

DOCUMENTA CHEMICA YUGOSLAVICA

# GLASNIK

HEMIČARA I TEHNOLOGA  
BOSNE I HERCEGOVINE

18

SARAJEVO 1970

DOCUMENTA CHEMICA YUGOSLAVICA

# GLASNIK

HEMIČARA I TEHNOLOGA  
BOSNE I HERCEGOVINE

18

SARAJEVO 1970

Izdaje Društvo hemičara i tehnologa Bosne i Hercegovine i  
Hemijski institut Prirodno-matematičkog fakulteta Univerziteta  
u Sarajevu

**REDAKCIONI ODBOR — EDITORIAL BOARD**

Glavni urednik — Editor

**Tibor Škerlak**

Pomoćni urednik — Assistant Editor

**Krunoslava Dursun**

Članovi odbora — Members of the Editorial Board

**Zvonko Knežević, Franjo Krleža, Milka Milenković, Vladimir  
Milićević, Zlata Pavlović, Zdravko Pujić, Predrag Radovanović**

Adresa redakcije — Editorial Office

**REDAKCIJA GLASNIKA HEMIČARA I TEHNOLOGA  
BOSNE I HERCEGOVINE**

Hemijski institut Prirodno-matematičkog fakulteta Sarajevo,  
Vojvode Putnika 43

## SADRŽAJ — CONTENTS

Strana

F. Krleža: Utjecaj načina postanka taloga oksidhidrata trovalentnog feruma, aluminiuma i kroma na prikladnost njihove filtracije (Der Einfluss der Art der Entstehung von Niederschlägen der Oxyhydraten des dreiwertigen Eisens, Aluminiums und Chrom auf ihre Filtrierbarkeit) . . . . .	5
M. Savić et J. Savić: La détermination complexométrique de l'aluminium dans certains bronzes d'aluminium (Kompleksometrijsko određivanje aluminijuma u nekim aluminijским bronzama) . . . . .	9
M. Glavaš i T. Ribar: Hidroliza kloropentaminkobalt (III) klorida i bromopentaminkobalt (III) bromida u smjesi voda — dimetilsulfoksid (The Acid and Base Hydrolysis of the Chloropentaminecobalt (III) chloride and Bromopentaminecobalt (III) bromide in Water-Dimethylsulfoxide Mixtures) . . . . .	13
B. Nikolin, A. Nikolin and D. Murko: Structure of some Nicotine Salts and their Fungicidal Action (Structura i fungicidno djelovanje nekih soli nikotina) . . . . .	17
B. Bobarević i M. Trkovnik: Priredivanje N-supstituisanih derivata 3-aminometil-4, 7-dihidroksikumarina II (Darstellung von N-substituierten Derivaten des 3-Aminomethyl-4, 7-dihydroxycumarins) . . . . .	25
M. Milenković, E. Kučukalić i V. Panić: Uticaj ugljenohidratske komponente hrane na biosintezu i iskorištavanje tiamina — II. Dinamika slobodnih aminokiselina u krvnoj plazmi, jetri i urinu odraslog pacova, pri nedostatku tiamina (Influence du composé glucidique de la nourriture à la biosynthèse et l'utilisation du thiamine — II. Dynamique des acides aminés libres dans le plasma sanguin, le foie et l'urine des Rats adultes, carencés en thiamine) . . . . .	29
J. Grujić-Vasić, S. Ramić and R. Popović: Thin-Layer Chromatographic Separation and Colorimetric Determination of some Local Anesthetics and Tropane Alkaloids (Tankoslojna hromatografija i kolorimetrijsko određivanje lokalnih anestetika i tropan-alkaloida) . . . . .	41

- K. Dursun, A. Hadžić: Polarografija azometina aminokiselina  
(Polarographische Untersuchung der Aminosäureazomethine) 47
- D. Murko i H. Džanić: Prilog poznavanju biogenetske dinamike  
tanidnih materija u kori, drvetu i lišću hrasta (Beitrag zur  
Kenntnis von Biogenetische Dynamik der Gerbstoffen in Rin-  
de, Holz und Blätter von Eichen) . . . . . 51

**Iz naše struke**

- Pregled naučnih radova, kongresnih referata i ugovornih tema  
članova Hemijskog instituta Prirodno-matematičkog fakulteta  
Univerziteta u Sarajevu od 1. VII 1968. godine do 31. VIII. 1970.  
godine . . . . . 54

**In memoriam**

- dipl. hem. Omer Hasanagić . . . . . 55

## UTJECAJ NAČINA POSTANKA TALOGA OKSIDHIDRATA TROVALENTNOG FERUMA, ALUMINIUMA I KROMA NA PRIKLADNOST NJIHOVE FILTRACIJE

F. Krleža

Laboratorij za analitičku kemiju, Institut za kemiju,  
Prirodno-matematički fakultet, Univerzitet Sarajevo  
Primljeno 7. decembra 1970.

Talozi oksidhidrata trovalentnog feruma, aluminiuma i kroma priređeni su metodom direktnog taloženja amonijakom, modificiranom amonijakom metodom kao i metodom postepenog razvijanja taložnog iona uslijed termičkog raspadanja karbamida; karbamidmetoda. Utvrđeni su habitusi nastalih taloga i njihove strukture. Talozi su filtrirani preko filterpapira Schleicher-Schüll 589<sup>1</sup>, 589<sup>2</sup> i 589<sup>3</sup>, uvijek na jednak način. Talozi ferumoksidhidrata i aluminijumoksidhidrata dobiveni karbamidmetodom praškasti su, rentgenografski kristalinični: hematit-ciglasto crven i bemit, a mogu se filtrirati samo na filter papir 589<sup>3</sup>. Talozi dobiveni na druga dva načina filtriraju se i na druga dva filterpapira, pahuljastog su habitusa. Komparacijom vremena filtracije vidi se, da je najdulje vrijeme potrebno za filtraciju taloga dobivenog po karbamidmetodi, ali se ovi talozi najlakše ispiru. Talozi kromoksidhidrata nastali karbamidmetodom su zeleni, nitasto-pahuljastog habitusa, a mogu se filtrirati na sva tri filter papira, a talozi dobiveni na ostala dva načina su praškasti, sivozelene boje, a mogu se filtrirati samo na filter papir 589<sup>3</sup>.

### UVOD

Talozi oksidhidrata feruma, aluminiuma i kroma priređivani su metodom direktnog taloženja, modificiranom amonijakom metodom<sup>1</sup> kao i taloženjem u homogenoj sredini postepenim razvijanjem hidroksidnog taložnog iona uslijed termičkog raspadanja karbamida<sup>2</sup>. Kao komponenta pufera upotrebljavan je amonijumnitrat. Promatran je habitus nastalih taloga, a rentgenografski odnosno elektronsko-mikroskopski ispitivana je njihova struktura. Filtracija je vršena uvijek uz iste uslove: na jednake filtere dodavana je količina otopine uvijek do iste visine, a nova količina nakon što je prva otopina potpuno

Napomena: Rad je referiran na 1. jug. kongresu industrijske kemije u Beogradu juna 1969.

profiltrirala. Za filtraciju su primjenjeni filter papiri Schleicher-Schüll 598<sup>1</sup>, 589<sup>2</sup> i 589<sup>3</sup>.

### EKSPERIMENTALNI DIO I REZULTATI

1. Dobivanje taloga metodom direktnog taloženja amonijakom rađeno je po postupku: U cca  $2 \cdot 10^{-2}$  M otopinu nitrata trovalentnog kationa dodaje se po 5 g  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  na 200 ml otopine, ugrije do vrenja i taloži uz stalno miješanje amonijakom koncentracije (1 + 1), koji se dodaje kap po kap.

2. Postupak za dobivanje taloga po modificiranoj amonijak metodi: U 200 ml vode, koja sadrži 5 g  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  i količinu amonijaka potrebnu za taloženje  $\text{Me}^{3+}$  (a koja je unaprijed određena pokusnim taloženjem) dodajemo kap po kap odjelito uz stalno miješanje otopinu  $\text{Me}(\text{NO}_3)_3$  tako, da sistem s obzirom na  $\text{Me}^{3+}$  bude cca  $2 \cdot 10^{-2}$  M.

3. Talozenje po karbamid-metodi: U 200 ml cca  $2 \cdot 10^{-2}$  M otopinu nitrata trovalentnog kationa dodaje se 5 g  $\text{NH}_4\text{NO}_3$  i 2 g karbamida pa se ovako priređeni sistem ostave stajati 8 do 16 sati u sušioniku na temperaturi od 98°C. Termičkim razlaganjem karbamida razvija se hidroksidni taložni ion jednolično, pa imamo talozenje u homogenoj sredini s obzirom na pH-vrijednost.

Tablica 1.

Me <sup>3+</sup> Red. br.	Metoda talože- nja	Temp. taloženja	pH-vrij. prije, na- kon tal.	habitus	rentg. strukt.	talog pro- lazi kroz filter papir Sch-Sch*			Talog filtr. kroz 589	Vrijeme filtr. u min.
				taloga		1	2	3		
Al <sup>3+</sup> 1.	Direktno amonijak	do vre- nja	3,95	hladeti- nast	bemit	—	—	—	1	20
			8,15						2	50
	3	163								
2.	Modif. amonijak metoda	do vre- nja	9,55	pahuljast	bemit	—	—	—	1	15
			8,40						2	47
			3						160	
3.	Karbami- d metoda	98°C	4,10	praškast	bemit	+	+	—	3	160
			7,75							
Fe <sup>3+</sup> 1.	Direktno amonijak	do vre- nja	2,70	pahuljast crveno- smeđ	amorfan	—	—	—	1	36
			8,90						2	61
			3						167	
2.	Modif. amonijak metoda	do vre- nja	9,25	pahuljast smede- crven	amorfan	—	—	—	1	43
			8,75						2	65
			3						145	
3.	Karbami- d metoda	98°C	2,80	praškast ciglasto crven	hematit	+	+	—	3	190
			7,50							
Cr <sup>3+</sup> 1.	Direktno amonijak	do vre- nja	3,30	praškast sivo- zelen	amorfan	+	+	—	3	290
			8,10							
			3							
2.	Modif. amonijak metoda	do vre- nja	8,85	praškast sivo- zelen	amorfan	+	+	—	3	275
			8,20							
			3							
3.	Karbami- d metoda	98°C	3,55	nitasto pahuljast	elektr.- mikrosk. kristali- ničan	—	—	—	1	78
			7,60						2	155
			3						230	

\* Sch-Sch: Filter papir Schleicher-Schüll 589<sup>1</sup>, 589<sup>2</sup>, 589<sup>3</sup>.

I. Aluminiumoksidhidrat taložen karbamid metodom, direktnim taloženjem amonijakom i modificiranom amonijak metodom je kristaliničan -bemit. Kristaliničnost se povećava po redosljedu metoda:

metoda direktnog taloženja amoni- jakom	modificirana amonijak metoda	karbamid metoda
---	------------------------------------	-----------------

Vanjska forma taloga dobivenog po karbamid metodi je prikraćen stožac, ako je talog razvijan u erlenmajerici, dakle ta forma ovisi i o obliku posude. Taloženje je u svim slučajevima potpuno. U filtratu nismo mogli dokazati aluminium-iona (alizarin reakcija), a nitratni su se ioni mogli isprati iz taloga do prestanka reakcije na iste.

II. Talog ferumoksidhidrata taložen po karbamid metodi je rentgenografski kristaliničan -hematit, ciglasto-crvene boje. Taloženje je potpuno i u filtratu nismo mogli dokazati  $Fe^{3+}$  ione (rodanid reakcija), dok se nitratni ioni ispiranjem vodom sporo uklanjaju.

