

## O REAKCIJI NA HARMIN S BROMOM

D. Barković i T. Bićan

Mnogi organski spojevi bazičnog karaktera, kao na pr. alkaloidi, stvaraju s jodom i bromom produkte tipa perhalogenida, koji se teško tope u vodi i u razrijeđenim kiselinama. Stoga se jod i brom upotrebljavaju kao taložne reagencije, naročito u analitici alkaloida. Boje ovih produkata obično su međusobno vrlo slične, pa stoga i od male vrijednosti kod identifikacije organskih baza.

Međutim u prijašnjoj jednoj publikaciji jedan od nas predložio je reakciju na papaverin<sup>1)</sup>, pri kojoj djelovanjem bromne vode na otopinu papaverina u klorovodičnoj kiselini nastaju karakteristične promjene boja. Ako se naime otopini papaverina u 10—15% -tnoj klorovodičnoj kiselini dodaje bromne vode kap po kap uz miješanje, izlučuje se talog najprije žute, pa narančaste, a zatim crvene boje, dok daljnjim dodavanjem bromne vode prelazi boja taloga u žutu odnosno žutosmeđu.

Ovom se reakcijom papaverin razlikuje od mnogih drugih alkaloida. Od većeg broja ispitanih alkaloida isti je tok reakcije pokazao uz jednake uvjete samo eupaverin, dok se na primjer perparin, također papaverinu slično građeni spoj vlada sasvim drugačije.

Pri daljnjim se ispitivanjima pokazalo, da talog crvene boje nastaje uz slične uvjete i kod harmina, alkaloida, koji se po konstituciji znatno razlikuje od papaverina.

Harmin (Banisterin), 3-metil-9-metoksi-karbolin, izoliran je iz *Peganum Harmala* odnosno *Banisteria Caapi*. U obliku hidroklorida (Harminum hydrochloricum  $C_{13}H_{12}N_2O \cdot HCl \cdot 2H_2O$ ) upotrebljava se u novije vrijeme u medicini kod paralitskih agitans, posljedica epidemičnog encefalitisa, posljedica otrovanja ugljičnim monoksidom i dr.<sup>2)</sup>

Vodena otopina harminova hidroklorida daje s bromnom vodom talog, koji je, kao i kod mnogih drugih alkaloida žute boje. Dodaje li se bromne vode kap po kap uz miješanje otopini harmina u razrijeđenoj klorovodičnoj kiselini, otopina ostaje najprije bezbojna, zatim se oboji žuto, a uz dovoljnu količinu bromne vode izlučuje se pahuljast talog crvene boje. Boja se taloga znatno ne mijenja ako se bromne vode doda u suvišku.

Pokazalo se, da se izlučuje talog odmah crvene boje samo u prisutnosti klorovodične kiseline. Otopina harmina

<sup>1)</sup> Dr. Barković, Farm. Glasnik, 2, 207 (1947).

<sup>2)</sup> Harminum hydrochloricum officinalan je u Ph. S. S. S. R. VIII (1946).

u sumpornoj ili bromovodičnoj kiselini (u odsutnosti klorovodika) daje s bromnom vodom talog žute boje, koji se tek nakon nekog vremena, samo ako je otopina dovoljno kisela, postepeno oboji crvenonarančasto.

Svojstvo harmina, da samo u prisutnosti klorovodika daje odmah s bromnom vodom produkt crvene boje moglo se je primjeniti za mikrokemijsko identificiranje harmina na papiru za filtriranje. Pri tom smo brom kao reagens upotrijebili u obliku para<sup>3)</sup>.

U tu smo svrhu stavili kap otopine harmina u klorovodičnoj kiselini na papir za filtriranje i izložili je oko pola minute parama broma. Nakon toga nastaje mrlja crvenonarančaste boje, a boja postepeno prelazi u žutu. Ako se papir, nakon što je mrlja postala žute boje, ponovno stavi u pare broma oboji se crveno. Za razliku od papaverina, crvena boja ostaje neko vrijeme stalna.

