.

Técnica — Colocar o alcalóide sólido na depressão da placa de toque. Adicionar uma ou duas gotas de

benzidina e uma gôta de peróxido de hidrogênio. Em presença de *eserina* observa-se coloração azul intensa.

Reagentes — Solução acética de benzidina a 2%.
Peróxido de hidrogênio a 3%.

Sensibilidade — Limite de identificação de 20 microgramas (3).

Microscopia de cristais

Durante algum tempo acreditou-se que a *eserina* não fornecia precipitados cristalinos adequados à microscopia. Tentou-se o cloreto de ouro (5) e os resultados aconselharam o emprêgo de outros sais de ouro. O brometo de ouro tem sido cada vez mais empregado (6) (7), com o cuidado de fazê-lo reagir em meio ácido. Sensibilidade: 0,025 microgramas (6). O iodeto de ouro (8) precipita com mais facilidade e possui maior sensibilidade (ver figura 054). Os cristais são opacos e, portanto, não podem ser examinados diretamente no microscópio à luz polarizada, ou entre nicóis cruzados.

O iodeto de chumbo de WAGENAAR (9), ou o de MARTINI (8), também, precipitam a *eserina* (6) (7) (ver figura 093). A sensibilidade é menor: 0,25 microgramas (6) sem técnica especial.

Examinados entre nicóis cruzados, os cristais não apresentam atividade ótica.

BIBLIOGRAFIA

- 1 — OGIER, J. KOHN — ABREST — *Traité de chimie toxicologique*, Paris, G. Doin, 1924.
- 2 — SANCHEZ, J. — *Investigaciones analíticas de Química funcional Organica*, Buenos Aires, El Ateneo, 1937.
- 3 — MOKRAGNATZ — *The nature of the reaction of eserine (physostigmine) With an acetic acid solution of benzidine and hydrogen peroxide, and the possibility of this use*, Bull. Soc. Chim. Biol., (1928), 10:905.
- 4 — ROSENTHALER, Leopold — *Toxikologische Mikroanalyse; qualitative Mikrochemie der Gifte und andere Gerichtliche wichtige stoffe*. Alien Property Custodian: reproduced by J. W. E. Edwards, Ann. Arboss, Mich (1944-6).
- 5 — WAGENAAR, M. — *Microchemical reactions of physostigmine*, Pharm. Weekblad, (1939), 66:381-2.
- 6 — CLARKE, E. G. C., WILLIAMS, Margaret — *Microchemical test for the identification of alkaloids*. The journal pharmacy and pharmacology, (1955), 7 (4):255-62.

- 7 — Official Methods of analysis of the Association of Official Agricultural Chemists, 8.^a Ed., A. O. A. C., 1955.
- 8 — MORGAN, Charles E. — *Methods for the collection and analyses of Horse saliva and urine for the detection of drugs*, New York, Assoc. of official Racing Chemist.
- 9 — WAGENAAR, G. H. — *Microchemical alkaloids reactions with a new reagent containing lead iodide*, Pharm. Weekblad, (1939), 76:276-82.

PILOCARPINA

Pode identificar-se a *pilocarpina* por processos químicos e de microscopia de cristais. A sensibilidade desta técnica é superior à das reações químicas.

Processos Químicos

A — Reação do grupo lactona

ECKERT (1) tratando a *pilocarpina* por nitroprussiato de sódio conseguiu identificar 2 mg do alcalóide, pela coloração vermelha em meio ácido. Esta reação lembra a de LEGAL, para grupos lactônicos não saturados das agliconas de certos glicosídeos. Na realidade, a *pilocarpina* possui grupo lactônico saturado, que constitui particularidade estrutural não encontrada com frequência entre os alcalóides.

UMBERGER (2) aplicou, com rara felicidade, a reação de JANOVSKY para a identificação de alcalóides que possuem carbonila. Baseia-se a reação na adição de solução alcoólica de meta-dinitrobenzeno à substância sólida, seguindo-lhe hidróxido de potássio. Fornece a reação compostos coloridos com grande número de alcalóides, entretanto, poucos formam coloração azul, característica da *pilocarpina*.

A coloração azul ou violácea do meta-dinitrobenzeno em meio alcalino é peculiar a lactonas não saturadas de glicosídeos cardiotônicos. RAYMOND (3) melhorou a técnica, mas UMBERGER (2) foi quem a estendeu à *pilocarpina*.

Técnica — Em placa de toque, dissolver o resíduo de evaporação em 0,5 ml de álcool, adicionando-se, em seguida, 0,25 ml de m-dinitrobenzeno e 0,1 ml de hidróxido de potássio. Em presença de *pilocarpina* aparece coloração azul.

Reagentes — Solução de m-dinitrobenzeno em álcool absoluto, a 2%, recém-preparada. Solução de hidróxido de potássio 5%.

B — Reação do grupo glioxalina

Pode identificar-se a *pilocarpina* pela reação de WANGERIN-HELCH (4), que consiste na produção de coloração azul, solúvel em clorofórmio, pela ação do dicromato de potássio e água oxigenada. A *apomorfina* produz, nessas condições, coloração rósea, solúvel em clorofórmio; a própria água oxigenada pode produzir ácido percrômico, que difere do produto azul obtido, por ser solúvel em éter e não em clorofórmio.

Atualmente, sabe-se que o corante azul é solúvel em éter que se forma pelo dicromato de potássio — peróxido de hidrogênio é produto de coordenação de CrO_5 (anidrido percrômico) com o oxigênio do éter.

É provável que o oxigênio cíclico da *pilocarpina*, extraída pelo clorofórmio, funcione como receptor de anidrido percrômico, que de outra maneira não se dissolveria em clorofórmio. Esta hipótese não contraria a de BIEDERACH (5), que atribui a coloração azul à formação do “*perchromato de pilocarpina*”, solúvel em clorofórmio e benzeno.

A reação permite identificar a *pilocarpina* em quantidades superiores a 500 microgramas (1).

Técnica — Num tubo de ensaio, que contém pequeno cristal de dicromato de potássio, coloca-se 1 ml de clorofórmio, 1 ml de solução de *pilocarpina*, e 1 ml de peróxido de hidrogênio. Agitando observa-se, depois de algum tempo, a coloração azul da camada clorofórmica.

Reagentes — Solução de peróxido de hidrogênio a 10 vol.

Microscopia de cristais

Pode identificar-se a *pilocarpina* pela observação da forma e propriedades óticas de cristais.

Quando se trata de identificar cristais pela forma, o melhor reagente é o brometo de ouro (7) tendo em vista sua sensibilidade: limite de identificação, 0,05 microgramas, empregando-se técnica especial (7).

Preferimos, porém, o cloreto de ouro (figura 031), porque forma cristais cujas propriedades óticas podem ser determinadas facilmente. Sua forma corresponde à dos de brometo de ouro, apenas são maiores. Entre nicóis cruzados, observa-se

birrefringência intensa, extinção oblíqua e sinal de alongação positivo: Concentração limite de 0,5% (10). O ácido cloro-platinico é também, excelente reagente para identificação da *pilocarpina* (7) (8); formam-se lâminas e agulhas que se observam melhor antes da evaporação completa da solução, (figura 021). Entre nicóis cruzados, apresentam birrefringência fraça, extinção paralela e sinal de alongação positivo. O limite de identificação é de 0,05 microgramas, usando-se técnica especial (7), ou de 1 micrograma (11). A concentração limite de 1% (10), ou 0,1% empregando-se a técnica de precipitação em câmara úmida (11).

BIBLIOGRAFIA

- 1 — SANCHEZ Juan, A. — *Investigacions analiticas de Química funcional organica*, Buenos Aires, El Ateneo, 1937.
- 2 — GONZALES, R. A., MORGAN, V., HELPERN, M., UMBERGER, C. J. — *Legal Medicin e Pathology and Toxicology*, 2.^a Ed. N. Y., Appleton Century Crofts, Inc. 1954.
- 3 — RAYMOND, W. D. — *The m-dinitrobenzene reaction and its application to the examination of east African arrow poisons*, Analyst, (1939), 64:113-15.
- 4 — DENIGES, CHELLE, Louis, LABAT, André — *Précis de Chimie Analytique*, 6.^a Ed., Paris, Editions Médicales Norbert Maloine, 1930.
- 5 — BIEDEBACH, Felix — *Helch's test for pilocarpine*, Apoth. Ztg. (1933), 48:736-7, apud. C. A., 27:4023.
- 6 — BARNETT, E. Barry, WILSON, C. L., *Inorganic Chemistry. A test book for advanced students*, London, N. Y., Longman's Green & Co., (1953).
- 7 — CLARKE, E. G. C., WILLIAMS, Margaret — *Microchemical tests for the indentification of alkaloids*. The Journal of pharmacy and pharmacology, 1955. 7 (4):255-62.
- 8 — GYCART, Chris K. et al. — *Report on microchemical test for alkaloids*, Journal of the Association of Official Agricultural Chemists (1929), 12:282-4.
- 9 — BAMFORD, Frank — *Poisons; their isolation and identification*, 3.^a Ed., revista por C. P. Stewart, London, J. & A., Churchill, 1951.
- 10 — WAGENAAR, M., *Microchemical reactions of pilocarpine*, Pharm. Weekblad, (1930), 67:285-7, C. A., 24:2832.
- 11 — BASTOS, M. L. — *Microscopia e técnica de precipitação dos alcalóides com sais platínicos* — Tese — 1957. Ribeirão Preto, Faculdade de Farmácia e Odontologia.

COLCHICINA

É mais fácil identificar a *colchicina* por processos químicos. A *colchiceína*, produto de hidrólise da *colchicina*, tem seus processos de identificação ligados aos dêste alcalóide.

Processos Químicos

A — Transformação em colchiceína

Submetida à hidrólise, a *colchicina* fornece a *trimetil-colchicina*, *dimetil-colchicina*, *ácido colchicínico* e *colchiceína* (1). Os produtos de decomposição reagem com o cloreto férrico dando coloração verde.

