



ÚŘAD PRO VYNÁLEZY
A OBJEVY

POPIS VYNÁLEZU K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

262167
(11) (B1)

(51) Int. Cl.⁴
G 01 N 23/06

(21) Přihlášeno 10 08 87
(21) (PV 5906-87.E)

(40) Zveřejněno 15 07 88

(45) Vydáno 15 06 89

(75)

Autor vynálezu

SOUČEK JAN doc. RNDr. CSc., HALÁMEK EMIL doc. ing. CSc., VYŠKOV

(54) Způsob analýzy 1-(1'-fenylcyklohexyl)piperidinu 2,4-dinitro-1-naftoly

1

Řešení spadá do oblasti klinické biochemie, farmaceutické analýzy, chemické toxikologie, chemické kontroly. Řeší se analýza 1-(1'-fenylcyklohexyl)piperidinu. Způsob spočívá v tom, že se na vodný roztok vzorku 1-(1'-fenylcyklohexyl)piperidinu působí 2,4-dinitro-1-naftolem vybraným ze skupiny zahrnující 2,4-dinitro-1-naftol, 2,4-dinitro-1-naftol-7-sulfonovou kyselinu, 2,4-dinitro-1-naftol-6-sulfonovou kyselinu a 2,4-dinitro-1-naftol-5-sulfonovou kyselinu, extrahuje se rozpouštědlem vybraným ze skupiny zahrnující benzen, chloroform, tetrachlormethan, 1,1,2,2-tetrachlorethan, toluen nebo xylen a měří se kolorimetricky intenzita zbarvení roztoku iontového asociátu. Použití postupu přináší možnosti expresního vyhodnocení vzorků 1-(1'-fenylcyklohexyl)piperidinu od mezní koncentrace $1 \cdot 10^{-6}$ mol $\cdot$ dm⁻³ při přesnosti ± 5 %, vyjádřené relativní směrodatnou odchylkou. Vyhovuje požadavkům automatizace.

2

Vynález se týká způsobu analýzy 1-(1'-fenylcyklohexyl)piperidinu 2,4-dinitro-1-naftoly.

Vynález řeší jednoduché, citlivé spektrofotometrické stanovení a detekci biologicky účinné sloučeniny. Může nalézt uplatnění v lékařství, farmacii. Vynález lze začlenit do oboru klinické biochemie, farmaceutické analýzy, chemické toxikologie a chemické kontroly.

Dosud známé způsoby detekce, identifikace a stanovení jsou orientovány především na srážecí reakce. Byla publikována potenciometrická metoda titrace s tetrafenylboritanem sodným na draslíkovou iontově selektivní elektrodu (VYTRAS, K.: Coll. Czech. Chem. Commun. 42, 1977, s. 3168). Látku je rovněž možné identifikovat metodou tenkovrstvé chromatografie a detegovat Dragendorfovým činidlem (GASPARIC, J.: Papírová a tenkovrstvá chromatografie organických sloučenin. SNTL Praha 1981). Chybí metody citlivého spektrofotometrického stanovení 1-(1'-fenylcyklohexyl)piperidinu, zejména s využitím extrakčního kroku. To nedává možnost využití analýzy 1-(1'-fenylcyklohexyl)piperidinu v laboratorním provozu na základním stupni.

Výše uvedené nedostatky jsou odstraněny způsobem analýzy podle vynálezu.

Podstatou vynálezu je způsob analýzy 1-(1'-fenylcyklohexyl)piperidinu 2,4-dinitro-1-naftoly podle vynálezu, který spočívá v tom, že se na vodný roztok 1-(1'-fenylcyklohexyl)piperidinu působí 2,4-dinitro-naftolem vybraným ze skupiny zahrnující:

2,4-dinitro-1-naftol;
2,4-dinitro-1-naftol-7-sulfonovou kyselinu,
2,4-dinitro-1-naftol-6-sulfonovou kyselinu a
2,4-dinitro-1-naftol-5-sulfonovou kyselinu,

extrahuje se rozpouštědlem vybraným ze skupiny zahrnující:

benzen,
chloroform,
tetrachlormethan,
1,1,2,2-tetrachlorethan,
toluen

a měří se kolorimetricky intenzita zbarvení roztoku iontového asociátu.

Výhodou postupu podle vynálezu je možnost stanovení 1-(1'-fenylcyklohexyl)piperidinu až do koncentrace $2 \cdot 10^{-6}$ mol. dm^{-3} . Doba potřebná k provedení analýzy je 3 minuty. Použití navrhovaného extrakčně spektrofotometrického způsobu analýzy 1-(1'-fenylcyklohexyl)piperidinu 2,4-dinitro-1-naftoly je nové, protože dostupná literatura neuvádí jeho aplikaci v technické praxi. Využití způsobu analýzy podle vynálezu přináší užitek v možnosti rychlého vyhodnocení vzorků, které obsahují 1-(1'-fenylcyklohexyl)piperidin od mezní koncentrace $2 \cdot 10^{-6}$ mol. dm^{-3} při přesnosti metody vy-

jádření relativní směrodatnou odchylkou $\pm 5\%$.