III. Krom je također po ovim metodama potpuno istaložen, što smo pokazali reakcijom sa benzidinom. Rentgenografski su ovi talozi bili amorfni, dok ispitivanjem ogiba elektronskih zraka izlazi, da su kristalinični.

Moramo istaći razliku između habitusa aluminiumoksidhidrata i ferumoksidhidrata s jedne strane i kromoksidhidrata s druge strane. Dok su habitusi prvih dvaju praškasti, kad su dobiveni po karbamidmetodi, a dobiveni po drugim dvjema metodama su gelasti odnosno pahuljasti, dotle su talozi oksidhidrata kroma obrnutog habitusa.

#### LITERATURA

1. F. Krlježa, Arhiv kem. 25 (1953) 97.
2. H. H. Willard and J. L. Sheldon, Anal. Chem. 22 (1950) 1163.

#### ZUSAMMENFASSUNG

**Der Einfluss der Art der Entstehung von Niederschlägen der Oxyhydraten des dreiwertigen Eisens, Aluminiums und Chrom auf ihre Filtrierbarkeit**

F. Krlježa

Die Niederschläge der Oxyhydraten von dreiwertigen Eisen, Aluminium und Chrom sind nach der Methode der direkten Fällung, nach der modifizierte Ammoniakmethode und nach der Karbamidmethode vorbereitet. Weiter wurde Habitus und die röntgenographische Struktur dieser Niederschläge untersucht und der Einfluss der Art ihrer Entstehung auf die Filtrierbarkeit festgestellt.

Eingegangen am 7 December 1970.

LABORATORIUM FÜR ANALYTISCHE  
CHEMIE CHEMISCHES INSTITUT  
UNIVERSITÄT SARAJEVO



## LA DETERMINATION COMPLEXOMETRIQUE DE L'ALUMINIUM DANS CERTAINS BRONZES D'ALUMINIUM

M. Savić — J. Savić

Reçu le 20. juny 1970.

Laboratoire de la chimie analytique, Institut de chimie de la Faculté  
des Sciences, Sarajevo

On a développé le procédé pour la détermination complexométrique de l'aluminium dans les bronzes d'aluminium avec un contenu de Fe et Ni moins que 2,5%. Le procédé est fondé sur la séparation de Sn en forme de SnO<sub>2</sub>, avec la séparation de Cu et Pb par l'électrolyse et sur la séparation de Fe, Mn et Ni par l'excès de NaOH. Au filtrat, Al est déterminé par la titration d'EDTA, libérée de Al-complexonate par l'addition de NaF, avec la solution de ZnSO<sub>4</sub> et le dithizone ou xylenol orange, comme l'indicateur. Le procédé est vérifié sur un échantillon d'étalon de bronze d'aluminium.

La détermination de Al aux matériaux naturels et dans les produits techniques représente une tâche analytique dont les difficultés sont connues depuis longtemps et laquelle, à l'heure actuelle, ne peut pas être considéré comme résolue satisfaisante.

Pour l'accélération et la facilitation du procédé d'analyse de Al-bronzes, il existe une série des méthodes, dans lesquelles, par l'application de la volumétrie ou les méthodes instrumentales, on essaye d'éviter le procédé gravimétrique.

Parmi les méthodes volumétriques on utilise le plus souvent la complexométrie (1—11).

### PARTIE EXPERIMENTALE

*Réactifs* — On a utilisé les réactifs de la pureté garantie (p. a.).

Pour l'estimation de la qualité du procédé proposé, on a utilisé l'échantillon d'étalon de AlMBz, un produit de Bundesanstalt für Material Prüfung (BAM), Berlin-Dahlen, de la composition suivante:

Ce travail a pu être réalisé grâce à un contrat passé avec Fond za naučni rad SRBiH, que nous remercions ici pour son soutien financier.

% Cu —	85,1	% Pb —	0,14
% Al —	9,39	% Si —	0,077
% Fe —	1,9	% P —	0,018
% Mn —	1,89	% As —	0,009
% Sn —	0,28	% S —	0,003
% Ni —	0,24	% Bi —	0,0016

Pour obtenir l'acidité définie, on a utilisé le tampon d'acetate, du pH 5—6: 860 ml de NaAc 1 M + 140 ml de HAC 1 M.

Les titrations sont effectuées avec la solution titrée de  $ZnSO_4$  0,05 M, préparée de Zn métallique ( $Zn \geq 99,999\%$ ). La solution d'EDTA est étalonnée avec la solution titrée de  $ZnSO_4$  (12).

Xylenol orange a été appliqué solide en forme du mélange avec  $KNO_3$  (1:100).

Le dithizone a été utilisé en forme de la solution 0,2% au EtOH ou au acétone, et cette solution a été préparée fraîche chaque jour.

*Mode opératoire.* — Environ 1 gr de l'échantillon est mis en solution avec 15—20 ml  $HNO_3$  (2:1). La solution est évaporée à un volume petit, on a ajouté 50 ml de l'eau chaude, et le système est tenu au cours d'une demi-heure sur une bain-marie, pour la séparation d'étain, éventuellement présent. Le précipité est filtré sur un filtre-papier dense, et il est lavé quelques fois avec l'acide nitrique 2%.

Le filtrat est cuit des oxides d'azote, on a ajouté 2 ml de l'acide nitrique concentré cuit, une goutte de HCl 0,1 N, une petite cuillère de l'urée et la solution est électrolysée pour la séparation de Cu et Pb (13). Après l'électrolyse, la solution est chauffée jusqu'à l'ébullition et après l'adition de 0,5 gr de  $(NH_4)_2S_2O_8$ , les hydroxides sont précipités avec NaOH 20%, en ajoutant plusieurs fois en petites portions et avec une agitation intensive, jusqu'à la précipitation complète. Ensuite, on ajoute encore 25 ml de la solution de NaOH comme l'excès.

Le système est bouilli 5 minutes, il est tenu environ une demi-heure à la température de 70—80°C et il est filtré à travers le filtre-papier de moyenne densité, dans une fiole jaugée de 500 ml. Le précipité est lavé quelques fois avec NaOH 10% chaud. Après la fin de lavage et du refroidissement, on amène le volume de la solution avec l'eau jusqu'à la marque.

Pour la détermination de l'aluminium, on prend les aliquots de 50,00 ml, on ajoute 15,00 ml de la solution d'EDTA 0,05 M, une goutte de phénolphthaléine et de HCl (1:1) jusqu'à la décoloration de l'indicateur. Ensuite, quelques gouttes de HCl en excès, et la solution est laissée bouillir 1—2 minutes. Après du refroidissement, on ajoute dans la solution 20 ml du tampons pH = 5—6, peu de l'indicateur xylenol orange ou 2 ml 0,2% de la solution alcoolique du dithizone. On titre en retour l'excès d'EDTA avec  $ZnSO_4$  jusqu'au premier virage de la coloration de l'indicateur de jaune à rosé, ou de beige à rosé, respectivement. (Avant la titration en présence du dithizone, on ajoute dans la solution, après le refroidissement, le volume égal de EtOH 96%, ou un volume demi-moindre de l'acétone).

Après l'obtention du premier virage de l'indicateur, on ajoute, dans la solution rétitrée, 0,5—1 gr de NaF solide, on chauffe la solution et à chaud on continue la titration d'EDTA libérée, avec  $ZnSO_4$  jusqu'au virage répété de la coloration de l'indicateur. À la fin on doit titrer lentement, chauffer la solution s'il est nécessaire, et on continue la titration jusqu'au virage constante de la coloration de l'indicateur.

La quantité présente de Al on calcule de la quantité de  $ZnSO_4$  consommée pour la titration dernière.

## RESULTATS ET DISCUSSION

Dans le tableau suivant sont présentés les résultats obtenus par l'application du procédé décrit précédemment, sur un échantillon d'étalon BAM de bronze d'aluminium. Comme on peut voir du tableau, les résultats obtenus pour le contenu de Al, avec tous les deux indicateurs appliqués sont plus bas du contenu réel pour environ 0,2% absolue. Pour la majorité des travaux pratiques c'est une exactitude satisfaisante.

TABLEAU

Pesée de bronze = 1,0000 gr; % Al = 9,39				
XYLENOL ORANGE		DITHIZONE		
% Al trouvé comme une valeur moyenne des quatre déterminations au moins	L'écart de la valeur exacte en % absol.	% Al trouvé comme une valeur moyenne des quatre déterminations au moins	L'écart de la valeur exacte en % absol.	
9,31	-0,08	9,27	-0,12	
9,20	-0,19	9,32	-0,07	
9,15	-0,24	9,26	-0,13	
9,22	-0,17	9,29	-0,10	
9,27	-0,12	9,16	-0,23	
val. moy.	9,23	-0,16	9,26	-0,13

Le séparation de Al de Fe, Mn et Ni, avec NaOH en excès, est le point critique de la méthode. La réprécipitation du précipité des hydroxides améliore le résultat pour le contenu de Al, mais à la fois prolonge quelque chose du procédé seul.

Les titrations parallèles effectuées avec les indicateurs choisis, sont mutuellement dans un bon accord, puisque le changement de la coloration est suffisamment distinct et bien apercevable, ainsi que la reproductibilité des résultats obtenus est élevée (0,01 à 0,02% absolue).

## BIBLIOGRAPHIE

1. V. A. Radko, Tr. Ural, Politechn. inst. (1967) No. 163, 98 référé au CA 69 (1968) 24215 z.
2. G. Kraft et H. Dosch, Z. Erzberg bau Metallhüttenwerke (1968) 21 (7), 308. Référé au CA 69 (1968) 113197 n.
3. O. I. Popova et J. N. Godovanaya, Ukr. Him. Z. 32 (1966) 217, référé au CA 64 (1966) 16612 f.
4. O. I. Popova et J. N. Godovanaya, Z. Anal. Him. 20 (1965) 355.
5. T. V. Sinitsyna et Z. I. Zhideleva, Tr. Vses. Naučn. Isled. Konstrukt.-Tehnol. Inst. Podšipnik. Prom. (1964) (3) 34, référé au CA 64 (1966) 1333 h.

6. L. Y. Polyak, *Spektraln. i Khim. Metody Analiza Materialov*, Sb. Metodik (1964) 160. Référé au CA 62 (1965) 1079 c.
7. T. Miyajima, *Japan Analyst* 13 (1964) 362. Référé au CA 61 (1964) 1250 b.
8. K. E. Burke et C. M. Davis, *Anal. Chem.* 36 (1964) 172.
9. V. D. Konkin et V. I. Zhikareva, *Sb. Tr. Ukr. Nauchn.-Isled. Inst. Metal.* (1962) No. 8, 329. Référé au CA 58 (1963) 11940 g.
10. M. J. Rozenberg, *Zav. Lab.* 24 (1958) 1060.
11. M. Freegard et Mrs. B. Allen, *Analyst* 85 (1960) 731.
12. R. Přibil, *Komplexometrie*, Band I, VEB deutscher Verlag für Grundstoffindustrie, Leipzig, 1960, p. 60 et 81.
13. G. Charlot, *Les méthodes de la chimie analytique*, Masson et Cie, Paris, 1961, p. 717 et 865.

## I Z V O D

### KOMPLEKSOMETRIJSKO ODREĐIVANJE ALUMINIJUMA U NEKIM ALUMINIJSKIM BRONZAMA

M. Savić i J. Savić

Izrađen je postupak za kompleksometrijsko određivanje aluminijuma u aluminijumskim bronzama sa manje od 2,5% Fe i Ni. Postupak se zasniva na odvajanju kalaja kao  $\text{SnO}_2$ , elektrolitičkom odvajanju barija i olova i odvajanju Al od Fe, Ni i Mn sa viškom NaOH. U filtratu se Al određuje titracijom EDTA, oslobođene iz Al-kompleksonata dodavanjem čvrstog NaF, sa 0,05 M standardnim rastvorom  $\text{ZnSO}_4$ , uz ksilenol oranž, ili ditizon kao indikator. Titracija uz ditizon vrši se u sistemu sa 50% (V/V) EtOH ili 30% (V/V) acetona.