Reagem com o cloreto férrico vários alcalóides, principalmente, através da função fenólica. As côres produzidas variam conforme as substâncias: *adrenalina* (verde), *ioimbina* e *morfina* (azul violáceo), *eserina* (violáceo a vermelho); reagem, ainda, a *laudanossina* e *cobrefina*. Os produtos coloridos formados, pelos compostos fenólicos e o cloreto férrico, são insolúveis em clorofórmio. A *colchiceína* difere dos outros produtos de hidrólise da *colchicina* por reagir formando um composto férrico solúvel em clorofórmio, provavelmente um quelato. A solubilidade do composto *colchiceína-ferro* em clorofórmio é, portanto, uma característica importante para a identificação da *colchicina*.

Alguns autores (2) recomendam hidrolisar a *colchicina* pelo hidróxido de sódio. Aachamos mais vantajosa a hidrólise ácida, proposta por ZEISEL.

Técnica (1) — Adicionam-se 5 gotas de ácido clorídrico a 3 ml de solução do alcalóide. Depois de aquecer em banho-maria, durante 30 minutos, esfria-se e adicionam-se gotas de cloreto férrico. Em presença de colchicina aparece coloração verde escura. Adicionando-se clorofórmio e agitando, o solvente orgânico colore-se de amarelo esverdeado.

Reagentes — Ácido clorídrico — 15 a 20%. Cloreto férrico a 1%.

B — Reação de nitração-oxidação

Tratadas com ácido nítrico concentrado, a *colchicina* e *colchiceína* fornecem produto azul violáceo, que permite identificar até 20 microgramas do alcalóide (3). Adicionando-se hidróxido de sódio, ao resíduo de evaporação do ácido nítrico, observa-se mudança de cor para o vermelho. A *brucina*, *eserina*, *antipirina* e *piramido* interferem. Não se pode aplicar a reação em papel de filtro.

Observamos que a reação pode ser efetuada facilmente, em placa de toque ou papel de filtro, quando se emprega ácido nítrico em presença de dicromato de potássio (4).

Técnica — Adicionar uma gota da solução de colchicina ao papel de filtro. Secar e imergir o papel na solução nitro-perclórica-crômica. Observa-se uma coloração violácea que se esvanece com rapidez.

Reagente — Dissolver 0,4 g de cromato de sódio, cristalizado, em 10 ml de água e completar a 100 ml com mistura 1:1 (v/v) de ácidos nítrico e perclórico concentrados.

BIBLIOGRAFIA

- 1 — FUHNER, Hermann — *The toxicological determination of colchicine*, Arch. exp. Path. Pharm., 63:357-73, apud. C. A., 5:1614.
- 2 — BARKOVIC, D., VUKCEVIC — KOVACEVIC, V. — *Chemical reactions of colchicine and colchicine*, Farm. Glamisk, (1943), 3:65-70, apud. C. A., 42:5167.
- 3 — OGIER, J., KOHN — ABREST, E. — *Traité de chimie toxicologique*, 2.^a Ed. Paris G. Doin, 1924.
- 4 — BASTOS, Milton Lessa — Trabalho não publicado.

ACONITINA

A identificação da *aconitina* é delicada. O processo mais específico conhecido é o fisiológico. A microscopia dos cristais é superior aos processos químicos.

Processos Químicos

Não existe reação química bastante sensível ou específica para a identificação da *aconitina*.

MONTI recomenda uma reação de condensação, com a resorcina em meio sulfúrico, para quantidades da ordem de 1 a 2 miligramas do alcalóide (1). BRUNO (2) emprega o bromo, dissolvido em ácido acético, como reagente capaz de identificar a *aconitina* em soluções contendo 20 microgramas por mililitro; aparentemente a reação é pouco específica.

A estrutura da *aconitina* (acetil-aconina) não é conhecida. Sabe-se que é um éster duplo dos ácidos acético e benzóico, ou de um derivado do ácido benzóico: possui 4 grupos metoxila, três hidroxilas e um grupo $N-CH_3$.

Os grupos metoxila poderiam ser utilizados para identificar a *aconitina* via aldeído fórmico, obtido da hidrólise

oxidativa em meio sulfúrico, empregando-se o processo de FEIGL (3).

O grupo acetila pode ser evidenciado destilando-se a *aconitina* em meio sulfúrico. O ácido acético contido no destilado pode ser reconhecido, pela coloração azul produzida em contato com o iôdo e nitrato de lantânio (4). A reação é pouco sensível. Levando em conta a presença de dois grupos éster na molécula, achamos (6) mais conveniente identificar a *aconitina* pela reação geral de ésteres de ácidos voláteis, de FEIGL e GENTIL (5). Aquecendo-se os ésteres a 100° C em presença de ácido fosfórico, ocorre a hidrólise e a volatilização dos ácidos voláteis com vapor d'água. O ácido despreendido pode ser determinado pelo reagente constituído da mistura de iodeto e iodato de potássio, pois fornece os íons hidrogênio necessários para a libertação do iôdo, que torna azul a goma de amido.

Naturalmente, interferem na reação os ácidos fórmico, acético, propiônico, láctico, benzóico, salicílico, nitroso, hidrácidos halogenados, seus sais e ésteres.

Muitas interferências podem ser eliminadas extraindo-se a *aconitina* com éter de petróleo isento de ácidos voláteis.

Verificamos (6) que a *aconitina* pode ser identificada, em quantidades da ordem de 80 microgramas, por este processo. A *heroína*, e a *cocaína* interferem. A *atropina* e derivados do ácido trópico não interferem.

Técnica — Evaporar a solução do alcalóide no tubo de um aparelho para reações em gôta pendente. Molhar o bulbo da rolha do aparelho com a solução de iodeto-iodato de potássio. Tampar o tubo, colocá-lo num becher contendo água em ebulição incipiente, protegendo a sua parte superior, por intermédio de uma placa de amianto. Depois de 1 minuto, retirar o tubo, esfriar, destampar e colocar a gôta pendente na cavidade de uma placa de toque. Adicionar uma gôta da solução de amido. Coloração azul indica *aconitina*.

Reagentes — Ácido fosfórico concentrado, $d = 1,8$. Solução de iodeto-iodato de potássio: misturar volumes iguais de iodeto de potássio 2% e iodato de potássio 0,4%, no momento de usar. Solução de amido a 0,1% em água.

Sensibilidade — 80 microgramas de *aconitina* (6).

Processos Fisiológicos

A *aconitina* é veneno muito violento para numerosas espécies animais. É suficiente a dose de 63 microgramas para matar uma rã, em 10 minutos (4); observam-se com este animal reflexos de vômito, mas a sintomatologia não é típica.

A cobaia morre em 30 minutos com 25 microgramas de alcalóide (7); o peixe é sensível a quantidades menores (7) e apresenta escurecimento dorsal e perda de equilíbrio. Pode usar-se o *Lebistes reticulatus*, barrigudinho, nas experiências com peixes.

O camundongo é particularmente sensível à *aconitina*. Injetando-se, intravenosamente, 1 micrograma do alcalóide observam-se reflexos caracterizados por vômitos (8). STEVENSON, no célebre caso Lamson (9), caracterizou a *aconitina* extraída de vísceras por sua ação tóxica sobre camundongos e pela propriedade de provocar sensação de inchação dolorosa, quando colocada na ponta da língua.

Podem identificar-se 50 microgramas de *aconitina*, pela experiência efetuada sobre a ponta da língua. A *veratrina* e *delfinina* produzem efeitos semelhantes (10).

Técnica — Dissolver o resíduo, obtido da evaporação do solvente que continha o alcalóide, em duas gotas de água fracamente acidulada. Umedecer a extremidade de bastão de vidro nesta solução e tocar com ela a ponta da língua. Em presença de *aconitina* sente-se inchação acompanhada de picadas dolorosas.

Microscopia de cristais

A *aconitina* dá precipitados cristalinos cuja forma varia com a técnica de precipitação. Considera-se o dicromato de potássio como o reagente mais sensível (4), capaz de identificar 2 microgramas do alcalóide (12).

O iodeto (11) (12) e o permanganato de potássio (4) (13) podem ser empregados, quando se dispõe de material abundante. Dificultam o emprêgo do permanganato de potássio as impurezas redutoras.

Muitos utilizam o carbonato de sódio (4) (13) (15); precipita a base livre do alcalóide em cristais amorfos. Recristalizando-se com álcool, obtêm-se cristais ortorrômbicos esfenoidais, em plaquetas hexagonais e isoladas (figura 144), ou agrupados em roseta com soluções mais concentradas em alcalóides. Alguns autores preferem efetuar a cristalização a 50° C, em tubo de ensaio (14). O emprêgo da recristalização

em álcool, em lâmina escavada, contendo o alcalóide recém-precipitado, dá ótimos resultados.

Os cristais apresentam birrefringência fraca, extinção paralela e elongação negativa. Conseguem identificar-se 0,25 microgramas do alcalóide. (13).