Příklad 1

Byl připraven vodný roztok $1 \cdot 10^{-3}$ mol. dm^{-3} vzorku 1-(1'-fenylcyklohexyl)piperidinu. Bylo pipetováno $0,2 \text{ cm}^3$ roztoku vzorku a přidáno $1,6 \text{ cm}^3$ tlumivého citrátového roztoku o pH 5; $0,2 \text{ cm}^3$ ethanolového roztoku $3 \cdot 10^{-3}$ mol. dm^{-3} 2,4-dinitro-1-naftolu a třepáno s 2 cm^3 chloroformu 1 minutu. Po odstranění vodné vrstvy byla měřena absorbance při vlnové délce 430 nm. Minimální stanovitelná koncentrace 1-(1'-fenylcyklohexyl)piperidinu činila $1 \cdot 10^{-6}$ mol. dm^{-3} .

Závislost absorbance na koncentraci byla vyjádřena směrnici kalibrační křivky — $3700 \text{ l. mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$, která byla lineární od nuly do $40 \mu\text{g} \cdot \text{cm}^{-3}$. Do této hodnoty koncentrace se rušivě neprojevily další komponenty ze skupiny alkaloidů nebo terciárních aminů. Ruší pouze kvartérní amoniové báze typu cetylpyridinium bromidu.

Příklad 2

Vodný roztok $1 \cdot 10^{-3}$ mol. dm^{-3} 1-(1'-fenylcyklohexyl)piperidinu byl po $0,4 \text{ cm}^3$ pipetován a přidáváno $0,1 \text{ cm}^3$ vodného roztoku $5 \cdot 10^{-3}$ mol. dm^{-3} 2,4-dinitro-1-naftol-7-sulfonové kyseliny a doplňováno na $2,0 \text{ cm}^3$ tlumivým roztokem o pH 5. Vodné směsi byly vytřepávány s $2,0 \text{ cm}^3$ chloroformu během jedné minuty. Absorbance chloroformových extraktů byla měřena při vlnové délce 430 nm. Nejnižší stanovitelná koncentrace $1 \cdot 10^{-6}$ mol. dm^{-3} . Směrnice kalibrační křivky byla $4000 \text{ l. mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$. Rušivé vlivy s výjimkou tetraalkylamoniovýchází a cetylpyridinium jodidu nebyly zjištěny.

Příklad 3

Vodný roztok $1 \cdot 10^{-3}$ mol. dm^{-3} 1-(1'-fenylcyklohexyl)piperidinu o objemu $0,4 \text{ cm}^3$ byl doplněn vodnými roztoky $5 \cdot 10^{-4}$ mol. dm^{-3} 2,4-dinitro-1-naftol-6-sulfonové kyseliny a 2,4-dinitro-1-naftol-5-sulfonové kyseliny o pH 5,0 na konečný objem $2,0 \text{ cm}^3$. Po extrakci chloroformem byla měřena absorbance roztoků iontových asociátů při vlnové délce 430 nm. Rovnice kalibrační křivky činila:

$$A_1 = 3800c \pm 0,05;$$

$$A_2 = 3300c \pm 0,05,$$

kde A_1 a A_2 jsou hodnoty absorbance způsobené 2,4-dinitro-1-naftol-6-sulfonovou kyselinou a 2,4-dinitro-1-naftol-5-sulfonovou kyselinou. Koncentrace 1-(1'-fenylcyklohexyl)piperidinu označená c byla stanovitelná až do $80 \text{ ng} \cdot \text{cm}^{-3}$. Analýzu lze podle popsaného postupu provést i při 100násobném

přebytku chininu, piperidinu, pyridinu, diethyllysergamidu, atropinu nebo brucinu.

Příklad 4

Bylo pipetováno po $0,1 \text{ cm}^3$ vodného roztoku $2 \cdot 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ 1-(1'-fenylcyklohexyl)piperidinu a přidáno po $0,1 \text{ cm}^3$ vodného roztoku $4 \cdot 10^{-4} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ 2,4-dinitro-1-naftol-7-sulfonanu sodného a doplněno citrátovým tlumivým roztokem o pH 5,0 na $2,0 \text{ cm}^3$. Vodné vrstvy byly extrahovány postupně $2,0 \text{ cm}^3$ chloroformu, 1,1,2,2-tetrachlorethanu, tetrachlormethanu, benzenu, toluenu a xylenu. Extrakce do chloroformu a 1,1,2,2-tetrachlorethanu probíhala s 80% účinností, tetrachlormethanu 64 %, benzenu 48 %, toluenu 27 %, xylenu 11 %. Nejnižší stanovitelná koncentrace 1-(1'-fenylcyklohexyl)piperidinu byla $2 \cdot 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$.

Z hodnot směrnice jednotlivých kalibračních křivek byly vyjádřeny molární absorpční koeficienty. Při extrakci do chloroformu činil molární absorpční koeficient pro iontový asociát s 1-(1'-fenylcyklohexyl)piperidinem 3900, při extrakci 1,1,2,2-tetrachlorethanem 4800, benzenem 2000, tetrachlormethanem 2300, toluenem 1100 a xylenem $590 \text{ l} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$.