Postupak je provjeren na BAM-standardnom uzorku Al-bronze. Dobijeni rezultati, dati u tabeli, niži su za oko 0,2 apsolutnih procenata od stvarnog sadržaja Al. Pretaloživanje taloga hidroksida poboljšava rezultate za aluminijum, ali nešto produžava postupak.

LABORATORIJA ZA ANALITIČKU HEMIJU,  
HEMIJSKI INSTITUT PRIRODNO-MATEMATIČKOG FAKULTETA, SARAJEVO

Primljeno 20. juna 1970

## HIDROLIZA Kloropentaminkobalt (III) Klorida I Bromopentaminkobalt (III) Bromida U SMJESI VODA — DIMETILSULFOKSID

M. Glavaš, T. Ribar

Hemijski Institut Prirodno-matematičkog fakulteta u Sarajevu,  
Sarajevo, Vojvode Putnika 43  
Primljeno 24. novembra 1970.

Hidroliza acidopentaminskih kompleksa kobalt (III) u vodenom rastvoru je prilično detaljno proučavana. Međutim, dosada je izvršeno malo ispitivanja ovih reakcija u mješovitim rastvaračima. Ovaj rad je proveden u cilju ispitivanja uticaja dodatka dimetilsulfoksida (DMSO) na kiselinsku kao i baznu hidrolizu kloropentaminkobalt (III) klorida i bromopentaminkobalt (III) bromida.

### EKSPERIMENTALNI DIO

#### Supstance

Kloropentaminkobalt (III) klorid je sintetiziran prema uputstvu Schlessinger-a<sup>1</sup>), a bromopentaminkobalt (III) bromid je pripremljen prema Booth-u<sup>2</sup>). Ovi kompleksi su analizirani na sadržaj kobalta i halogena. Analizom je nađeno: 23,66% Co i 42,21% Cl (teorijski: 23,56% Co i 42,49% Cl), odnosno 15,26% Co i 62,25% Br (teorijski: 15,36% Co i 62,46% Br). Beskarbonatni NaOH je bio pripreman prema Vogel-u<sup>3</sup>). Upotrebljeni DMSO, firme Merck (za sintezu), bio je čišćen frakcionom destilacijom. Tačka topljenja je iznosila 18,25°C.

#### Kinetska mjerenja

Praćenje kinetike kiselinske kao i bazne hidrolize ovih jedinjenja je vršeno merkurimetrijskim određivanjem sadržaja klorida odnosno bromida. Kiselinska hidroliza je praćena na 30,0±0,1°C odnosno na 25,0±0,1°C. Kinetika bazne hidrolize je ispitivana na 0,0°C, koja je održavana pomoću smjese voda-led, ravnomjerno mješana u Dewar-ovom sudu. Zaustavljanje ove reakcije vršeno je stavljanjem 5 ml-skog alikvota reakcione smjese u razblažen rastvor perklorne kiseline.

Napomena: Ovaj rad je izrađen uz materijalnu pomoć Fonda za naučni rad SRBIH u Sarajevu.

## REZULTATI I DISKUSIJA

Podaci navedeni u tabeli 1 i 2 pokazuju da se konstante brzine kiselinske hidrolize ovih kompleksa malo smanjuju sa povećanjem količine dodanog DMSO. Navedene konstante predstavljaju srednju vrijednost najmanje dva zasebno izvršena određivanja.

TABELA 1

Konstante brzine kiselinske hidrolize $[\text{Co}(\text{NH}_3)_5\text{Cl}]\text{Cl}_2$ u smjesi voda-DMSO						
$t=30,0 \pm 0,1^\circ\text{C}$						
vol. % DMSO	0	10	20	30	40	50
$k \cdot 10^4 \text{ min}^{-1}$	1,82	1,40	1,29	1,17	1,21	0,79

TABELA 2

Konstante brzine kiselinske hidrolize $[\text{Co}(\text{NH}_3)_5\text{Br}]\text{Br}_2$ u smjesi voda-DMSO						
$t=25,0 \pm 0,1^\circ\text{C}$						
vol. % DMSO	0	10	20	30	40	50
$k \cdot 10^4 \text{ min}^{-1}$	3,72	3,53	3,26	3,09	3,04	2,86

Usporavanje ove reakcije nakon dodatka rastvarača, koji ima nižu dielektričnu konstantu od vode, ide u prilog  $\text{S}_{\text{N}}1$  mehanizma procesa akvatacije. Kod ovog mehanizma spora faza, koja određuje brzinu reakcije je disocijacija kompleksa, a taj proces je otežan u ovom mješovitom rastvaraču.

Ovakav efekt dodatka DMSO u skladu je i sa  $\text{S}_{\text{N}}2$  FS mehanizmom ove reakcije — bimolekularnog procesa frontalnog istiskivanja aniona.

Znatno ubrzanje reakcije bazne hidrolize (tabela 3 i 4) ovih acidopentaminskih kompleksa kobalt (III) nakon dodatka DMSO može se objasniti osobinom ovog aprotinskog rastvarača da praktično ne solvatizira male anione, velike gustoće naboja, kao što je hidroksilni jon. Zato se sa povećanjem sadržaja DMSO sve više povećava reaktivnost hidroksilnog jona, pa otuda znatno ubrzanje ove nukleofilne supstitucione reakcije, koja se odvija po  $\text{S}_{\text{N}}2$  mehanizmu.

TABELA 3

Konstante brzine bazne hidrolize $[\text{Co}(\text{NH}_3)_5\text{Cl}]\text{Cl}_2$ u smjesi voda-DMSO						
$t=0,0^\circ\text{C}$						
vol. % DMSO	0	10	20	30	40	50
$k \cdot 10^2 \text{ (l. mol}^{-1} \cdot \text{sec}^{-1})$	2,11	3,17	3,77	5,37	9,49	22,3

TABELA 4

Konstante brzine bazne hidrolize $[\text{Co}(\text{NH}_3)_5\text{Br}]\text{Br}_2$ u smjesi voda-DMSO						
$t=0,0^\circ\text{C}$						
vol. % DMSO					0	50
$k \cdot 10^2 \text{ (l. mol}^{-1} \cdot \text{sec}^{-1})$					8,64	257

Naši rezultati dobijeni u vodenom rastvoru dobro se slažu sa literaturnim podacima<sup>4), 5), 6)</sup>. Dalja proučavanja ovih reakcija su u toku.

## LITERATURA

1. G. G. Schlessinger, Inorganic Laboratory Preparations, Chemical Publishing Company, New York, (1962), p. 207, 214.
2. H. S. Booth, Inorganic Synthesis, Vol. I, (1939), p. 186.
3. A. I. Vogel, A Text-Book of Quantitative Inorganic Analysis, Longmans, (1961), p. 274.
4. F. Basolo, R. G. Pearson, Mechanisms of Inorganic Reactions, J. Wiley, New York, (1967), p. 164.
5. S. C. Chan, K. I. Hui, J. Miller, W. S. Tsang, J. Chem. Soc. (1965), 3207.
6. G. W. Bushnell, G. C. Lalor, J. Inorg. Nucl. Chem. 30, (1968.) 219.

## SUMMARY

### **The Acid and Base Hydrolysis of the Chloropentamminecobalt (III) chloride and Bromopentamminecobalt (III) bromide in Water-Dimethylsulfoxide Mixtures**

M. Glavaš and T. Ribar

The effect of added dimethylsulfoxide on the acid and base hydrolysis of the chloropentamminecobalt (III) chloride and bromopentamminecobalt (III) bromide has been studied. The rate of acid hydrolysis of these complexes is decreasing, but the rate of base hydrolysis is markedly increasing.

Received November 24, 1970

INSTITUTE OF CHEMISTRY  
UNIVERSITY OF SARAJEVO

## STRUCTURE OF SOME NICOTINE SALTS AND THEIR FUNGICIDAL ACTION\*

B. Nikolin, A. Nikolin and D. Murko

Institute of Chemistry, University of Sarajevo, Sarajevo, Yugoslavia.  
Received November 26, 1970

Some crystalline salts of nicotine with organic acid and phenols have been synthesised. The synthesised compounds have been tested on fungicidal activity. The chemical composition, structure and type of chemical bond were determined by means of elementary analysis, ultra-violet and infra-red spectroscopy.

In order to compare the results obtained with nicotine salts, salts of pyridine and N-methylpyrrolidine with same substances were prepared.

The molecule of nicotine [1-methyl-2-(3-pyridil) pyrrolidine] having two heterocyclic components, acts as a ditertiary base and gives salts of different molecular composition. The stronger basic component of the nicotine molecule is the N-methylpyrrolidine nucleus. This can be concluded from the dissociation constants of nicotine, pyridine and N-methylpyrrolidine [nicotine  $K_1 = 7.10^{-7}$ ,  $K_2 = 1.4 \cdot 10^{-11}$  (1), pyridine  $K = 2.4 \cdot 10^{-9}$  (2) and N-methylpyrrolidine  $K = 1.5 \cdot 10^{-4}$  (3)].

Nicotine itself posses strong fungicidal and insecticidal activity, but has no essential use as an insecticide and fungicide, because nicotine is a strong poison for human beings and mamals. In order to prepare compounds with fungicidal activity and protect the molecule of nicotine from oxidative decomposition, we synthesised some stable crystalline compounds of nicotine with aromatic acids and phenols.

Nicotine as a base gives molecular complex compounds with inorganic and organic acids and with compounds of an acidic cha-

\* Presented at the XXXVIII th International Congress of Industrial Chemistry, Istanbul, September, 1969.



racter. Nicotine with aliphatic and aromatic monocarboxylic acid and phenols gives liquid compounds (4, 5). With aromatic acids and nitrophenols nicotine gives crystalline salts (6, 7). The composition of crystalline salts is different. Using infra-red spectroscopy we investigated some crystalline nicotine salts with different molecular compositions. We found that in salts of composition 1 mol of nicotine: 1 mol of acid the acid components bind the nitrogen atom of N-methylpyrrolidine ring and produce salts of the ammonium type. In compounds of composition 1 mol of nicotine : 2 molecules of acids one molecule binds to the N-methylpyrrolidine ring and the other to the pyridine ring by the hydrogen bond (8).

TABLE 1.

No.	Compound	M. p. °C	Analyses	
			% N	calc'd found % nicotine
1.	Nicotine -pentachloro-phenolate	125	4.03 3.95	23.34 23.05
2.	N-methylpyrrolidine-pentachlorophenolate	208	3.98 4.15	
3.	Nicotine-9-hydroxyfluorene-9-carboxylate	131	4.56 4.81	26.38 25.95
4.	N-methylpyrrolidine-9-hydroxyfluorene-9-carboxylate	133	4.50 4.43	
5.	Pyridine-9-hydroxyfluorene-9-carboxylate	170	4.59 4.40	
6.	N-methylpyrrolidine-toluene-p-sulfonate	207	5.44 5.60	
7.	Pyridine-toluene-p-sulfonate	115	5.70 5.30	

#### EXPERIMENTAL

All melting points were taken on a Kofler apparatus. Nicotine was determined as a nicotine-dipicrate.

For preparations of nicotine, pyridine and N-methylpyrrolidine salts, acids were dissolved in hot ethanol and appropriate bases were carefully added. After cooling, the solid precipitate was obtained except in case of nicotine-p-toluene-sulfonate. Recrystallisation of the products were carried out from ethanol or acetone. Prepared salts are listed in Table 1.

#### Spectroscopy

The ultra-violet spectra were recorded with a Unicam S. P. 500 spectrophotometer. All investigated substances were dissolved in 96% ethanol. The infra-red spectra were recorded by a »Perkin-Elmer« 337 grating scetrophotometer. The substances were muled with KBr.