BIBLIOGRAFIA

- 1 — DENIGÈS, G. — CHELLE, L., LABAT, A. — *Précis de Chimie Analytique*, 6.^a Ed., Paris, Editions médicales Norbert Maloine, 1930.
- 2 — BRUNO, S. — *Identification of aconitine*, Boll. Soc. ital. biol. aper. (1951) 27:266-8, apud. C. A., 45:8942.
- 3 — FEIGL, F. — *Spot test in Organic Analysis*, 5.^a Ed., Amsterdam, Elsevier Pu. Co., 1956.
- 4 — BAMFORD, Frank — *Poisons, their isolation and identification*, 3.^a Ed., London, L. & A. Churchill Ltd., 1951.
- 5 — FEIGL, F. — *Spot tests; Organic Applications*, 4.^a Ed. Tradução de R. Oesper, Amsterdam, Houston, London, N. Y., Elsevier Publishing Co., 1954.
- 6 — BASTOS, M. L. — *Identificação da aconitina*, Revista Brasileira de Farmácia, (1957), 38 (6)-131-5.
- 7 — KOHN — ABREST, E. — *Précis de toxicologie*, 3.^a Ed., Paris, G. Doin & Cie., 1955.
- 8 — DYBIK, Ottar. — *Toxicology of the aconite alkaloids*, VI Nord. Veterinarmotet, (1951), 283-7, apud. C. A., 47:6094.
- 9 — ADAN, H. L. — *Trial of G. H. Lamson*, London, (1913), 95-6.
- 10 — LUCAS, A. — *Forensic Chemistry and scientific criminal investigation* 4.^a Ed., London, Edward Arnold & Co., 1946, copy, 1948.
- 11 — DUCLOUX, Enrique Herrero — *Notas Microquímicas sobre Doping*. Buenos Aires, Pouser Ltd., 1943.
- 12 — WAGENAAR, M. — *Microchem. react. of aconitine*, Pharm. Weekblad, (1930), 67:165-8, apud C. A., 24:1931.
- 13 — CLARKE, E. G. C., WILLIAMS, Margaret — *Microchemical tests for the identification of alkaloids*. The Journal of pharmacy and Pharmacology, 1955, 7 (4):255-62.
- 14 — GLYCART, C. K. — *Report on microchemical test for alkaloids*. Journal of the Ass. of Official Agricultural chemist, (1937), 20:551-3.
- 15 — Official Methods of analysis of the Assoc. of official Agricultural Chemists, 8.^a ed., A. O. A. C., 1955.

VERATRINA

Veratrina é o nome comercial de uma mistura de alcalóides obtidos do *Schoenocaulon officinale* (A. Gray), contendo, principalmente, a *veratridina*, *cevadina* e um pouco de

cevína (1). A estrutura desses alcalóides ainda não foi determinada, nem se conhecem suas reações de distinção. Apresentaremos, apenas, uma reação química característica dessa mistura de alcalóides. Não se conhecem processos de microscopia de cristais.

Reação de condensação

Os aldeídos, em presença de ácido sulfúrico, condensam-se com os alcalóides da *veratrina*, produzindo coloração vermelha. Recomenda-se o emprêgo do furfural (2) (3) (4), mas pode usar-se, também, o aldeído fórmico; prejudicando-se a sensibilidade pela maior seletividade.

Observa-se com os dois aldeídos coloração vermelho violácea intensa. A reação colorida pode ser diferenciada, das apresentadas por outros alcalóides, pela fluorescência azul esverdeada que apresenta como característica adicional.

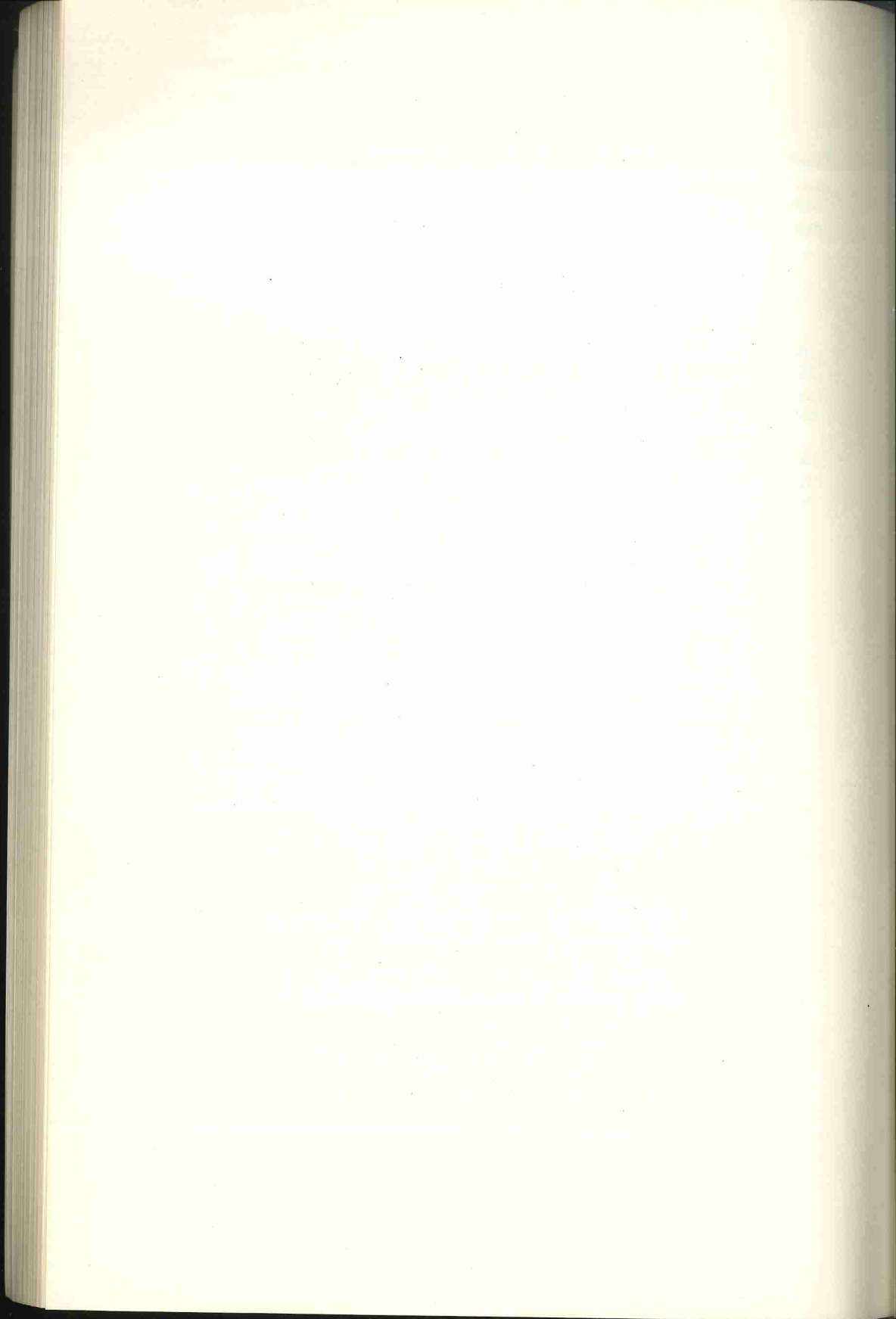
Técnica — Dissolver em tubo de ensaio, pequena quantidade do alcalóide em 3 ml de álcool 90-95° G. L. Adicionar 1 ou 2 gotas de solução de furfural; agitar e adicionar 4 ml de ácido sulfúrico concentrado, pelas paredes do tubo. Observar a cor na divisa dos líquidos e homogenizar; observa-se coloração violácea intensa, e fluorescência azul esverdeada à luz ultravioleta.

Reagentes — Solução alcoólica de furfural a 2%.

BIBLIOGRAFIA

- 1 — HENRY, Thomas, A. — *The Plant Alkaloids*, 4.^a Ed., London, J. & A., Churchill Ltd., 1949.
- 2 — DENIGÉS, Georges, CHELLE, L., LABAT, A. — *Precis de Chimie Analytique*, Editions médicales Norbert Maloime, 1930.
- 3 — EKKERT, L. — *Reaction of alkaloids with furfural-sulphuric acid*, Pharm. Zentralhalle, (1926), 67:179-81, apud., C. A., 20:1687.
- 4 — WOKER, G. Antenes I. — *New reaction of ascorbic acid; color reactions of alkaloids and Sterols*, Helv. Chim. Acta, (1938), 21:1345, apud. C. A., 33:1356.





APÊNDICE

OBTENÇÃO DOS CRISTAIS

Utilizamos soluções aquosas contendo 1% de alcalóide, para a obtenção dos cristais. Muitos autores preferem trabalhar com soluções contendo 0,1% de alcalóide, tendo em vista a cristalização mais lenta que leva a cristais mais perfeitos. Entretanto, como a técnica microscópica dos cristais está ligada à cromatográfica, é conveniente usar concentrações mais elevadas.

Quando se dispõe de quantidades suficientes de material, podem usar-se gotas de 0,05 ml de solução dispostas sobre lâminas escavadas. Abolimos o uso de laminulas, para observações com aumento até 150 diâmetros, usando objetivas de pequena abertura.

Tendo em vista o controle da evaporação, o emprego de microgotas (0,001 ml) e a conveniência da adição gradativa do precipitante, recomendamos a técnica descrita em nossa tese: *"Microscopia e Técnica de Precipitação dos Alcalóides com Sais Platínicos"* (1957).

É simples o controle da evaporação, quando se dispõem as lâminas com os reagentes numa atmosfera saturada de vapor d'água. Utilizamos para este fim, uma câmara úmida improvisada com um cristalizador, ou frasco cilíndrico sem gargalo, medindo mais de 20 cm de diâmetro e cerca de 10 cm de altura. Provê-se, dentro da câmara um suporte plano para lâminas, e um papel de filtro grosso forrando sua parede curva. Coloca-se água, até uma altura inferior a do suporte, e molha-se, completamente, o papel de filtro.

A evaporação da solução do alcalóide fica muito diminuída dentro da câmara úmida. Tampando-a, interrompe-se, completamente, a evaporação.

Quando for conveniente acelerar a evaporação, pode retirar-se, provisoriamente, a lâmina da câmara úmida, até o início da cristalização. A técnica provê, assim, três velocidades de evaporação: com a câmara fechada, com ela aberta e com a lâmina fora da câmara.

Evidentemente, a câmara úmida permite maior comodidade no controle da evaporação que qualquer outra técnica conhecida.