Izloži li se vodena otopina harminova hidroklorida na papiru za filtriranje oko pola minute parama broma, nastaje mrlja žute boje, koja se uskoro gubi (kod papaverina ostaje mrlja žuto-zelene boje).

Budući da se harminov hidroklorid, u kojem se obliku harmin obično upotrebljava, teško topi u klorovodičnoj kiselini a osim toga se pokazalo, da reakcija teče brže i potpunije, ako je otopina jače kisela, radili smo tako, da smo na vodenu otopinu harminova hidroklorida na papiru za filtriranje stavili kap cca 25%-tne klorovodične kiseline ili je držali 1—2 minute u parama dimeće klorovodične kiseline.

Ustanovili smo nadalje, da reakcija uspijeva i onda, ako se na mrlju vodene otopine nakon djelovanja para broma odmah kapne kap klorovodične kiseline. Reakcija će biti negativna, ako se ostavi da se izgubi prvobitna žuta boja mrlje, jer se za reakciju potreban brom ispario.

Za dokazivanje harmina u harminovom hidrokloridu izvodi se reakcija najjednostavnije tako, da se nekoliko kristala preparata (oko 0,1—0,3 mg) otopi u 1—2 kapi vode i kap otopine stavi pomoću staklenog štapića na papir za filtriranje. Ovlaženi papir za filtriranje izloži se 10—20 sekundi parama broma na grlu boce sa zasićenom bromnom vodom (pokri ven stakalcem od sata). Nastala žuta mrlja gubi se izvan para broma nakon pola do jedne minute. Ako se zatim na mrlju kapne kap cca 25%-tne klorovodične kiseline i ponovno drži oko pola minute u parama broma, u prisutnosti harmina nastaje mrlja crvene boje.

---

<sup>3)</sup> H. Barth (Arch. Pharm., 236, 358) je u svojim studijama mikrokemijskog dokazivanja alkaloida u drogama prvi predložio reagencije u obliku para, a među njima i brom.

O s j e t l j i v o s t opisane reakcije ispitali smo na ovaj način: 0,01 ccm vodene otopine harminova hidroklorida stavi se na papir za filtriranje Schleicher i Schüll No. 598 tako, da se vrh mikropipete prisloni na papir za filtriranje i otopina polako otpusti. Na ovlaženo mjesto kapne se zatim kap (0,025 ccm) cca 25% -tne klorovodične kiseline. Nakon toga se papir izloži jednu minutu parama broma na grlu boce sa zasićenom bromnom vodom i za to vrijeme pokrije stakalcem od sata.

Ako 0,01 ccm vodene otopine harminova hidroklorida sadrži 0,5  $\gamma$  harmina, opaža se, nakon što se papir ukloni iz para broma, upravo još vidljiva mrlja blijedo ružičaste boje.

Granica osjetljivosti: 0,5  $\gamma$  harmina u 0,01 ccm vodene otopine harminova hidroklorida.

Granična koncentracija: 1 : 2.000.

Pokušali smo nadalje ispitati tok naprijed opisane reakcije i utvrditi sastav dobivenog produkta crvene boje.

U literaturi je opisano nekoliko produkata bromiranja harmina. Tako je O. Fischer<sup>4)</sup> dobio pahuljast talog žutocrvene boje djelovanjem zasićene bromne vode na otopinu harmina u razrijeđenoj sumpornoj kiselinu uz hlađenje. Ovaj produkt gubi sušenjem nad vapnom miris po bromu i poprima svijetlo žutu boju. Na temelju kvantitativnog određivanja sadržaja broma tako osušenog produkta zaključuje O. Fischer da se radi o tetrabromharminu sastava  $C_{13}H_{12}N_2OBr_4$ . Nadalje navodi, da ovaj produkt djelovanjem sumporaste kiseline ili grijanjem s alkalijskim karbonatima, pa i kuhanjem s alkoholom gubi sav brom i prelazi opet u harmin. Sastav tetrabromharmina kojega je pripremio O. Fischer sušenjem žutocrvenog taloga (vjerojatno perbromida) čini se malo vjerojatnim, budući da se osniva na analizi amornog produkta.