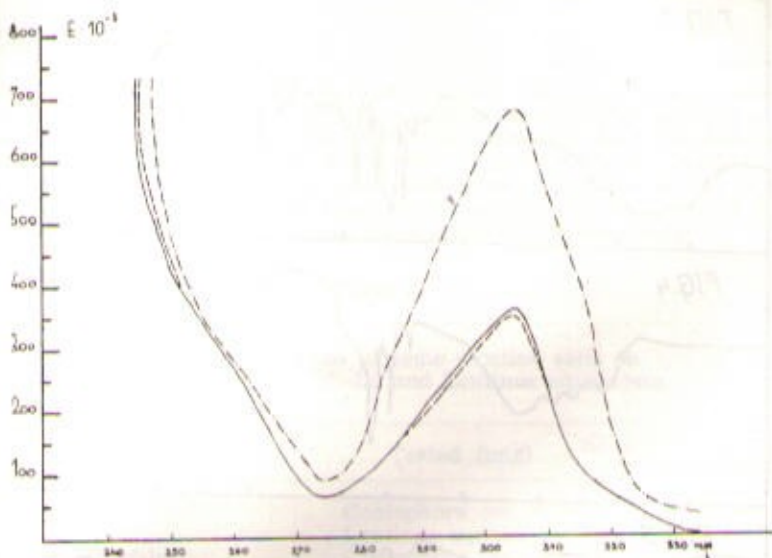


Fig. 1. — Ultra-violet spectra of nicotine pentachlorophenolate ( $Cm 10^{-4}$ ) — · — · — · — ·; N-methylpyrrolidine-pentachlorophenolate ( $Cm 10^{-4}$ ) — — — — — and pentachlorophenolate ( $Cm 10^{-4}$ ) — — — — —.

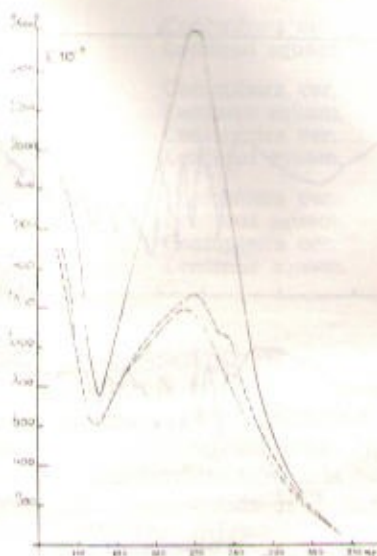
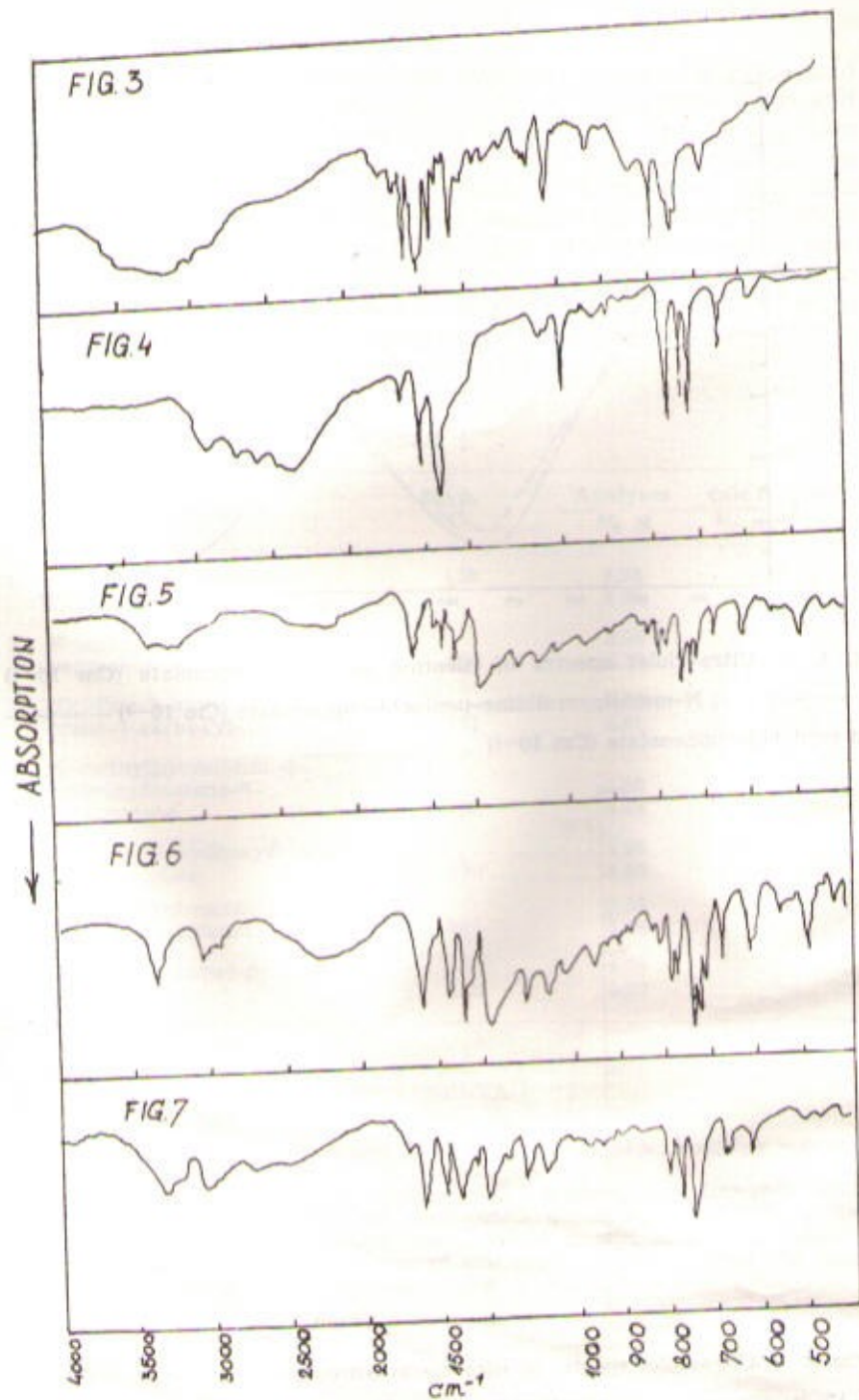


Fig. 2. — Ultraviolet spectra of nicotine-9-hydroxyfluorene-9-carboxylate ( $Cm 10^{-4}$ ) · — · — · — ·; pyridine-9-hydroxyfluorene-9-carboxylate ( $Cm 10^{-4}$ ) — — — — — and N-methylpyrrolidine-9-hydroxyfluorene-9-carboxylate ( $Cm 10^{-4}$ ) — · — · — · — ·.



Figs. 3-7. — Infra-red spectra of nicotine-pentachlorophenolate (Fig. 3), N-methylpyrrolidine-pentachlorophenolate (Fig. 4), nicotine-9-hydroxyfluorene-9-carboxylate (Fig. 5), pyridine-9-hydroxyfluorene-9-carboxylate (Fig. 6), and N-methylpyrrolidine-9-hydroxyfluorene-9-carboxylate (Fig. 7).

### Fungicidal investigation

Toxicity determination was made on the test fungi *Coniophora cerebella* and *Lentinus squamosus* using malt-agar culture test (9). The solution of the investigated nicotine salts was added to the malt-agar and the total concentration was between 0.005 and 1.0%. The prepared malt-agar medium was first sterilized and then test fungi were inoculated and incubated for 28 days in termostate at 24—26° and 75% humidity. A control test was carried out at the same time. Readings of the results were taken every seven days.

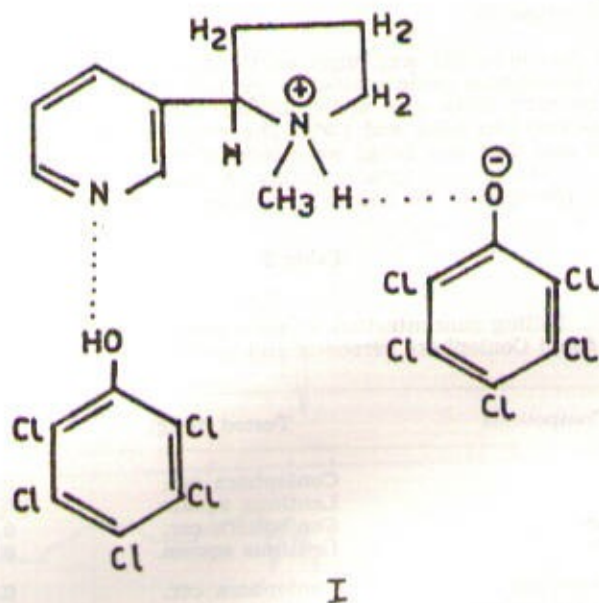
**Table 2.**

Killing concentration of some nicotine salts on fungi *Coniophora cerebella* and *Lentinus squamosus*

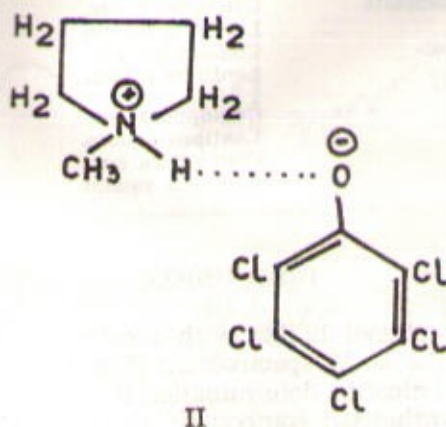
Compounds	Tested fungi	Killing concentration in percentages
1. Nicotine	<i>Coniophora cer.</i>	0.1
	<i>Lentinus squam.</i>	0.5
2. Nicotine-pentachlorophenolate	<i>Coniophora cer.</i>	0.05
	<i>Lentinus squam.</i>	0.01
3. Nicotine-9-hydroxyfluorene-9-carboxylate	<i>Coniophora cer.</i>	0.5
	<i>Lentinus squam.</i>	0.5
4. Nicotine-gallate	<i>Coniophora cer.</i>	0.1
	<i>Lentinus squam.</i>	0.1
5. Nicotine-ftalate	<i>Coniophora cer.</i>	0.5
	<i>Lentinus squam.</i>	0.1
6. Nicotine-dinitrophenolate	<i>Coniophora cer.</i>	—
	<i>Lentinus squam.</i>	0.05
7. Nicotine-1-naphtol-2-carboxylate	<i>Coniophora cer.</i>	1.0
	<i>Lentinus squam.</i>	0.5
8. Nicotine-dinitrophenolate' CuSO <sub>4</sub>	<i>Coniophora cer.</i>	0.5
	<i>Lentinus squam.</i>	0.01
9. Nicotine-gallate Cu(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub>	<i>Coniophora cer.</i>	0.1
	<i>Lentinus squam.</i>	0,05

### DISCUSSION

1. Pentachlorophenol builds with nicotine a stable crystalline compound. From the U. V. spectrogram (Fig. 1), from the results of micro analysis and nicotine determination it is evident that molecular composition of synthesised compounds is 1 mol of nicotine and 2 mols. of pentachlorophenol. The infra-red spectrogram of nicotine-pentachlorophenol has a broad band at 3600—2800 cm<sup>-1</sup> which shows that hydrogen bonding is present. The absence of the phenolic OH group at 3400 cm<sup>-1</sup> leads to indirect conclusion that one molecule of pentachlorophenol is bound to the N-methylpyrrolidine ring by the protonations of the nitrogen atom. The second molecule of pentachlorophenol is bound to the nitrogen atom of pyridine by a hydrogen bound. The structure of this salt is shown in the formula (I).