O emprêgo de microgotas (0,001) só é prático quando se diminui a velocidade de evaporação. Quantidades tão pequenas de líquido evaporam-se rapidamente da lâmina, resultando em cristais pequenos e mal feitos. Com auxílio da câmara úmida pode trabalhar-se, comodamente, com essas microgotas.

A vantagem de volumes tão pequenos é a extensão do limite de identificação dos alcalóides. As soluções com concentrações limites de 0,01% ou 0,001%, permitem um limite de identificação de 1 micrograma ou 0,1 microgramas de alcalóide. Aproveitamos a oportunidade para salientar que o limite de identificação de diversos alcalóides, citado dos trabalhos de CLARKE e WILLIAMS no decorrer dessa exposição, foi conseguido empregando-se o volume de 0,0001 ml; evidentemente, esses resultados não podem ser comparados com os obtidos de outros autores que empregam volumes 100 vezes maiores.

Outro fim que tivemos em vista, com a técnica de precipitação, foi a adição gradativa do precipitante à solução do alcalóide. Conseguimos ótimos resultados dispondo os reagentes, separadamente, numa mesma lâmina e repicando, alternadamente, as duas soluções com a ponta afilada de um bastão de vidro.

A vantagem desta adição gradativa é o controle da quantidade de reagente adicionada. Quando a solução do alcalóide é muito concentrada, interrompe-se a adição do reagente com o primeiro repique, a fim de evitar massa compacta de cristais que se formaria com maior quantidade do reagente.

Sua adição gradativa permite o emprêgo de pequeno excesso do reagente, facilitando o exame do resíduo seco.

Não ocorrendo a precipitação, imediatamente, pode evaporar-se a solução, à secura: rapidamente, fora da câmara, ou lentamente, com a câmara aberta. Obtêm-se resíduos com pequeno e com grande excesso de agente precipitante, provenientes da evaporação das duas gotas originais; conhecendo-se a origem dos resíduos, fica fácil distinguir quais os cristais do reagente e quais os do precipitado.

Técnica — Dissolver o alcalóide em água, ou em ácido clorídrico 0,1 N. Colocar a lâmina de vidro na câmara úmida. Dispor sobre o vidro uma microgota (0,001 ml) da solução do alcalóide, e uma microgota da solução do precipitante, distanciadas entre si de 1 cm. As microgotas podem ser adicionadas com auxílio de bastão de vidro de ponta afilada, ou com micropipeta. Molhar a ponta afilada de um bastão

de vidro na gota do reagente e encostá-la na superfície da gota do alcalóide, evitando o atrito com a lâmina suporte. Recolocar a ponta afilada, umedecida com a solução do alcalóide, na solução do precipitante. Repetir o processo, repicando alternadamente, as duas soluções, quantas vezes forem necessárias para iniciar a precipitação, ou colorir a gota da solução com o excesso de reagente.

A forma dos cristais não se altera, substancialmente, com o emprêgo da técnica descrita acima.

Alguns casos particulares exigem cuidados especiais. Os reagentes a base de iôdo não devem ser adicionados em excesso. O ácido pícrico não pode ser adicionado a soluções de alcalóides que contêm concentração elevada de ácido mineral livre. O reagente que contém bromo é adicionado em excesso; o uso de lamínula é indispensável neste caso, para diminuir a evaporação do bromo e impedir sua ação corrosiva sobre a objetiva do microscópio.

Não se pode juntar o iodeto de chumbo ao alcalóide dissolvido em ácido clorídrico ou sulfúrico; o ácido acético é melhor para êstes casos.

Merece cuidados especiais o emprêgo do carbonato de sódio. O precipitado obtido só cristaliza, imediatamente, apenas com alguns alcalóides; na maioria das vezes, é necessária a recristalização. Consegue-se pela adição de uma gota de álcool à gota da solução. A lâmina escavada é imprescindível, para evitar dispersão da gota, ao se adicionar o álcool. Depois dêste evaporado, à temperatura ambiente, aparecem cristais característicos de diversos alcalóides.

Nem sempre ocorre a precipitação imediatamente; maximé quando a solução do alcalóide está muito diluída. Neste caso, repete-se a observação microscópica, depois de uma hora, ou após evaporação à temperatura ambiente.

Até adquirir-se prática na distinção entre os cristais do reagente e os do alcalóide, convém efetuar um ensaio em branco, observando o residuo de evaporação da solução do reagente.

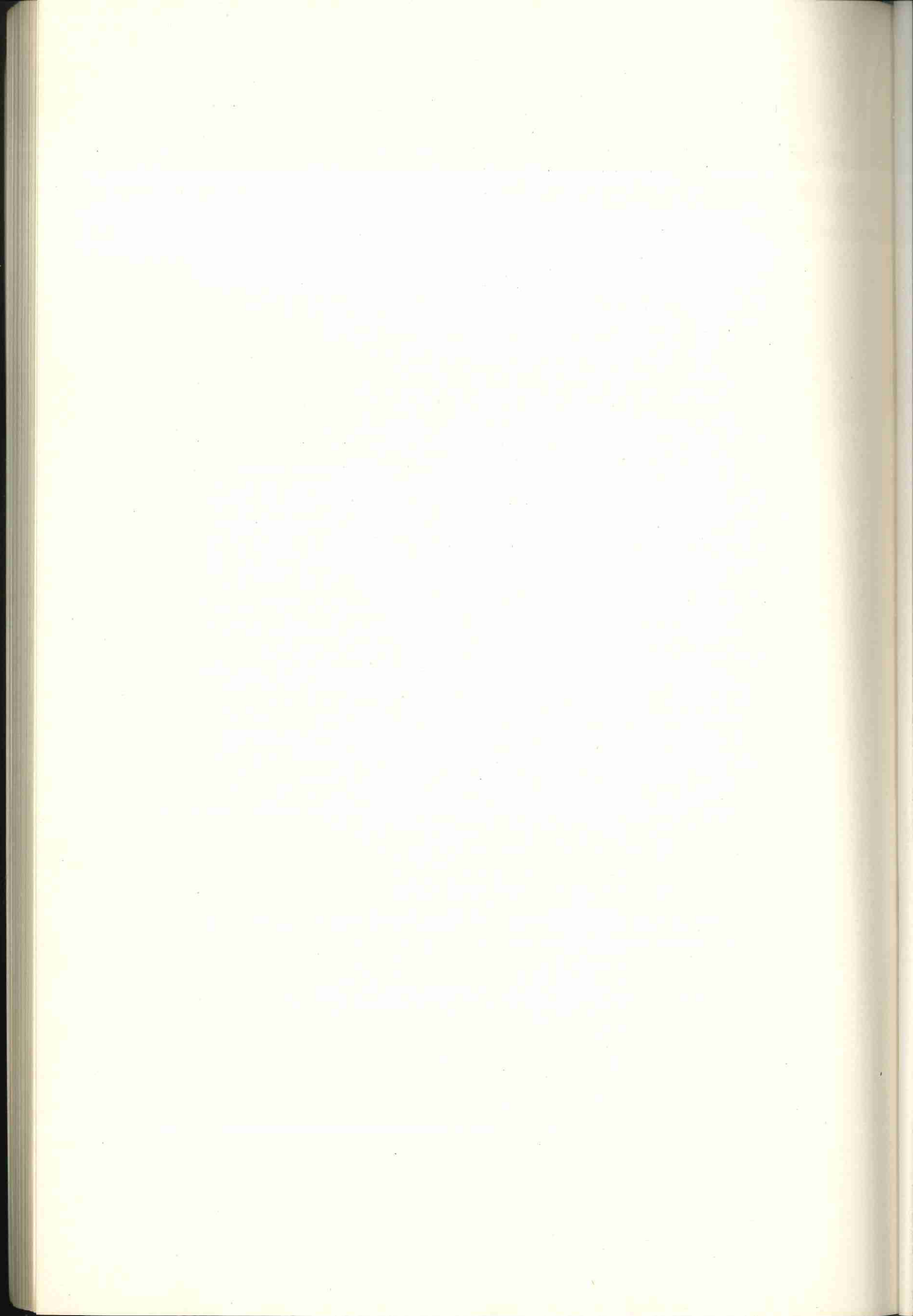
Preparo dos reagentes de precipitação:

- 1 — *Cloreto de platina* — (Ácido cloroplatínico) — Dissolver 5 g de $\text{H}_2\text{PtCl}_6 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ em 100 ml de água destilada.
- 2 — *Brometo de platina* — (Ácido bromoplatínico) — Dissolver 6 g de $\text{H}_2\text{PtCl}_6 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ em 100 ml de água destilada contendo 5% de HBr.

- 3 — *Iodeto de platina* — (Iodoplatinato de sódio) — Dissolver 1,8 g de NaI em 6 ml de água; adicionar esta solução a 10 ml da de cloreto de platina preparada acima.
- 4 — *Cloreto de ouro* — (Ácido cloroáurico) — Dissolver 5 g de $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ em 100 ml de água destilada.
- 5 — *Brometo de ouro* — (Ácido) (Bromoaurato de sódio) — Dissolver 1 g de $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ e 1 g de NaBr em 20 ml de água destilada.
- 6 — *Iodeto de ouro* — (Ácido iodáurico) — Dissolver 1 g de $\text{HAuCl}_4 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ em 10 ml de água; adicionar 9,4 ml de HI ($d = 1,7$).
- 7 — *Bromo-brometo de sódio* — Saturar com bromo uma solução de NaBr a 5%.
- 8 — *Iôdo-iodeto de potássio* — (Triiodeto de potássio) — Dissolver 2 g de iôdo e 4 g de KI em 100 ml de água.
- 9 — *Iodeto de chumbo* — (R. WAGENAAR) — Dissolver 30 g de acetato de potássio em 90 g de água. Adicionar uma gota de solução de vermelho de metila e ácido acético até obter coloração amarela alaranjada. Adicionar iodeto de chumbo, sólido, em excesso, até saturar; aquecer ligeiramente, resfriar e filtrar.
- 10 — *Poliiodeto de bismuto* — (R. KRAUT, Iodobismutato de potássio) — Dissolver 8 g de $\text{Bi}(\text{NO}_3)_3 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ em 20 ml de HNO_3 diluído (21,3 ml de ácido de densidade 1,42, diluídos até completar o volume de 62 ml). Dissolver, separadamente, 31,2 g de KI em 69 ml de água. Misturar as soluções; usar depois de 2 semanas.
- 11 — *Poliiodeto de cádmio* — (R. MARMÉ) — Dissolver 3 g de CdI_2 e 6 g de KI em 18 ml de água. Preparar a solução de trabalho, diluindo uma parte da solução estoque com 9 partes de água.
- 12 — *Ácido nítrico* — Solução obtida diluindo-se uma parte do ácido de densidade 1,4 com 2 partes de água.
- 13 — *Ácido pícrico* — Dissolver 1 g de ácido pícrico em 100 ml de água destilada, a quente.
- 14 — *Cloreto mercúrico* — Dissolver 5 g de HgCl_2 a 100 ml de água.
- 15 — *Brometo mercúrico* — Misturar 1 ml da solução de cloreto mercúrico com 1 ml de solução saturada de NaBr.