Při extrakci chloroformem a 1,1,2,2-tetrachlorethanem rušil diethyllysergamid až při 40násobném přebytku, chinin při 8násobném přebytku podobně jako strychnin a brucin. Fysostigmin nerušil ani při 100násobném přebytku. Kodein, morfin, papaverin, kofein, akonitin a atropin nerušili stanovení. Při extrakci iontových asociátů ostatními použitými rozpouštědly, vymezenými daným příkladem postupu, nebyla zaznamenána rušící schopnost alkaloidů nebo terciárních aminů.

Příklad 5

Jako konkrétní provozní roztok byl imitován vzorek obsahující 1-(1'-fenylcyklohexyl)piperidinu tak, že 1,0 g sacharózy byl homogenizován se 100 mg 1-(1'-fenylcyklohexyl)piperidinu. Bylo odváženo 10 mg vzorku, rozpuštěno ve vodě a doplněno na $100,0 \text{ centimetr}^3$. Pro stanovení bylo odpipetováno $0,1 \text{ cm}^3$, přidáno $0,1 \text{ cm}^3$ methanolového roztoku $3 \cdot 10^{-3} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ 2,4-dinitro-1-naftol-7-sulfonové kyseliny a doplněno citrátovým tlumivým roztokem na $2,0 \text{ cm}^3$. Chlo-

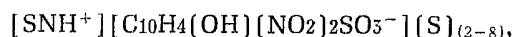
roformové extrakty byly měřeny při 430 nm. Relativní směrodatná odchylka činila 5,09 procenta.

Podle pracovního postupu uvedeného v příkladu 5 byly dále zpracovány roztoky vzorků moči a krevního séra používané v klinické praxi. V těchto tekutinách bylo vždy rozpuštěno po $100 \mu\text{g}$ 1-(1'-fenylcyklohexyl)piperidinu v objemu 1 cm^3 . Sacharóza ani použité tělní tekutiny se neprojevily rušivě na výsledku analýz. Směrnice kalibračních křivek činily $4000 \text{ l} \cdot \text{mol}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$.

Negativní vliv nebyl pozorován do 40násobného přebytku fysostigminu, morfinu, kodeinu, papaverinu, diethyllysergamidu, do osminásobného přebytku strychninu a brucinu a do 1000násobného přebytku kofeinu. Rušivě působily tetraalkylamoniové báze a cetylpyridinium bromid.

Způsob analýzy podle vynálezu vyhovuje svým metodickým uspořádáním požadavkům automatizace i efektivnosti, zde vyjádřené počtem vzorků, které lze zpracovat za hodinu. Postup je upraven tak, aby mohl být zabezpečen tuzemskými chemikáliemi a je použitelný pro spektrofotometry, fotometry a kolorimetry, jimiž jsou základní provozní laboratoře vybaveny. Uvedený způsob je vhodný pro doplnění souboru metod analýzy ve farmacii, soudním lékařství, klinické biochemii, chemické toxikologii a při chemické kontrole.

Citlivost, která je podle způsobu analýzy zabezpečena, dovoluje použít postup podle vynálezu až do mezní koncentrace $1 \cdot 10^{-6} \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ 1-(1'-fenylcyklohexyl)piperidinu ve vzorku vedle 8násobného přebytku brucinu a strychninu, 40násobného přebytku diethyllysergamidu, morfinu, fysostigminu, kodeinu a 1000násobného přebytku kofeinu v konkrétních vzorcích. Vznikající iontový asociát lze napsat vzorcem



kde

$[\text{SNH}^+]$ je protonizovaná forma 1-(1'-fenylcyklohexyl)piperidinu,

$[\text{C}_{10}\text{H}_4(\text{OH})(\text{NO}_2)_2\text{SO}_3^-]$ je aniontem 2,4-dinitro-1-naftol-7-sulfonové kyseliny a

$(\text{S})_{(2-8)}$ je solvatované rozpouštědlo v počtu molekul dvě až osm. Tento počet je určen druhem použitého rozpouštědla.

PŘEDMĚT VYNÁLEZU

Způsob analýzy 1-(1'-fenylcyklohexyl)piperidinu 2,4-dinitro-1-naftoly vyznačený tím, že se na vodný roztok 1-(1'-fenylcyklohexyl)piperidinu působí 2,4-dinitro-1-naftolem vybraným ze skupiny zahrnující 2,4-dinitro-1-naftol, 2,4-dinitro-1-naftol-7-sulfonovou kyselinu, 2,4-dinitro-1-naftol-6-sulfonovou

kyselinu, 2,4-dinitro-1-naftol-5-sulfonovou kyselinu, směs se extrahuje rozpouštědlem vybraným ze skupiny zahrnující benzen, chloroform, tetrachlormethan, 1,1,2,2-tetrachlorethan, toluen nebo xylén a měří se kolorimetricky intenzita zbarvení extraktu iontového asociátu.