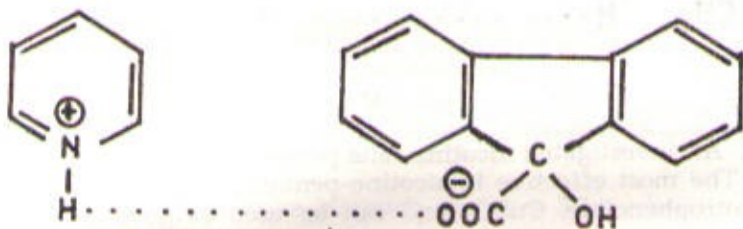
2. The crystalline salt of N-methylpyrrolidinium-pentachlorophenol has equivalent composition (micro analyses and U. V. spectrogram (Fig. 1)). The infra-red spectrogram (Fig. 4) has no band of OH group at  $3400\text{ cm}^{-1}$ . The structure of this salt is shown in the formula (II).



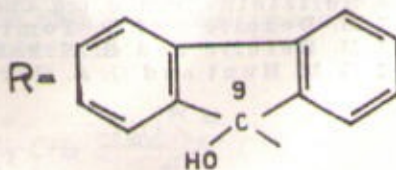
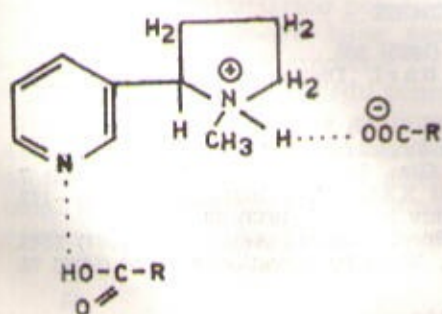
3. We could not prepare a crystalline salt of pyridine with pentachlorophenol because in this case a labile crystalline adduct was produced, which could not be isolated due to its decomposition upon recrystallisation.

4. The 9-hydroxyfluorene-9-carboxylic acid gives a crystalline salt with nicotine. According to the results obtained from micro-analyses, nicotine determination and U. V. spectrogram (Fig. 2) molecular

composition of this salts is 1 mol of nicotine: 2 mols of acid. On the infra-red spectrogram (Fig. 5) strong carboxylate bands at  $1617\text{ cm}^{-1}$  and at  $1358\text{ cm}^{-1}$  are present. The band of the carbonyl group at  $1720\text{ cm}^{-1}$  is absent. The broad band at  $3500\text{--}2500\text{ cm}^{-1}$  indicates presence of hydrogen bond. According to this evidence the first molecule of acid is bound to the nitrogen atom of the N-methylpyrrolidine ring. The absence of the pyridinium ion at  $1530\text{ cm}^{-1}$  shows that the second molecule of the acid is bound to the nitrogen atom of pyridine by a hydrogen bond. The structure of this salt will be as follows (III).



III



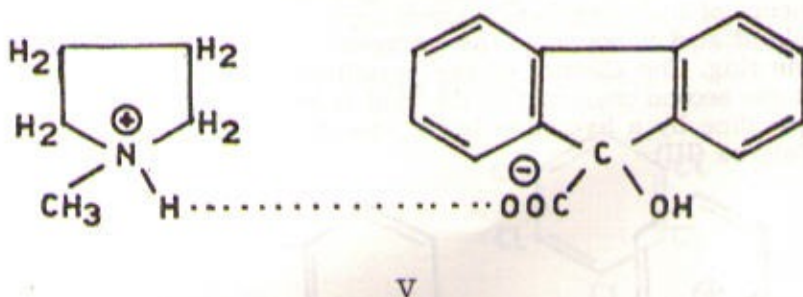
IV

5. According to the results of micro-analyses and U. V. spectrogram (Fig. 2) the molecular composition of the crystalline salt of pyridine-9-hydroxyfluorene-9-carboxylate is 1 mol of base: 1 mol of acid. The infra-red spectrogram (Fig. 6) shows the presence of a carboxylate band at  $1630\text{ cm}^{-1}$  and a weak band of OH group at  $3400\text{ cm}^{-1}$ . The structure of this compound is as follows (IV).

6. N-methylpyrrolidine-9-hydroxyfluorene-9-carboxylate has equimolecular composition (micro-analyses and U. V. spectrogram (Fig. 2) and according to the infra-red spectrogram (Fig. 7) has the following structure (V).

7. Toluene-p-sulphonic acid with nicotine gives a liquid compound, but with pyridine and N-methylpyrrolidine gives crystalline

salts. Molecular compositions in all cases are 1 mol of acid: 1 mol of base. Infra-red spectrograms of this compounds are complicated to interpret.



8. All investigated nicotine salts possess fungicidal activity (Table 2). The most effective is nicotine-pentachlorophenolat and nicotine-dinitrophenolate. CuSO<sub>4</sub> and can be used as good wood preservatives.

#### REFERENCES

1. J. M. Kolthoff, *Biochem. Z.* 162. (1925) 305.
2. J. Hellborn and H. M. Bunburi, *Dictionary of Organic Compounds* Vol. IV. (1953) 275.
3. L. C. Craig, *J. Am. Chem. Soc.* 75, (1933) 2543.
4. I. Turković, Dissertation, Zagreb, Yugoslavia, 1942.
5. M. Deželić and B. Stančić, *Glas. Druš. Hem. NRBiH* 1 (1952) 7.
6. Beilstein's, *Hbd. d. org. Chem.* Bd XXIII Hpt. (1937), Berlin, 110—177.
7. M. Deželić and D. Tomić, *Arhiv kem.* 17 (1943) 39.
8. M. Deželić and B. Nikolin, *Spectrochimica Acta*, 23 A (1967) 1149.
9. G. M. Hunt and G. A. Garratt, *Wood Preservation, Sec. Bd* (1953) 78.

#### I Z V O D

### STRUKTURA I FUNGICIDNO DJELOVANJE NEKIH SOLI NIKOTINA

B. Nikolin, A. Nikolin i D. Murko

Privedene su neke kristalizirane soli nikotina, piridina i N-metilpirolidina sa aromatskim kiselinama i pentahlorfenolom. Molekulski sastav i struktura priređenih soli određen je na osnovu rezultata mikro analize i snimljenih spektara u ultravioletnom i infracrvenom području.

Niz soli nikotina je ispitan na fungicidno djelovanje.

Primljeno 26. novembra 1970.

INSTITUT ZA HEMIJU  
SARAJEVO

## PRIREDIVANJE N-SUPSTITUISANIH DERIVATA 3-AMINOMETIL-4,7-DIHIDROKSIKUMARINA II\*

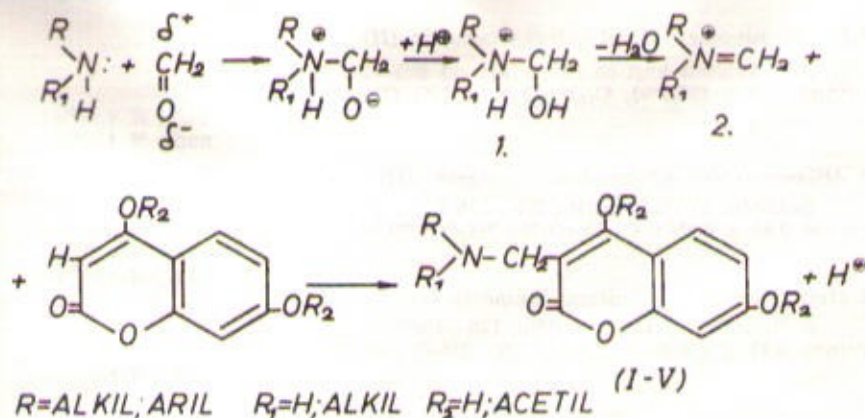
B. Bobarević, M. Trkovnik

Laboratorij za organsku hemiju i biohemiju, Hemijski institut  
 Prirodno-matematičkog fakulteta Univerziteta u Sarajevu.  
 Prilmljeno 25. novembra 1970.

Priredeni su N-supstituisani derivati 3-aminometil-4,7-  
 dihidroksikumarina i 3-aminometil-4,7-diacetil Kumarina pri-  
 mjenom Mannich-ove reakcije.

U najnovije vrijeme neke Mannich-ove baze 3-hidroksikumarina  
 pokazale su baktericidna, fungicidna i antivirusna svojstva<sup>1)</sup>. Zbog  
 toga smo priredili neke Mannich-ove baze 4,7-dihidroksikumarina i  
 4,7-diacetil Kumarina, jer je poznato da polihidroksikumarini u odnosu  
 na monohidroksikumarine pojačavaju baktericidnu aktivnost<sup>2)</sup>.

Neke Mannich-ove baze nesupstituisanog 4-hidroksikumarina  
 opisali su gotovo istovremeno Ž. Prochazka<sup>3)</sup> i Robertson i Link<sup>4)</sup>.  
 Mannich-ove reakcije između primarnih i sekundarnih amina i 4-hid-  
 roksikumarina i njegovih derivata teku tako da se izdvaja mole-  
 kula vode pri čemu se jedan vodikov atom izdvaja iz položaja tri  
 4-hidroksikumarina, a drugi atom iz amina uz prisustvo formalde-  
 hida. Mehanizam nastanka Mannich-ovih baza 4-hidroksikumarina i  
 njegovih derivata mogli bismo ovako protumačiti:



\* Prvo saopštenje objavljeno u Croat. Chem. Acta 42 (1970) 57.

Napomena: Ovaj rad je izrađen uz materijalnu pomoć Fonda za naučni  
 rad SR BiH u Sarajevu.



U prvoj fazi reakcije vjerovatno se adira slobodni elektronski par atoma azota u aminu na parcijalno pozitivni ugljikov atom karbonylne grupe pri čemu nastaje adukt 1, koji primanjem protona i odcepljenjem vode vjerovatno prelazi u kation 2. Ovaj kation se pojavljuje kao aminometilirajući agens i djeluje na elektrofilnu supstituciju odgovarajućeg nukleofilnog učesnika reakcije (4-hidroksikumarina).

Pošto je 4,7-dihidroksikumarin<sup>5</sup>) manje reaktivan od samog 4-hidroksikumarina sve ove reakcije se izvode na temperaturi ključanja etanolskih otopina. Potpuna kristalizacija novonastalih spojeva postiže se stajanjem reakcione smjese na sobnoj temperaturi od 1 do 5 dana.

Sve ove supstancije su netopive u eteru, topive u alkalijama, a niži članovi su slabo topivi u vodi.

#### EKSPERIMENTALNI DIO

Priredivanje Mannich-ovih baza 4,7-dihidroksikumarina i 4,7-diacetilku-  
marina: rastvoru od 0,003 mola odgovarajućeg amina u 2,5 ml apsolutnog  
etanola doda se 0,1 ml (0,0025 mola) 35% formaldehida. Ovoj otopini se doda  
0,0025 mola 4,7-dihidroksikumarina, odnosno 4,7-diacetilku-  
marina otopljenog u 5 ml odnosno 10 ml apsolutnog etanola. Reakciona smjesa se zagrijava pod  
povratnim hladilom 10 minuta na temperaturi ključanja etanolske otopine.  
Potpunija kristalizacija se postiže stajanjem reakcione smjese 1—5 dana na  
sobnoj temperaturi. Izdvojeni kristali se odfiltriraju i isperu apsolutnim eterom.