- 16 — *Tiocianato de amônio* — Dissolver 5 g de tiocianato de amônio em 100 ml de água.
- 17 — *Carbonato de sódio* — Dissolver 5 g de Na_2CO_3 em 100 ml de água.
- 18 — *Ferrocianeto de potássio* — Dissolver 5 g de $\text{K}_4\text{Fe}(\text{CN})_6 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ em 100 ml de água. No momento de usar, misturar 1 gôta da solução com uma gôta de HCl a 5%.
- 19 — *Iôdo-iodeto de zinco* — Dissolver 6 g de I_2 e 20 g KI em 30 ml de água. Dissolver 10 g de ZnCl_2 em 30 ml de água, esfriar. Misturar as duas soluções.
- 20 — *Cloreto de zinco* — Dissolver 5 g de ZnCl_2 em 100 ml de água.
- 21 — *Cianeto de ouro* — Dissolver 5 g de cloreto de ouro em 100 ml de água e adicionar cianeto de sódio sólido, até que o precipitado se redissolva.



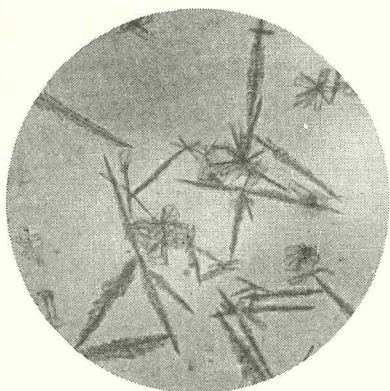


ÍNDICE DOS ALCALÓIDES

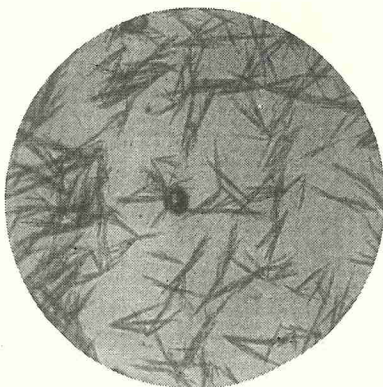
	Precipitante	Fotomicrografia	N.º	Pág.
1 — Aconitina	Na_2CO_3	—	144	132
2 — Apomorfina	AuCl_3	—	041	122
3 — Arecolina	Kraut	—	103	123
4 — Atropina	$\text{Br}_2 \cdot \text{NaBr}$	—	062	124
	$\text{I}_2 \cdot \text{KI}$	—	084	126
	PbI_2	—	092	127
	Ácido pícrico	—	124	130
5 — Berberina	Ácido nítrico	—	122	130
6 — Brucina	H_2PtCl_6	—	012	119
	AuCl_3	—	032	121
7 — Cafeína	AuCl_3	—	043	122
	$\text{AuCl}_3 \cdot \text{NaBr}$	—	051	123
	HgCl_2	—	134	131
8 — Cinchonidina	Na_2CO_3	—	152	133
9 — Cinchonina	Na_2CO_3	—	151	133
	NH_4CNS	—	162	134
10 — Cocaína	AuCl_3	—	034	121
	PbI_2	—	091	127
11 — Codeína	$\text{I}_2 \cdot \text{KI}$	—	073	125
12 — Colchicina	K_2CdI_4	—	112	129
13 — Coniína	K_2CdI_4	—	114	129
14 — Dionina	$\text{I}_2 \cdot \text{KI}$	—	074	125
15 — Efedrina	H_2PtCl_6	—	022	120
	$\text{H}_2\text{PtCl}_6 \cdot \text{HBr}$	—	023	120
	$\text{H}_2\text{PtCl}_6 \cdot \text{NaI}$	—	024	120
	PbI_2	—	094	127
16 — Emetina				
17 — Ergotoxina				
18 — Eserina	$\text{AuCl}_3 \cdot \text{HI}$	—	054	123
	PbI_2	—	093	127
19 — Esparteína	AuCl_3	—	042	122
	K_2CdI_4	—	121	130
20 — Estrichina	H_2PtCl_6	—	011	119
	HgCl_2	—	141	132
	HgBr_2	—	142	132
	NH_4CNS	—	163	134

	Precipitante	Fotomicrografia	
		N.º	Pág.
21 — Harmina	H ₂ PtCl ₆	— 014	119
	HgCl ₂	— 132	131
22 — Heroína	K ₂ CdI ₄	— 113	129
23 — Hidrastina	K ₄ Fe (CN) ₆	— 164	134
24 — Hidrastinina			
25 — Hioscianina	I ₂ . KI	— 083	126
26 — Hioscina	AuCl ₃	— 033	121
27 — Homatropina	I ₂ . KI	— 082	126
28 — Ioimbina	Na ₂ CO ₃	— 143	132
29 — Mescalina	H ₂ PtCl ₆	— 013	119
	Kraut	— 104	128
30 — Morfina	I ₂ . KI	— 071	125
	K ₂ CdI ₄	— 111	129
31 — Narceína	I ₂ . KI	— 072	125
32 — Narcotina	Na ₂ CO ₃	— 154	133
33 — Nicotina	AuCl ₃ . NaBr	— 052	123
	HgCl ₂	— 131	131
34 — Papaverina	Ácido pícrico	— 123	130
35 — Pseudomorfina			
36 — Pilocarpina	H ₂ PtCl ₆	— 021	120
	AuCl ₃	— 031	121
37 — Quinidina I ₂ .	(Fulton)	— 064	124
38 — Quinina I ₂ .	(Fulton)	— 063	124
	NH ₄ CNS	— 161	134
	Kraut	— 101	128
39 — Tebaína	Na ₂ CO ₃	— 153	133
40 — Teobromina	AuCl ₃ . HI	— 053	123
	Kraut	— 102	128
	Br ₂ . NaBr	— 061	124
41 — Teofilina	HfCl ₂	— 133	131
42 — Tropicocaina	I ₂ . KI	— 081	126
43 — Veratrina			

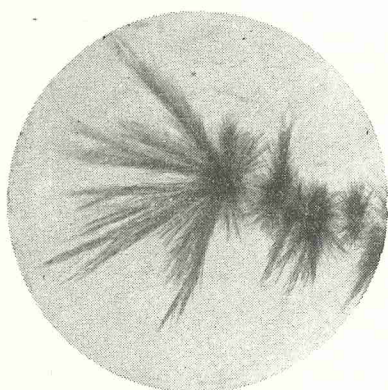




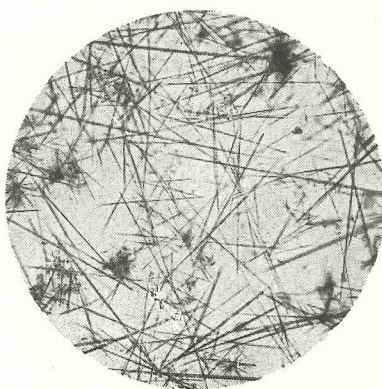
011



012

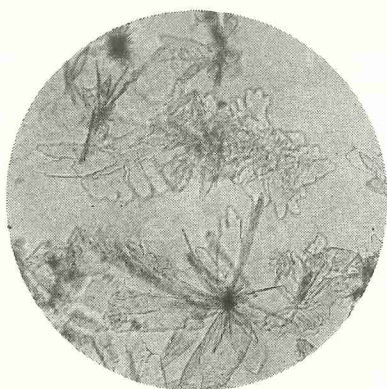


013

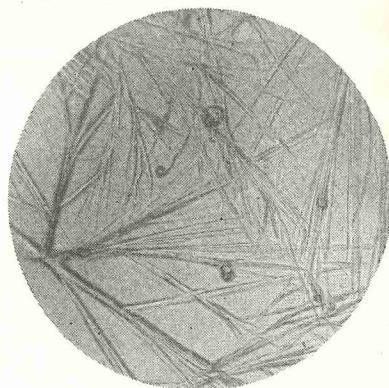


014

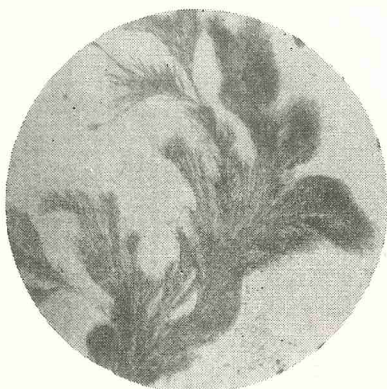
- 011 — Estricnina, (H_2PtCl_6), 90x; birf. fraca, ext. par., (—).
012 — Brucina, (H_2PtCl_6), 90x; birf. fraca, ext. par., (+).
013 — Mescalina, (H_2PtCl_6), 90x; birf. fraca, ext. par., (+).
014 — Harmina, (H_2PtCl_6), 56x; birf. fraca, ext. obl., (—).