V. Hasenfratz<sup>5)</sup> je kasnije pripremio neke produkte bromiranja harmina u kristaliničnom stanju. Djelovanjem broma na otopinu harmina u octenoj kiselini dobiva talog žute boje (perbromid), iz kojega je izolirao monobromharmin hidrobromid. Iz ovoga je pomoću amonijaka oslobodio monobromharmin  $C_{10}H_{11}O_2NBr$ , koji iz alkohola kristalizira u obliku bezbojnih romboedarskih prizmi.  $T = 275^{\circ}$ . Djelovanjem bromne vode na otopinu harmina u razrijeđenoj sumpornoj kiselini dobiva Hasenfratz kao i O. Fischer, narančastocrven amorfan talog. Obradivanjem dobivenog produkta vreloom vodom kojoj se doda malo alkohola, izolirao je blijedo žućkastu kristaliničnu tvar, za koju nalazi da je dibromharmin hidrobromid. Iz

<sup>4)</sup> Ber., 22, 638 (1889).

<sup>5)</sup> Compt. rend., 154, 215 (1912).

ove je pomoću amonijaka izlučio dibromharmin  $C_{10}H_{10}O_2NBr_2$ , koji kristalizira iz alkohola u obliku igličastih kristala.  $T = 209^\circ$ . Na temelju ovih ispitivanja smatra Hasenfratz, da se kod Fischerovog tetrabromharmina radi vjerojatno o dibromharmin-dihidrobromidu,  $C_{10}H_{10}O_2NBr_2 \cdot 2HBr$ .

Kako se iz naprijed navedenog vidi, Hasenfratz je izolirao kristaliničan monobromharmin iz produkta žute boje, kojega je dobio djelovanjem broma na otopinu harmina u octenoj kiselini, dok je iz produkta narančastocrvene boje, dobivenog djelovanjem bromne vode na otopinu harmina u razrijeđenoj sumpornoj kiselini, izlučio kristalinični dibromharmin.

Bilo je vjerojatno, da je talog žutocrvene boje, kojega je dobio Fischer, odnosno Hasenfratz djelovanjem bromne vode na otopinu harmina u razrijeđenoj sumpornoj kiselini, identičan produktu crvene boje, kojega smo mi dobili djelovanjem bromne vode na otopinu harmina u prisutnosti klorovodične kiseline.

Međutim smo reproducirajući Fischerov produkt ponovno ustanovili, da uz 10—12%-tnu sumpornu kiselinu, a u odsutnosti klorovodika nastaje pahuljast talog žute boje, koji tek nakon nekog vremena — oko jednog sata — poprima postepeno crvenonarančastu boju. Talog crvene boje nastaje odmah samo onda, ako se umjesto harmina uzme harminov hidroklorid ili ako se otopini u razrijeđenoj sumpornoj kiselini doda klorovodične kiseline.

Dok talog crvene boje nastaje odmah s bromnom vodom i u otopini harmina u cca 0,5%-tnoj klorovodičnoj kiselini, iz otopine harmina u sumpornoj ili bromovodičnoj kiselini iste koncentracije izlučuje se talog samo žute boje, a boja se taloga ne mijenja niti nakon par sati.

Prema tome, talog crvene boje nastaje odmah samo u prisutnosti klorovodične kiseline, dok je za stvaranje crvenonarančastog taloga u sumpornoj ili bromovodičnoj kiselini potrebno stanovito vrijeme djelovanja broma i dovoljno jaka koncentracija kiseline.

Kako je naprijed navedeno, Hasenfratz smatra da se kod Fischerovog tetrabromharmina radi vjerojatno o hidrobromidu. Međutim smo prekrizacijom Fischerovog produkta iz alkohola dobili bezbojne igličaste kristale, koji nisu dali reakciju na bromide, no dali su jasnu reakciju na sulfate.

Iz naših ispitivanja dakle proizlazi, da se kod Fischerovog kao i kod Hasenfratzovog produkta zapravo radi o bromiranom harmin-sulfatu, a ne o hidrobromidu.