##### 3-Etilaminometil-4,7-dihidroksikumarin (I)

Svijetlo žuti kristali koji se raspadaju od 240—280°C.  
Prinos 0,31 g (52,3%).  $C_{12}H_{13}O_4N \cdot 2H_2O$  (271,12)

rač.: N 5,16%  
nađ.: N 4,84%

##### 3-Pentilaminometil-4,7-dihidroksikumarin (II)

Žuti kristali koji se raspadaju od 225—283°C.  
Prinos 0,38 g (55,5%).  $C_{15}H_{19}O_4N \cdot 2H_2O$  (313,15)

rač.: N 4,47%  
nađ.: N 4,25%

##### 3-Alilaminometil-4,7-dihidroksikumarin (III)

Bezbojni kristali tališta 252—255°C.  
Prinos 0,40 g (62%).  $C_{14}H_{15}O_4N \cdot 2H_2O$  (297,14)

rač.: N 4,71%  
nađ.: N 4,58%

##### 3-Metilaminometil-4,7-diacetilku- marin (IV)

Svijetložuti kristali tališta 128—130°C.  
Prinos 0,43 g (56,8%).  $C_{13}H_{15}O_6N \cdot 2H_2O$  (305,13)

rač.: N 4,58%  
nađ.: N 4,42%

##### 3-Propilaminometil-4,7-diacetilku- marin (V)

Žuti kristali tališta 156—158°C.  
Prinos 0,47 g (56,4%).  $C_{17}H_{19}O_6N \cdot 2H_2O$  (333,17)

rač.: N 4,20%  
nađ.: N 4,33%

## LITERATURA

1. M. Cingolini, F. Gualtieri, M. Pignini, J. Med. Chem. 12 (1969) 531.
2. G. Rodighiero, C. Antonello, Boll. Chim. Farm. 97 (1958) 592.
3. Z. Procházka, Chem. listy, 47. (1953) 59.
4. D. N. Robertson, K. P. Link, J. Am. Chem. Soc. 75 (1953) 1883.
5. A. Sonn, Ber. 50 (1917) 138.

## ZUSAMMENFASSUNG

### Darstellung von N-substituierten Derivaten des 3-Aminomethyl-4,7-dihydroxycumarins

B. Bobarević, M. Trković

Es wurde N-substituierte Derivaten des 3-Aminomethyl-4, 7-dihydroxycumarins und N-substituierte Derivaten des 3-Aminomethyl-4, 7-diacethylcumarins dargestellt. Durch Kondensation von 4,7-dihydroxycumarin und 4,7-diacethylcumarin mit primären Aminen und Formaldehyd wurden folgende Verbindungen, durch Erhitzen (10 Min.) auf dem Wasserbad dargestellt: 3-Acetylaminomethyl-4,7-dihydroxycumarin  $C_{12}H_{13}O_4N \cdot 2H_2O$  gelbe Kristalle F.  $280^\circ C$  (unter Zersetzung). — 3-Pentylaminomethyl-4,7-dihydroxycumarin  $C_{15}H_{19}O_4N \cdot 2H_2O$  gelbe Kristalle F.  $283^\circ C$  (unter Zersetzung). — 3-Allylaminomethyl-4,7-dihydroxycumarin  $C_{14}H_{15}O_4N \cdot 2H_2O$  farblose Kristalle F.  $252-255^\circ C$ . — 3-Methylaminomethyl-4,7-diacethylcumarin  $C_{13}H_{15}O_6N \cdot 2H_2O$  gelbe Kristalle F.  $128-130^\circ C$ . — 3-Propylaminomethyl-4,7-diacethylcumarin  $C_{17}H_{19}O_6N \cdot 2H_2O$  gelbe Kristalle F.  $156-158^\circ C$ .

Eingegangen am 25 November 1970

LABORATORIUM FÜR ORGANISCHE CHEMIE  
UND BIOCHEMIE, CHEMISCHES INSTITUT,  
UNIVERSITÄT SARAJEVO

## UTICAJ UGLJENOHIDRATSKE KOMPONENTE HRANE NA BIOSINTEZU I ISKORIŠTAVANJE TIAMINA

### II. DINAMIKA SLOBODNIH AMINOKISELINA U KRVNOJ PLAZMI, JETRI I URINU ODRASLOG PACOVA, PRI NEDOSTATKU TIAMINA

M. Milenković, E. Kučukalić i V. Panić

Hemijski institut Prirodno-matematičkog fakulteta, Odjeljenje za organsku hemiju i biohemiju i Zavod za biohemiju Veterinarskog fakulteta Sarajevo

Primljeno 1. juna 1970.

Ispitivana je mogućnost korištenja skroba i dekstrina u režimima ishrane odraslog pacova, kojima se želi postići avitaminoza B<sub>1</sub>, obzirom da je ishrana sa ovim ugljenohidrat-skim komponentama daleko pogodnija za konzumiranje od ishrane na bazi disaharida ili monosaharida. Pogodnost oblika ishrane je veoma važna, jer se u nedostatku tiamina manifestuje anoreksija. Isto tako je kroz dinamiku slobodnih aminokiselina u eksperimentalnim grupama, praćen odraz ugljenohidratske komponente hrane na tok metabolizma bjelančevina, kao i eventualni »sparing« efekat dekstrina na proteine hrane.

Na bazi dinamike slobodnih aminokiselina, pri čemu je konstatovana povećana aminoacidemija i aminoacidurija (uz ispoljenu hiperglicinuriju) u obje deficitarne grupe, sa određenim specifičnostima u zastupljenosti pojedinih aminokiselina, može se konstatovati da kako skrob, tako i dekstrin ne omogućuju snabdjevanje organizma odraslog pacova zadovoljavajućim količinama tiamina.

Ovu konstataciju podržava i aminokiselinski »pool« jetre, koji ima svoje specifičnosti u deficitarnim grupama, povezane kako sa nedostatkom tiamina u hrani, tako isto i sa vrstom ugljenohidratske komponente hrane.

---

Napomena: Ovaj rad je izrađen uz materijalnu pomoć Republičkog fonda za naučni rad SR BiH.

Saopšten je na VI-tom Kongresu FEBS-a u Madridu, aprila 1969. godine.

## UVOD

Aminoacidemija i aminoacidurija, kako globalna, tako i u zastupljenosti pojedinih aminokiselina, odražavaju na određeni način nedostatak ili povećanje pojedinih aminokiselina iz sastava hrane, odnosno međudnose ovih sastojaka (1, 2). Isto tako aminoacidemija i aminoacidurija su podložne promjenama u zavisnosti od ugljenohidratske komponente u hrani. Naime, neke aminokiseline podliježu većoj ili manjoj retenciji u organizmu, naročito u periodu rastenja, zavisno ne samo od količine i sastava proteinske komponente ishrane, nego takode i od ugljenohidratske komponente (2), (3).

Chang-Yet-Oy (3) je detaljno ispitivao aminoaciduriju pacova, kada je u ishrani mijenjao ugljenohidratsku komponentu. Pri ishrani krompirovim skrobom ili dekstrinom dolazilo je do smanjenog izlučivanja ukupnog azota putem urina, dok se istovremeno u urinu povećavao sadržaj slobodnog metionina i lizina, u poređenju sa životinjama čija je ugljenohidratska komponenta bila saharoza, glukoza ili kukuruzni skrob.

Poznato je da se pod normalnim uslovima manje od 5% aminokiselina koje ulaze u tubule u sastavu glomerularnog filtrata, ne reapsorbuju, i ulaze u sastav tzv. slobodnih aminokiselina urina.

Naša ranija istraživanja (4, 5) su ukazala na određene promjene nivoa aminoacidemije i aminoacidurije pri nedostatku nekih vitamina iz kompleksa B kod odraslog pacova. Samim tim, količine ukupnih slobodnih aminokiselina krvne plazme, jetre i urina, kao i njihov sastav odražavali bi na određeni način nedostatak tiamina, uskraćenog u hrani eksperimentalnih životinja. Vodeći računa o činjenici da tiamin i riboflavin, sintetisani od strane mikroflore digestivnog trakta ostaju unutar mikrobne ćelije (6, 7), kao i da je permeabilitet caecum-a za vitamine, a naročito za tiamin veoma mali (8, 9, 10), to bi korištenje ovako sintetisanog tiamina zahtijevalo reciklizaciju fecesa, putem mehanizma koprofagije. U uslovima izbjegnute koprofagije, a pri uključivanju u ishranu polisaharida, interesantno je pratiti, mijenjajući vrstu ugljenog hidrata, iskorištavanje ovako sintetisanog tiamina, kroz njegovo djelovanje u metabolizmu azotnih materija.

Polazeći od ranije utvrđenih postavki (11, 5, 4) da tiamin ima određenu ulogu u anabolizmu azotnih materija, prije svega u sintezi proteina, te da njegov nedostatak egzaltira kataboličke procese, pri čemu se javlja pojačano izlučivanje azota iz organizma, utvrđeno je da se u ove manifestacije uključuje i aminoacidurija. Isto tako nedostatak tiamina dovodi do povećanog urinarnog izlučivanja riboflavina, što rezultira u smanjivanju riboflavina u jetri (12).

Imajući u vidu naprijed navedena saznanja, kao i naše podatke o dinamici azotnih materija u prisustvu različitih ugljenih hidrata u hrani pri nedostatku tiamina (13), bilo je od interesa pratiti količine pojedinih aminokiselina u sastavu aminokiselinskog »pool-a« u krvnoj plazmi i jetri, odnosno aminoaciduriju u datim uslovima. Promjene nivoa globalnog aminoazota krvne plazme i urina su ukazivale na

određene funkcije tiamina u metabolizmu azotnih materija, dok bi dinamika i odnosi pojedinih aminokiselina krvne plazme, urina i jetre trebali da dopune specifičnosti kako odraza nedostatka tiamina, tako i selektivnog uticaja ugljenohidratske komponente hrane.

## EKSPERIMENTALNI DIO

### Materijal i metode

Način postavljanja oglada i sastav bazalnog režima pri ispitivanju mogućnosti biosinteze i iskorištavanja endogenog tiamina iz intestinalnog trakta odraslog pacova uz skrob ili dekstrin, su detaljno opisani u našem prethodnom radu (13).

Bazalni režim ishrane je sadržavao 15% kazeina, a ugljenohidratska komponenta hrane je bila u komparativnim grupama; skrob ili dekstrin (kukuruzni). Eksperimentalne životinje (odrasli pacovi) su bile podijeljene u dvije kontrolne grupe (skrobnu i dekstrinsku) i dvije deficitarne grupe, takođe skrobnu i dekstrinsku. Kontrolne grupe su uz bazalni režim ishrane primale sve potrebne vitamine, dok su deficitarne grupe bile uskraćene u tiaminu.

Ishrana u obliku sušenih pogača imala je slijedeći sastav aminokiselina:

TABELA № I.

Aminokiselinski sastav hrane (iz kiselog hidrolizata).  
La composition en acides aminés de nourriture basale (hydrolisat acide).

Aminokiseline	g/100 g pogače (kis. hidrolizat)
Lizin	0,86
Histidin	0,53
Arginin	0,57
Serin	0,86
Glicin	0,66
Glutaminska kiselina	3,98
Treonin	0,92
Alanin	0,96
Tirozin	1,15
Valin	0,98
Fenilalanin	1,11
Leucin	1,68
<b>Ukupno</b>	<b>14,26</b>

Ostale sadržane aminokiseline nisu obuhvaćene našim analitičkim postupkom.

Slobodne aminokiseline su ekstrahovane iz krvne plazme, nakon deproteinizacije sa 20%  $\text{CCl}_3\text{COOH}$ . Desalinacija supernatanta je vršena na Dowex-u 50, ranije opisanim postupkom (14). Određivanje aminokiselina je vršeno jednodimenzionalnom, uzlaznom papirnom hromatografijom, sa četiri uzastopna uranjanja u sistem n-butanol, -sirć. kiselina-voda (4:1:5), prema Lebedevoj (15). Ekstrakcija iz jetre je vršena na svježim homogenatima podvrgnutim tretiranju sa toplim, apsolutnim etanolom, zatim je supernatantu dodavan hloroform u omjeru 1:5, pri čemu se izdvaja vodeni sloj sa slobodnim aminokiselinama (16).