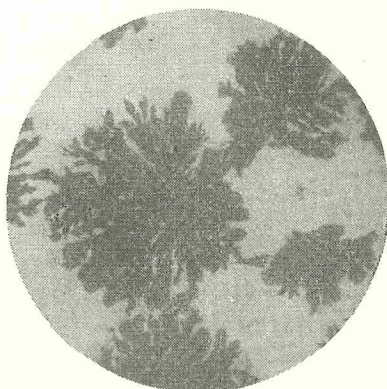
021



022

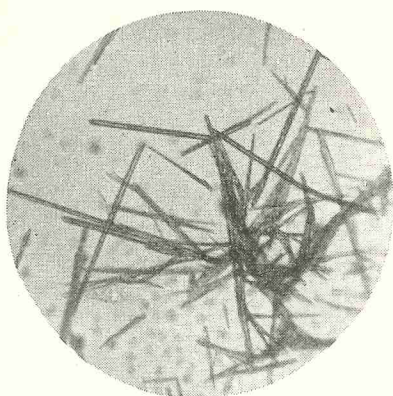


023

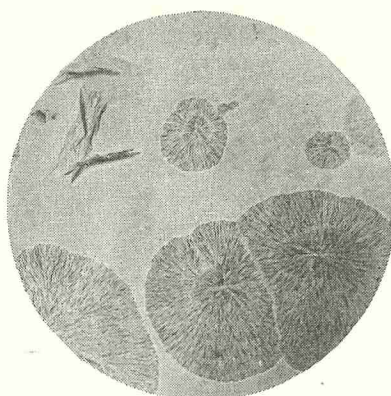


024

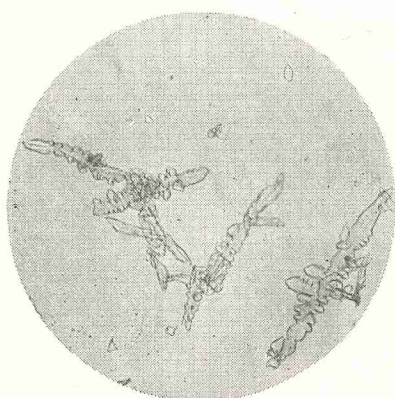
- 021 — Pilocarpina, (H_2PtCl_6), 90x; birf. fraca, ext. par., (+).
022 — Efedrina, (H_2PtCl_6), 90x; birf. fraca, ext. par., ($\pm$).
023 — Efedrina, ($H_2PtCl_6.HBr$), 30x; birf. fraca, ext. par., ($\pm$).
024 — Efedrina, ($H_2PtCl_6.NaI$), 30x; cristais opacos.



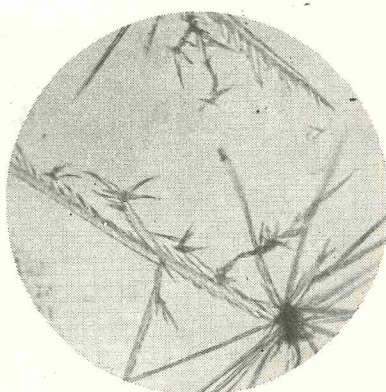
031



032



033



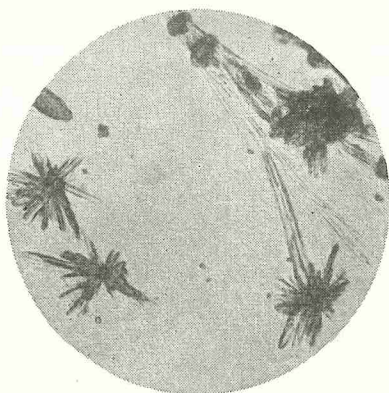
034

031 — Pilocarpina, (AuCl₃), 90x; birf. intensa, ext. obl., (+).

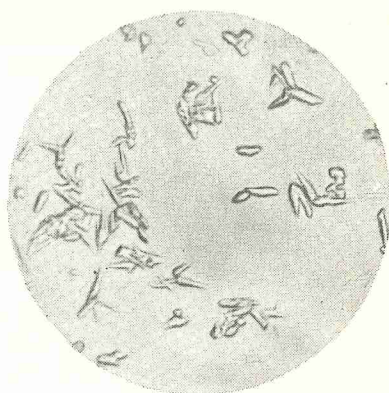
032 — Brucina, (AuCl₃), 90x; birf. fraca, forma instável.

033 — Hioscina, (AuCl₃), 90x; birf. intensa, ext. obl., (±).

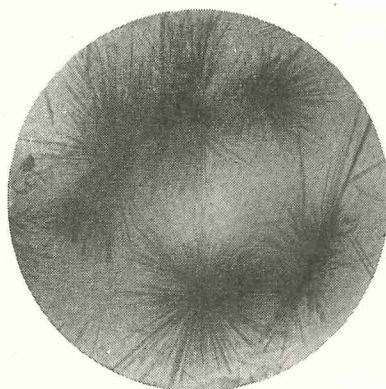
034 — Cocaína, (AuCl₃), 90x; birf. intensa, ext. obl., (±).



041

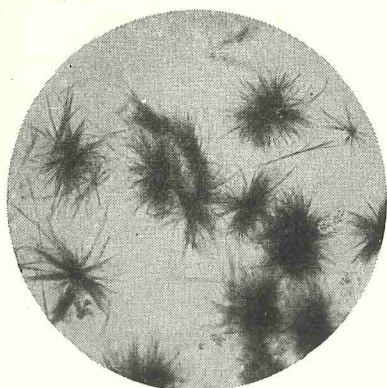


042

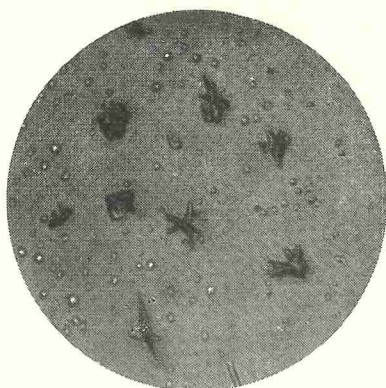


043

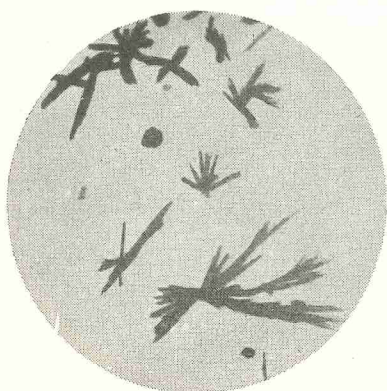
- 041 — Apomorfina, (AuCl_3), 90x; birf. intensa, ext. obl., (+).
042 — Esparteína, (AuCl_3), 90x; birf. fraca, ext. par., (—).
043 — Cafeína, (AuCl_3), 90x; birf. intensa, ext. par., (—).



051



052



053

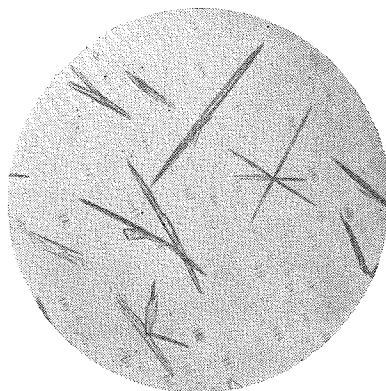


054

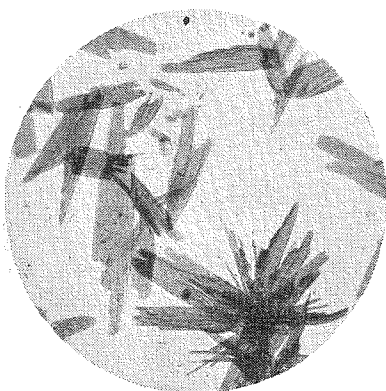
- 051 — Cafeína, ($\text{AuCl}_3 \cdot \text{NaBr}$), 90x; birf. fraca, ext. par., (—).
052 — Nicotina, ($\text{AuCl}_3 \cdot \text{NaBr}$), 500x; birf. fraca, ext. obl., (—).
053 — Teobromina, ($\text{AuCl}_3 \cdot \text{HI}$), 90x; cristais opacos.
054 — Eserina, ($\text{AuCl}_3 \cdot \text{HI}$), 90x; cristais opacos.



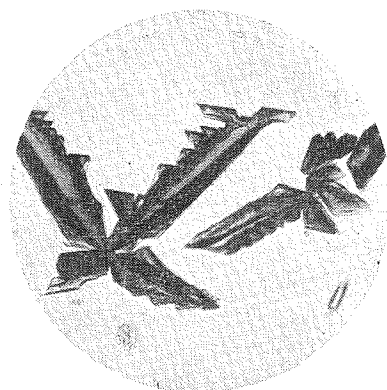
061



062



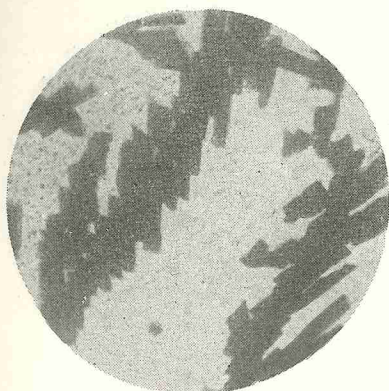
063



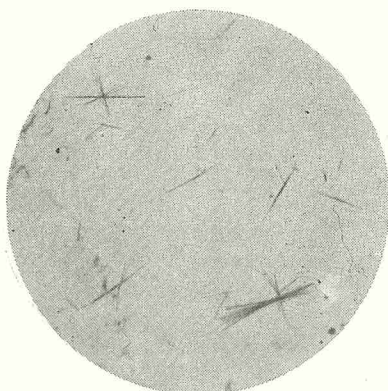
064

- 061 — Teobromina, Br. NaBr, 90x; birf. intensa, ext. par., (—).
062 — Atropina, (Br. NaBr), 90x; birf. intensa, ext. par., (+).
063 — Quinina, (R. Fulton), 90x; birf. dicróico, ext. par., (—).
064 — Quinidina, (R. Fulton), 90x; birf. intensa, ext. obl., ().*

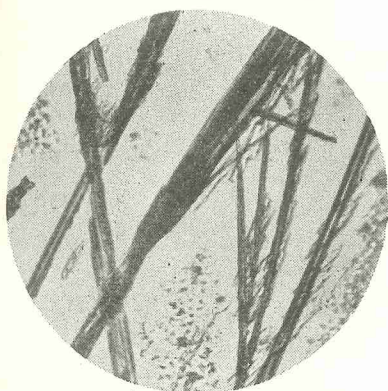
* — determinação difícil.