Kristalizacijom iz alkohola produkta, koji nastaje djelovanjem bromne vode na otopinu harmina u 1%-tnoj klorovodičnoj,

odnosno 1<sup>0</sup>/<sub>0</sub>-tnoj bromovodičnoj kiselini, dobili smo hidroklorid odnosno hidrobromid bromiranog harmina.

Prema tome može se zaključiti, da dodatkom bromne vode otopini harmina u nekim razrijeđenim mineralnim kiselinama, nastaju perbromidi soli bromiranog harmina s dotičnom kiselinom, a ne uvijek hidrobromidi.

Tok naprijed opisane reakcije pokušali smo slijediti mjerenjem količine broma, koja je potrebna za stvaranje produkta crvene boje u prisutnosti ekvivalentne količine klorovodika u razrijeđenoj sumpornoj kiselini.

U tu smo svrhu otopini od 0,2 g harminova hidroklorida u 100 ccm 10—12<sup>0</sup>/<sub>0</sub>-tne sumporne kiseline dodavali iz b.nete uz dobro miješanje otopine od 2,3 g broma u 100 ccm vode:

	ccm bromne vode	Br <sub>2</sub>	Promjene pri reakciji:
I.	4,9	1	otopina je bistra i bezbojna
II.	9,8	2	otopina je bistra i žute boje
III.	14,6	3	izlučuje se talog crvene boje
IV.	19,5	4	boja taloga se ne mijenja

Otopina harmina, kojoj je dodano 1 mol. broma (II), zaluži se amonijakom i smjesa izmućka kloroformom. Odijeljena otopina u kloroformu koncentrira se, a izlučeni kristali prekristaliziraju iz kloroforma i osuše pri 100—105°. Dobivaju se bezbojni prizmatski kristali, koji daju reakciju na brom. T = 279—281° uz rasp. (nekor.).

Dobivena tvar odgovara prema tome monobromharminu sa svojstvima, kako ih navodi Hasenfratz.

Izlučeni talog crvene boje (III) prelišen acetonom ili vrućim alkoholom ili vreloom vodom gubi boju i otapa se. Vrućoj alkoholnoj otopini doda se amonijaka do lužnate reakcije i ostavi da se smjesa ohladi. Izlučeni kristali prekristaliziraju se iz alkohola i suše pri 100 — 105°: Dobivaju se bezbojni igličasti kristali, koji daju reakciju na brom. T = 209 — 211° uz rasp. (nekor.)

Dobivena tvar dakle odgovara dibromharminu sa svojstvima, kako ih je opisao Hasenfratz.

Otopine obiju bromderivata harmina u klorovodičnoj kiselini također daju s bromnom vodom talog narančastocrvene ili crvene boje. Međutim, dok otopina dibromharmina u bromovodičnoj ili sumpornoj kiselini stvara s bromom talog narančasto-

crvene boje, nastaje u otopini monobromharmina samo talog žute boje.

Čini se dakle, da se djelovanjem bromne vode na otopinu harmina u bromovodičnoj odnosno sumpornoj kiselini, najprije stvara monobromharmin-perbromid, kao što to biva i djelovanjem broma na otopinu harmina u octenoj kiselini (Hansenfratz). Iz ovog tek nakon nekog vremena, uz dovoljnu koncentraciju navedenih kiselina nastaje postepeno dibromharmin, koji s bromom stvara nestabilni perbromid narančastocrvene ili crvene boje.

Iz naprijed navedenog može se zaključiti, da pri stvaranju taloga narančastocrvene odnosno crvene boje djelovanjem bromne vode na otopinu harmina u nekim mineralnim kiselinama povoljne koncentracije, teče proces u tri faze. Najprije nastaje sol monobromharmina s dotičnim kiselinama, zatim sol dibromharmina a ova zatim stvara perbromid karakteristične boje.

Budući da se dodatkom bromne vode izlučuje talog odmah crvene boje i u otopinama harmina u vrlo razrijeđenoj klorovodičnoj kiselini, postoji mogućnost, da u tom slučaju nastaje dibromharmin hidroklorid perbromid.