Urini su nakon zakiseljavanja na pH=2 desalinirani takođe na Dowex-u 50, a aminokiseline su eluirane sa 2N i 6N NH<sub>4</sub>OH. Efluenti su otparavani u evaporatoru, in vacuo.

Globalni nivo  $\alpha$ -amino N određivan je u efluentima i ekstraktima metodom po Mütting-Kaiseru (17).

## REZULTATI

Dnevna konzumacija aminokiselina, na bazi prosječne konzumacije hrane, prikazana je narednom tabelom.

TABELA № II.

Količine aminokiselina prosječno konzumirane po grupama na jednog pacova za 24 sata.

Les quantités des acides aminés consommées, en moyenne, par un Rat, dans les différents groupes.

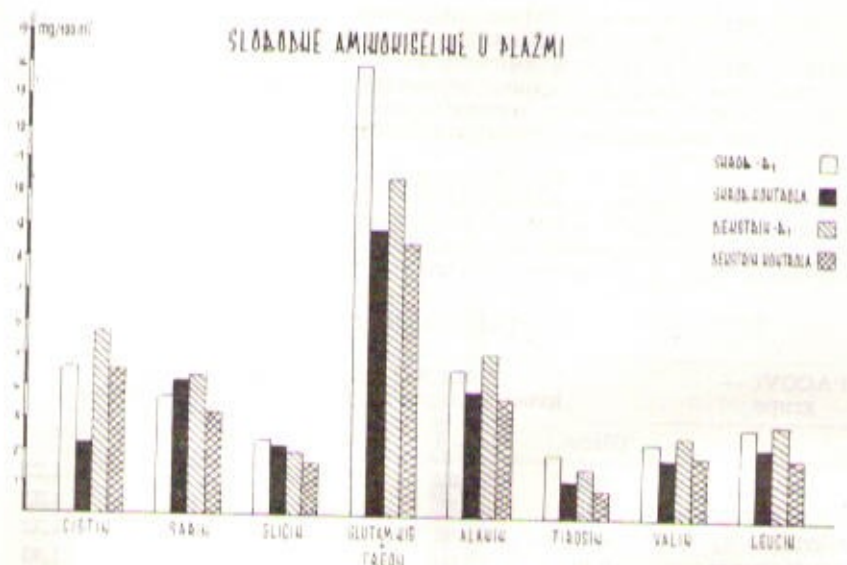
Aminokiseline u	mg/24 sata po pacovu			
	G r u p e			
	Skrob — B <sub>1</sub>	Skrob kontr.	Dekstr. — B <sub>1</sub>	Dekstr. kontr.
Lizin	110,5	124,4	120,9	121,9
Histidin	68,1	76,7	74,0	75,1
Arginin	73,2	82,5	79,6	80,8
Serin	110,5	124,4	120,9	121,9
Glicin	84,8	95,50	92,2	93,5
Glutaminska kiselina	515,8	581,4	581,3	569,3
Treonin	114,1	127,6	123,2	125,0
Alanin	123,4	138,9	134,1	136,0
Tirozin	147,8	166,4	160,7	162,9
Valin	125,9	141,8	136,9	138,9
Fenilalanin	142,6	160,6	155,1	156,8
Leucin	215,9	243,1	234,7	238,1

Povećanje globalne aminoacidemije, koje smo konstatovali kod obje deficitarne grupe u našem prethodnom radu, u odnosu na kontrole (13), je vezano za pojedine aminokiseline u različitim intenzitetima.

Glutaminska kiselina u skrobnoj deficitarnoj grupi ima izrazito povećan nivo u odnosu na svoju kontrolu, dok je povećanje slobodne glutaminske kiseline u plazmi pacova iz deficitarne dekstrinske grupe nešto manje. Interesantnu dinamiku nivoa kod sve četiri eksperimentalne grupe pokazuje cistin. Nivoi: alanina, tirozina, valina i leucina u potpunosti slijede dinamiku  $\alpha$ -amino N krvne plazme, dok se kod serina javljaju izvjesna odstupanja. Svi ovi rezultati su obrađeni biometrijski, a signifikantnost razlika je računata prema Student-ovom t-testu.

Izrazito signifikantne razlike pokazuju koncentracije glutaminske kiseline između kontrolnih i odgovarajućih dekstrinskih grupa, kao i cistin ( $p < 0,01$ ). Leucin, tirozin i alanin imaju signifikantne razlike između kontrola i deficitarnih grupa ( $p < 0,05$ ), mada su razlike nešto jače izražene u dekstrinskim grupama.

Prosječne vrijednosti slobodnih aminokiselina urina u drugoj polovini ogleda pokazuju određenu tendenciju ka povećanom izlučivanju, u skladu sa globalnom aminoacidurijom. Međutim, cistin i alanin, za razliku od sadržaja



Slika № 1

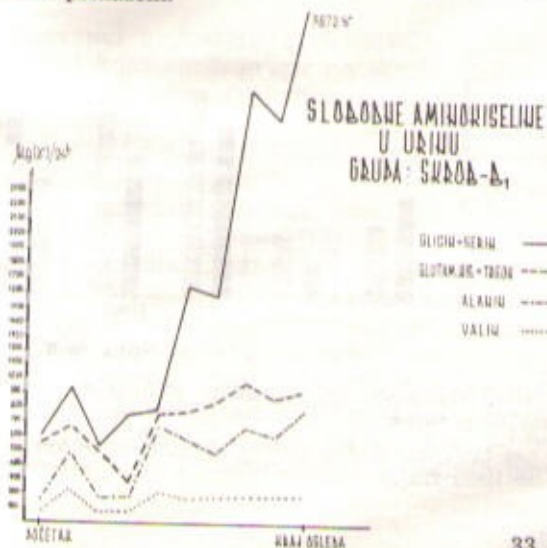
Nivoi slobodnih aminokiselina u krvnoj plazmi po grupama, na kraju ogleđa. Le taux des acides aminés libres dans le plasma sanguin, à la fin de l'expérience.

u krvnoj plazmi nisu u skladu sa skalom izlučenog  $\alpha$ -amino N urina po eksperimentalnim grupama. U skrobnoj deficitarnoj grupi najveće nivoe imaju: serin, glicin i glutaminska kiselina, a ove aminokiseline i čine najveći procenat sastojaka aminoazota urina. Tirozin, valin, fenilalanin i leucin ne pokazuju znatnija odstupanja između eksperimentalnih grupa.

Dinamika nekih aminokiselina u skrobnoj deficitarnoj grupi u rasponu: početak ogleđa — kraj ogleđa (prva i posljednja sedmica ogleđa) je vrlo interesantna. Najveće povećanje izlučene količine ima glicin (od 610 do 3870  $\mu$ g/24 sata), alanin (od 135 na 790  $\mu$ g/24 sata) i glutaminska kiselina (od 530 na 890  $\mu$ g/24 sata). Koncentracija valina je varirala u manjoj mjeri, što je i ilustrovano slijedećim grafičkim prikazom.

Dinamika nekih slobodnih aminokiselina urina u rasponu: početak ogleđa — kraj ogleđa, u skrobnoj grupi deficitarnoj u tiaminu.

Dynamique de certains acides aminés dans l'urine, des le début à la fin de l'expérience, dans le groupe à l'amidon, carencé en thiamine.



Slika № 2

Ovo veliko povećanje izlučivanja glicina na kraju oglada zapaženo je i u dekstrinskoj deficitarnoj grupi. Povećanja u kontrolnim grupama su znatno manja, u skladu sa nivoima  $\alpha$ -amino N.

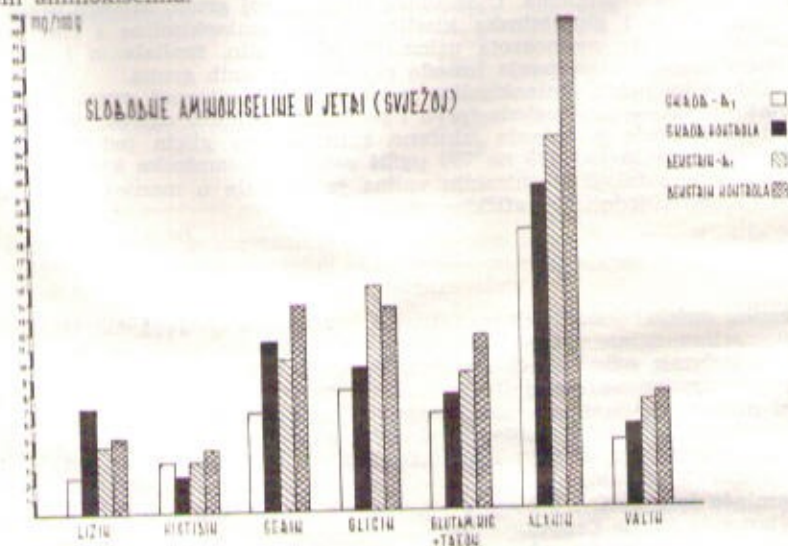
Dinamika izlučivanja aminokiselina putem urina na kraju oglada, inicirala je i obradu kvocijenta koncentracije aminokiselina u plazmi i u urinu (Cp/Cu), gdje su obračunati odnosi procentualnih koncentracija aminokiselina u plazmi i u urinu.

Pokazatelji do kojih smo došli ukazuju na neujednačenu zastupljenost pojedinih aminokiselina u plazmi i u urinu. Dok dinamika ukupne aminoacidemije i aminoacidurije pokazuje paralelizam među odgovarajućim grupama, dotle dinamika pojedinačnih aminokiselina pokazuje određena, interesantna odstupanja, koja su prikazana tabelarno.

TABELA № III.

PACOVİ — grupe	AMINOKISELINE Cp/Cu kvocijent koncentracija u plazmi i u urinu				
	Glicin	Glut. kis.	Alanin	Valin	Leucin
Skrob — B <sub>1</sub>	0,08	0,83	0,40	1,11	1,22
Skrob kontr.	0,35	0,81	0,41	1,10	1,23
Dekstr. — B <sub>1</sub>	0,17	0,68	0,40	1,33	1,32
Dekstr. kontr.	0,30	1,09	0,53	1,30	1,95

Osjetna smanjenja ukupnih slobodnih aminokiselina jetre, konstatovana u našem prethodnom radu (13), u deficitarnim grupama u odnosu na dvije kontrole, najbolje su ilustrovana sadržajem alanina, koji je najzastupljenija aminokiselina u sastavu aminokiselinskog »pool-a« jetre. Alanin je, inače, osjetno snižen pri skrobnoj hrani. Pravilnost ove dinamike uočljiva je kod svih određenih aminokiselina.



Slika № 3

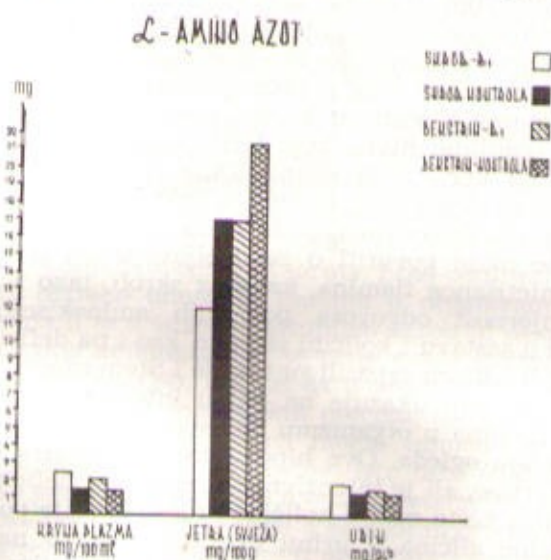
Nivoi slobodnih aminokiselina ekstrakata jetri na kraju oglada u mg/100 g. svježeg tkiva.

Les taux des acides aminés libres dans le foie, à la fin de l'expérience en 100 g de tissu frais.