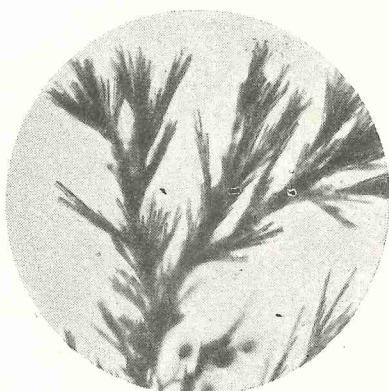
071



072



073



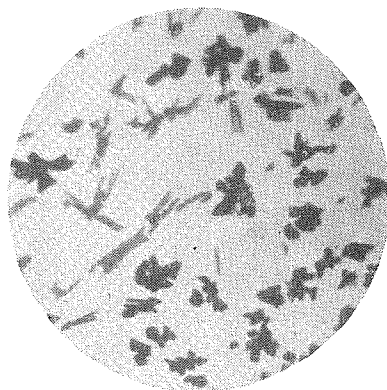
074

- 071 — Morfina, (KLi), 90x; birf. fraca, dicroísmo.
072 — Narceína, (KLi), 90x; birf. fraca, ext. par., (—).
073 — Codeína, (KLi), 90x; birf. fraca, ext. par., (+).*
074 — Dionina, (KLi), 90x; birf. intensa, dicróico, (—).

* — determinação difícil.



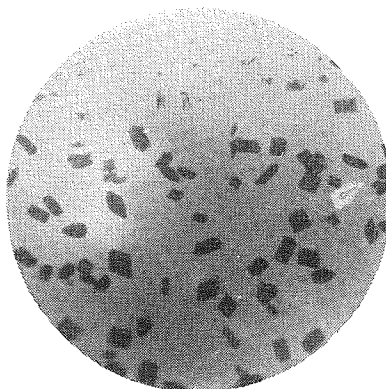
081



082



083

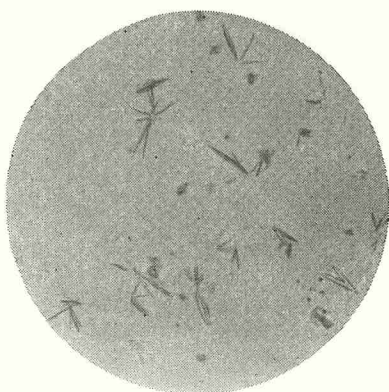


084

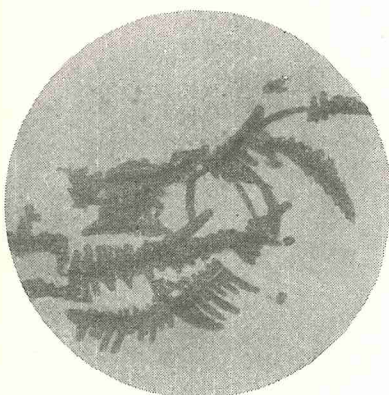
- 081 — Tropacocaina, (KL₃), 90x; birf. intensa ext. par., (—).
082 — Homatropina, (KL₃), 280x; cristais opacos.
083 — Hiosciamina, (KL₃), 180x; birf. fraca, ext. par., (—).
084 — Atropina, (KL₃), 90x; cristais opacos.



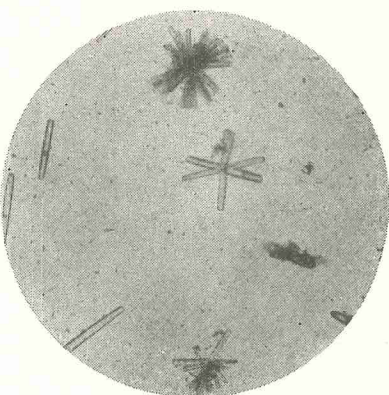
091



092



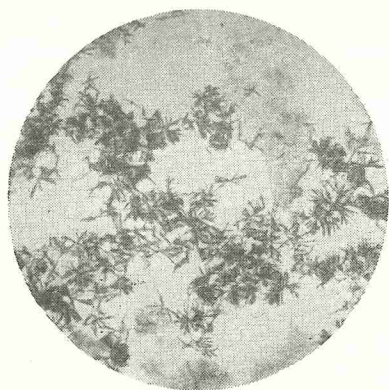
093



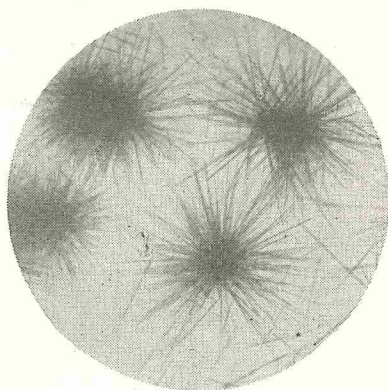
094

- 091 — Cocaina, (PbI_2), 90x; cristais opacos.
092 — Atropina, (PbI_2), 90x; birf. intensa, ext. par., (+).
093 — Eserina, (PbI_2), 90x; cristais isotrópicos.
094 — Emetina, (PbI_2), 90x; birf. fraca, ext. par., (—).*

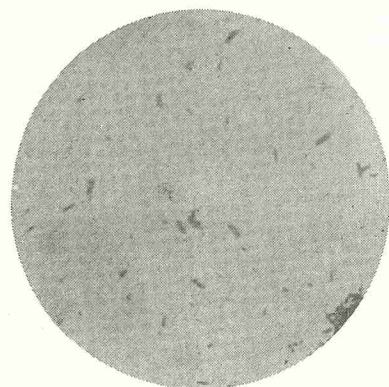
* — determinação difícil.



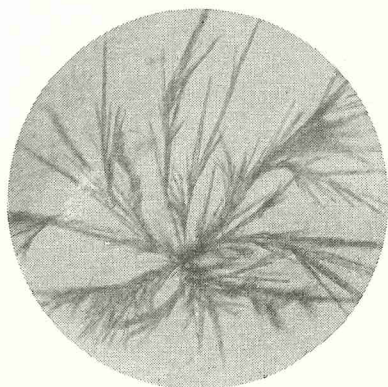
101



102

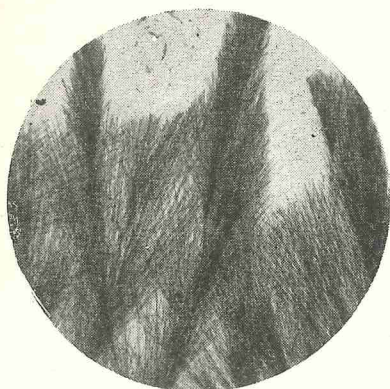


103

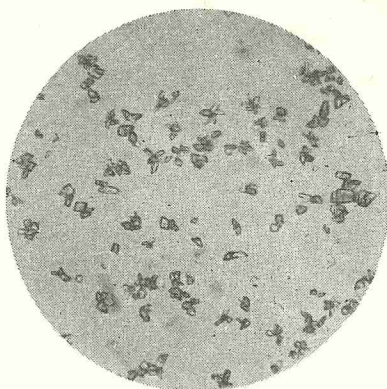


104

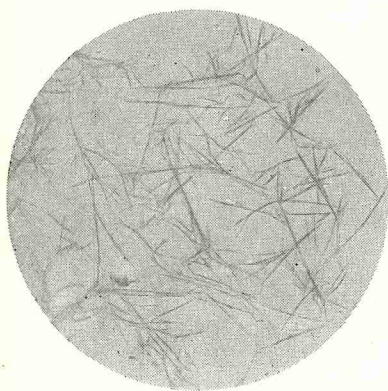
- 101 — Quinina, (Kraut), 90x; cristais opacos.
102 — Teobromina, (Kraut), 90x; birf. intensa, ext. par., (+).
103 — Arecolina, (Kraut), 90x; birf. intensa, ext. obl.
104 — Mescalina, (Kraut), 90x; birf. fraca, ext. par., (+).



111



112



113

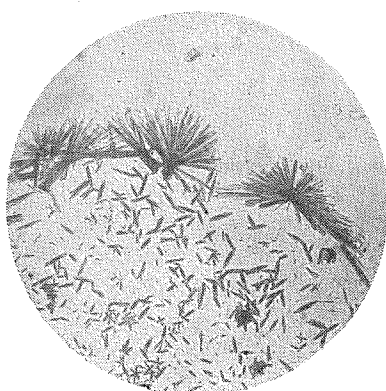


114

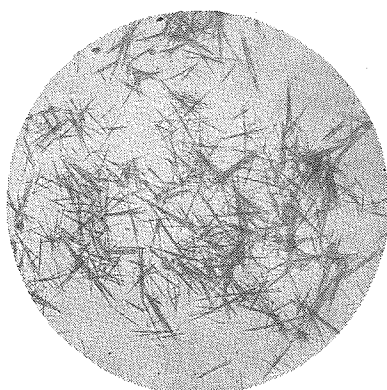
- 111 — Morfina, (K_2CdI_4), 30x; birf. fraca, ext. par., (—).
112 — Codeina, (K_2CdI_4), 90x; birf. fraca, ext. obl., (—).
113 — Heroína, (K_2CdI_4), 90x; birf. fraca, ext. par., (—).
114 — Coniina, (K_2CdI_4), 90x; birf. fraca, ext. par., (—).