Obzirom na istraživanja perbromida od F r i e s - a<sup>6)</sup>, mogao bi se ovaj produkt crvene boje ubrojiti među prilično rijetke tipove hidroklorid perbromida.

Radi pomanjkanja harmina nisu se istraživanja mogla za sada nastaviti.

### Zaključak

Otopina harmina u razrijeđenoj klorovodičnoj kiselini daje s bromnom vodom amorfan talog crvene boje. Otopine harmina u razrijeđenoj sumpornoj odnosno bromovodičnoj kiselini daju s bromnom vodom talog žute boje, koji tek nakon nekog vremena, samo uz povoljnu koncentraciju kiseline, postepeno poprima narančastocrvenu boju. Ovim se svojstvom harmin razlikuje od mnogih drugih alkaloida.

Stvaranje produkta crvene boje s bromom u prisutnosti klorovodične kiseline, moglo se je iskoristiti za mikrokemijsko identificiranje harmina na papiru za filtriranje s bromom kao reagensom u obliku pare: Kap razrijeđene vodene otopine harminova hidroklorida stavi se na papir za filtriranje i na nj ukapne kap cca. 25<sup>0</sup>/<sub>0</sub>-tne klorovodične kiseline. Ako se zatim papir s otopinom izloži oko pola minute parama broma, na grlu boce sa zasićenom bromnom vodom, nastaje

<sup>6)</sup> Ber., 37, 2338 (1904); cit. po Chem. Zentr. 75, II. 431, (1904); Annalen 346, 128 (1906); cit. po Chem. Zentr., 77, I. 1876, (1906).

nakon toga mrlja crvenonarančaste boje, koja postepeno prelazi u žutu. Ako se žuta mrlja stavi ponovno u pare broma, oboji se crveno, a crvena boja ostaje neko vrijeme stalna (razlika od papaverina). Stavi li se vodena otopina harminova hidroklorida na papiru za filtriranje u pare broma, opisana reakcija uspijeva samo onda, ako se na mrlju odmah nakon djelovanja broma kapne kap klorovodične kiseline (razlika od papaverina).

Granica osjetljivosti: 0,5  $\gamma$  harmina u 0,01 ccm vodene otopine harminova hidroklorida.

Na temelju ispitivanja toka procesa pri djelovanju bromne vode na otopinu harmina u klorovodičnoj kiselini, pokazalo se vjerojatnim, da se kod dobivenog produkta crvene boje radi o dibromharmin hidroklorid perbromidu.

ZAVOD ZA FARMACEUTSKU KEMIJU  
FARMACEUTSKI FAKULTET  
ZAGREB

Primljeno 10. veljače 1949.

## ABSTRACT

### Reaction of harmine with bromine

by

D. Barković and T. Bićan

By the action of bromine water on a solution of harmine in diluted hydrochloric acid, a red amorphous precipitate is formed. With solution of harmine in sulfuric or hydrobromic acid bromine water gives a yellow precipitate which only after some time, if the solutions are sufficiently acid, turns orange-red. In this property harmine differs from many other alkaloids.

Investigations carried out make it probable, that the red product obtained by the action of bromine water on a solution of harmine in hydrochloric acid is dibromharmin hydrochloride perbromide.

The formation of this red product has been used to develop a microchemical test for harmine hydrochloride.

The procedure is as follows: A drop of a solution to be tested for harmine hydrochloride is placed on a piece of filter paper, a drop of 25% hydrochloric acid added and the paper held over an open bottle containing freshly prepared bromine water for about half a minute. If harmine hydrochloride is present, an orange-red spot develops, which slowly grows yellow. If the paper is held again over the bottle with bromine water, the spot becomes red and persists for some time (difference from papaverine). 0,5  $\gamma$  of harmine hydrochloride in 0,01 c.c. of water can thus still be traced.

INSTITUTE FOR PHARMACEUTICAL CHEMISTRY  
FACULTY OF PHARMACY  
ZAGREB (CROATIA)

[Received, February 10, 1949]