121



122

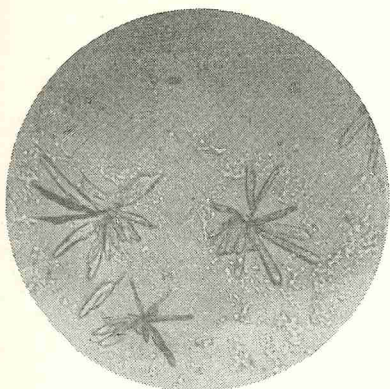


123

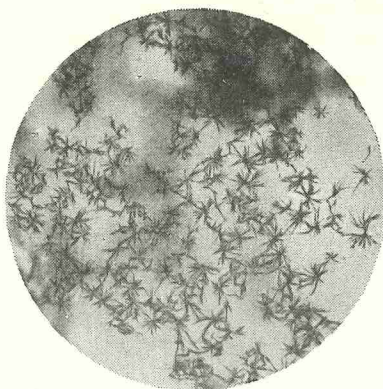


124

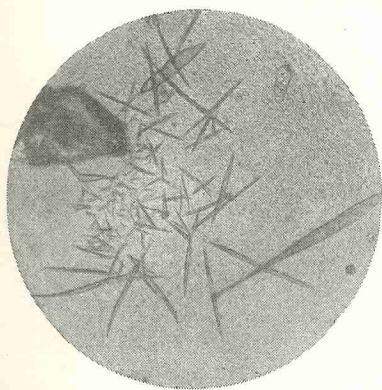
- 121 — Esparteína, (K_2CdL_2), 90x; birf. fraca, ext. obl., (—).
122 — Berberina, a. nítrico, 90x; birf. intensa, ext. par., (—).
123 — Papaverina, a. picrico, 90x; birf. intensa, ext. par., (+).
124 — Atropina, a. picrico, 90x; birf. intensa.



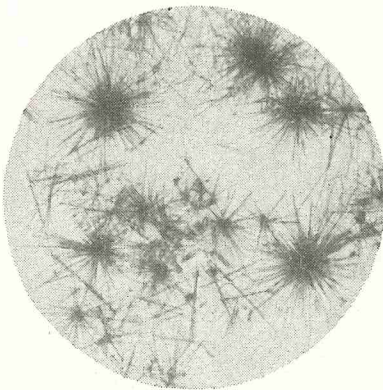
131



132



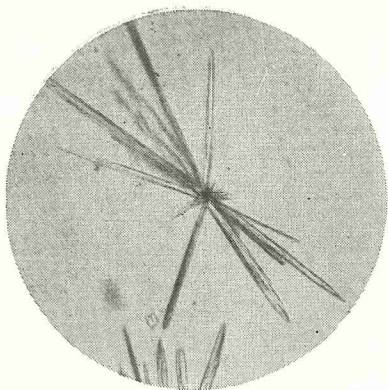
133



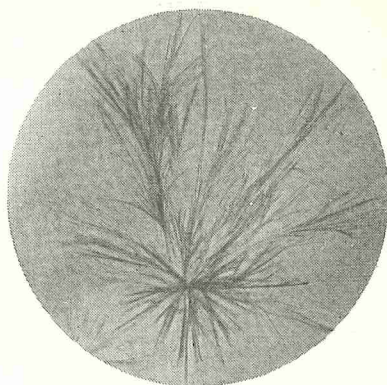
134

- 131 — Nicotina, (HgCl_2), 90x; birf. fraca, ext. par., (—).
132 — Harmina, (HgCl_2), 56x; birf. intensa, ext. par., (—).
133 — Teofilina, (HgCl_2), 90x; birf. fraca, ext., (+).*
134 — Cafeína, (HgCl_2), 30x; birf. fraca, ext. par., (—).

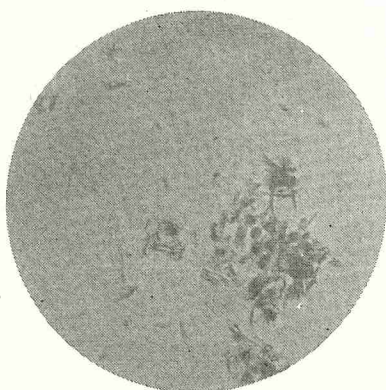
* — determinação difícil.



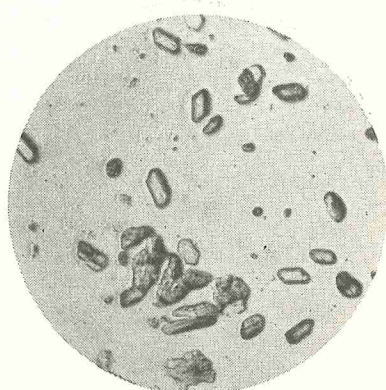
141



142



143



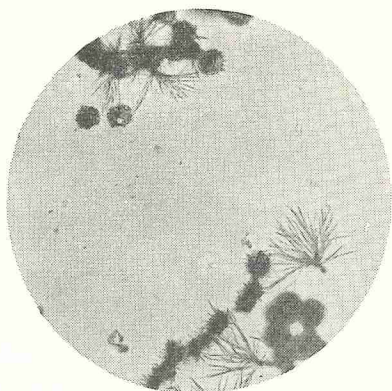
144

- 141 — Estricnina, (HgCl_2), 90x; birf. fraca, ext. par., (—).*
- 142 — Estricnina, (HgBr_2), 90x; birf. fraca, ext. par., (—).*
- 143 — Ioimbina, (Na_2CO_3), 180x; birf. intensa, ext. par., (—).
- 144 — Aconitina, (Na_2CO_3), 90x; birf. fraca, ext. par., (—).

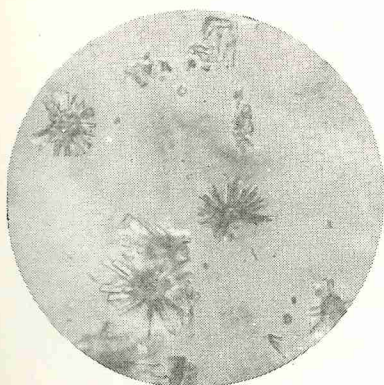
* — determinação difícil.



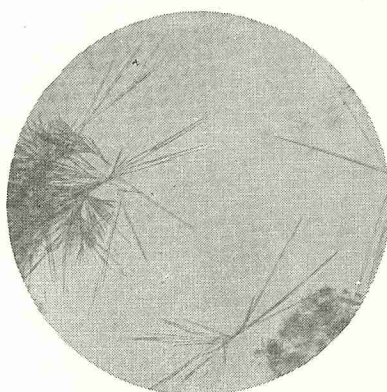
151



152



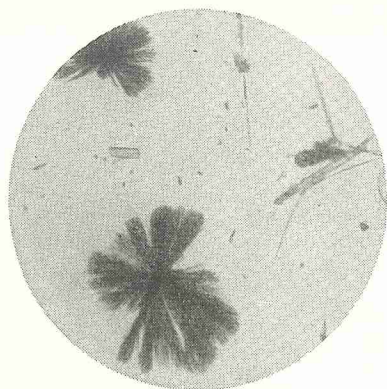
153



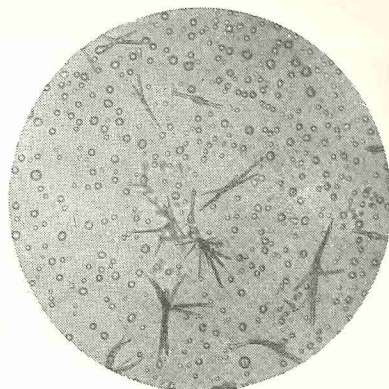
154

- 151 — Cinchonina, (Na_2CO_3), 90x; birf. fraca, ext. par., (+).
152 — Cinchonidina, (Na_2CO_3), 180x; birf. fraca, ext. par., (+).
153 — Tebaina, (Na_2CO_3), 180x; birf. fraca, ext. par., (—).
154 — Narcotina, (Na_2CO_3), 90x; birf. intensa, ext. par., (—).

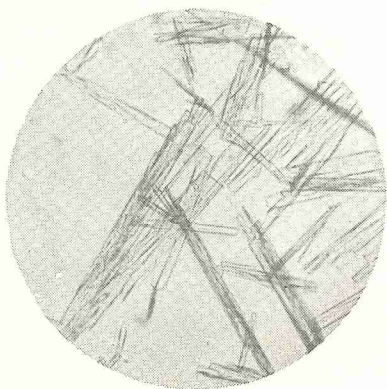
* — determinação difícil.



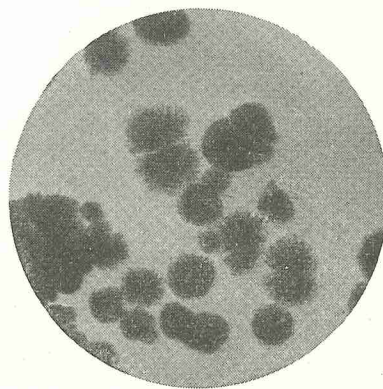
161



162



163



164

- 161 — Quinina, (NH_4CNS), 90x; birf. intensa, ext. par., (+).
162 — Cinchonina, (NH_4CNS), 180x; birf. intensa, ext. par., (—).
163 — Estricnina, (NH_4CNS), 90x; birf. intensa, ext. par., (—).
164 — Hidrastina, ($\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6$), 90x; birf. fraca, ext. par., (—).