Apsolutno najviše koncentracije aminokiselina unutar »pool-a« jetre su na dekstrirskoj ishrani, i to uglavnom u kontrolnoj grupi.

Upoređenja globalnih nivoa  $\alpha$ -amino azota u jetri, krvnoj plazmi i u urinu data su na slijedećem graffkonu, iz koga se uočavaju kako promjene u zavisnosti od eksperimentalne grupe, tako isto i odnosi apsolutnih nivoa aminoacidemije, jetrinog aminokiselinskog »pool-a« i aminoacidurije.



**Slika № 4**

Uporedni prikaz ukupnog  $\alpha$ -amino N na kraju oglada u: krvnoj plazmi, jetri i urinu.

Répresentation comparative de l'N  $\alpha$ -aminé à la fin de l'expérience dans: le plasma sanguin, le foie et l'urine.

## DISKUSIJA

Prikazani nalazi o dinamici slobodnih aminokiselina plazme, urina i jetre kod deficitarnih i kontrolnih grupa na skrobu, odnosno dekstrinu ukazuju na, već ranije uočenu činjenicu, da se nedostatak tiamina odražava u metabolizmu azotnih materija. Isto tako ugljenohidratska komponenta iz sastava režima ishrane ima određenog udjela u prometu bjelančevina u organizmu, što je već konstatovano i našim prethodno prikazanim rezultatima (13), kao i u radovima Chang-Yet-Oy-a (3) i Spivey-a sa saradnicima (18).

Poznato je da je ekstenzivno obnavljanje plazma proteina rezultat njihove brze sinteze u jetri i njihovog korištenja od strane tkiva kao izvora aminokiselina. Plazma proteini tako predstavljaju značajan prenosioac azota iz sastava hrane do perifernih tkiva, pri čemu je put preko jetre obavezan. Slobodne aminokiseline krvi su brzo preuzete od strane tkiva, s tim što određena koncentracija ukupnih slobodnih aminokiselina u krvnoj plazmi se održava kao konstantna vrijednost. Varijacije ovog nivoa, kao i zastupljenost pojedinih ami-

nokiselina su u povezanosti sa količinom i sastavom ishrane (19, 20).

Međutim, do povećanja ili smanjenja nivoa slobodnih aminokiselina krvne plazme, kao i do različite distribucije unutar »pool-a« krvne plazme dolazi naročito pri različitim deficitarnostima u ishrani (1, 2, 21).

U nedostatku tiamina, kod obje deficitarne grupe (skrobna i dekstrinska) došlo je do povećanja globalne aminoacidemije, s tim što su količine: glutaminske kiseline, cistina, alanina, tirozina, valina i leucina bile nosioci ovog povećanja. Prema našim nalazima sadržane slobodne amino kiseline u krvnoj plazmi nisu bile uniformno podložne povećanjima nivoa kod deficitarnih grupa u odnosu na vrijednosti kod kontrolnih grupa. Dinamika slobodnih aminokiselina ukazuje da su obje grupe, kojima je uskraćen tiamin, izrazito različite od odgovarajućih kontrola, te da se, sa stanovišta ovih nivoa u krvnoj plazmi, ne može govoriti o zadovoljavajućem iskorištavanju eventualno sintetisanog tiamina, kako uz skrob, tako i uz dekstrin. Ovu neravnomjernost odgovora pojedinih aminokiselina na određene promjene u sastavu i količini ishrane, kao i na deficitarnost pojedinih katalitičkih faktora zapazili su takođe i Stein sa sar. (22), i Frame (23).

Podatak koji ukazuje na jednu interesantnu manifestaciju nedostatka tiamina u organizmu je povećano izlučivanje glicina, naročito na kraju ogleada. Ova hiperglicinurija je izražena kod obje deficitarne grupe, ali je intenzivnija u skrobnoj deficitarnoj grupi, koja i konzumira nešto manje količine hrane. Pitanje porijekla ovako velike količine glicina u urinu upućuje svakako na studiju njegove koncentracije u krvnoj plazmi u datom trenutku. Obračun odnosa koncentracija u plazmi i u urinu ukazuju da ovo povećano izlučivanje ne prati i povećana koncentracija u krvnoj plazmi. Kvocijent Cp/Cu u deficitarnoj skrobnoj grupi je 0,08, dok u kontrolnoj grupi (skrobnoj) iznosi 0,35. Ovoj disproporciji pridaje značaj i podatak da ostale aminokiseline i u deficitarnoj i u kontrolnoj skrobnoj grupi ne pokazuju ovako odstupanje, pa je kod glicina situacija izrazito specifična.

Dekstrinska deficitarna grupa pokazuje odstupanja kvocijenta, u poređenju sa svojom kontrolom, osim glicina, kod još nekih aminokiselina: glutaminske kiseline, leucina i alanina.

Poznato je da glicin pripada grupi aminokiselina čija je koncentracija u urinu dosta visoka, odnosno čiji je Cp/Cu uvijek manji od 0,5 (25, 26, 27, 5). Polazeći od hipoteze da aminoacidemija krvne plazme odgovara aminoaciduriji glomerularnog filtrata (26, 28), glicin bi pripadao grupi aminokiselina koje su reapsorbovane u tubulima u znatno manjoj mjeri nego voda, te bi se koncentrisao u definitivnom urinu. Poznato je takođe da glicin spada u aminokiseline sa povećanim »clearance-om«, te kada se artifičijelno poveća njegov nivo u plazmi ne zapaža se nikakva intenzivnija tubularna reapsorcija (29). Interesantno je napomenuti da smo već ranije, u ogleadima sa smanjenim količinama proteina u hrani pacova, konstatovali pojavu povećanog izlučivanja glicina putem urina (2).

Proučavanja azotnog metabolizma su uklopila u taj domen istraživanja i ispitivanja aminokiselinskog »pool-a« u raznim tkivima, a

prije svega u jetri (30). Postoji relativna konstantnost ekstraktivnih, ninhidrin-pozitivnih sastojaka u jetri odraslih životinja, i smatra se da je koncentracija slobodnih aminokiselina regulisana biološkim servo-mehanizmima, koji uključuju ne samo koordinaciju stepena kompleksa biosintetskih i degradativnih putova, nego takode i kontinualno regulisanje toka ulaska u ćeliju i izlaska iz ćelije. Faktori koji dovode do poremećaja ove relativne konstantnosti, ne mijenjaju ravnomjerno sve sadržane aminokiseline, kako jetre, tako i drugih tkiva (31, 5).

Aminokiselinski »pool« ekstrakta jetre u svim eksperimentalnim grupama ima dominantan sadržaj alanina. Obzirom da se u deficitarnim grupama ovaj »pool« smanjuje u odnosu na odgovarajuće kontrole, to i dinamika alanina u potpunosti slijedi dinamiku slobodnog  $\alpha$ -amino N. Ovu dinamiku slijede takode i koncentracije: valina, glutaminske kiseline, treonina i serina. I ovi rezultati potkrepljuju neophodnost potrebe unošenja tiamina u organizam odraslih pacova, bez obzira da li je u ishrani zastupljen skrob ili dekstrin.

Celijsko kaptiranje aminokiselina je prije svega funkcija intenziteta proteinske biosinteze (24). Budući da u nedostatku tiamina dolazi do smanjenja intenziteta anaboličkih procesa, to bi se povećanje aminoacidemije kod deficitarnih grupa moglo tumačiti smanjenim kaptiranjem aminokiselina od strane ćelija. Isto tako smanjeni aminokiselinski »pool« jetre bi se uklapao u ovu konstataciju, jer bi bile kaptirane aminokiseline iz krvne plazme u manjoj mjeri, uslijed smanjenog intenziteta proteinske biosinteze u nedostatku tiamina.

## ZAKLJUČAK

Naša proučavanja uticaja ugljenohidratske komponente hrane na biosintezu i mogućnost korištenja endogenog tiamina iz intestinalnog trakta odraslog pacova, praćena kroz dinamiku slobodnih aminokiselina plazme, jetre i urina, ukazuju na slijedeće:

a) aminoacidemija se povećava u obje deficitarne grupe, a nosioci ovog povećanja su koncentracije: glutaminske kis., cistina, alanina, tirozina, valina i leucina;

b) specifičnosti dinamike pojedinih aminokiselina u krvnoj plazmi deficitarnih i kontrolnih grupa ukazuju, da u datim eksperimentalnim uslovima, ne postoji efikasan korektiv u eventualnoj intestinalnoj biosintezi tiamina;

c) hiperglicinurija, koja se manifestuje pri kraju oglada kod obje deficitarne grupe je takode argumenat u korist prethodne konstatacije;

d) povećanja koncentracija pojedinih aminokiselina nisu ravnomjerna u plazmi i u urinu, što dovodi do interesantnih podataka o njihovom kvocijentu, koji ih razlikuje od kontrolnih grupa;

e) slobodne aminokiseline jetre podložne su promjenama kako u globalnom nivou, tako i u koncentraciji pojedinih sastojaka, zavisno

od prisustva tiamina u hrani s jedne strane, a s druge strane zavisno od vrste zastupljene ugljenohidratske komponente u režimu ishrane;

f) dinamika slobodnih aminokiselina u krvnoj plazmi, urinu i jetri ukazuje na karakteristične razlike između grupa deficitarnih u tiaminu i odgovarajućih kontrolnih grupa, te upućuje na konstataciju o neophodnosti uzimanja tiamina sa hranom odraslog pacova, bez obzira da li je ugljenohidratska komponenta hrane skrob ili dekstrin,

#### LITERATURA

1. L. R. Richardson, F. Hale and S. J. Ritchey, *J. Animal Sci.* 24 (1965) 368.
2. E. Kučukalić i M. Milenković, *Vetrinaria* 17 (1968) 29.
3. Chang Yet-Oy, *J. Nutr.* 85 (1965) 207.
4. M. Milenković, V. Panić, E. Kučukalić, *Jugosl. Physiol. Pharmacol. Acta*, 3 (1967) 59.
5. M. Milenković, V. Panić, E. Kučukalić, *Jugosl. Physiol. Pharmacol. Acta*, 3 (1967) 99.
6. A. Rerat, *Ann. Nutr. Aliment.* 19 (1964) 187.
7. J. K. Mitchell, E. R. Isabell, *Univ. Texas Publ.* N° 4237 (1942) 125.
8. B. Gassmann, H. A. Ketz, *Biochem. Z.* 334 (1961) 245.
9. B. Gassmann, D. Lexow, D. Ehrt, *Biochem. Z.* 332 (1960) 449.
10. E. Kwong, G. Fiala, R. H. Barnes, *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.* 109 (1962) 776.
11. L. Binnet, G. Wellers, *C. R. Acad. Sci. (T. 258) No 4* (1964) 1315.
12. S. Ramakrishnan, *Ann. Biochem. Exptl. Med.* 23 (1963) 447.
13. M. Milenković, V. Panić, E. Kučukalić (u štampi) 1970.
14. M. Milenković, V. Panić, E. Kučukalić, *Glasnik Hem. i teh. nologa BiH* 13—14 (1964—1965) 5.
15. Z. N. Lebedeva, *Lab. Delo* 8 (1964) 451.
16. J. Awapara, *Arch. of Biochemistry*, 19 (1949) 68.
17. D. Mütting, E. Kaiser, *Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem.* 332 (1963) 276.
18. H. E. Spivey, M. C. Katayama, M. Yoshida, *Am. J. Physiol.* 193 (1958) 479.
19. P. Soupart, *Amino Acids Pools*, Ed. Elsevier, p. 220—262, 1962.
20. H. L. Vis, *Thèse C Bruxelles*, Ed. Arscia S. A. 1963 p. 72—75.
21. E. B. Gaertner, C. Carrol, *J. Nutr.* 91 (1967) 69.
22. H. W. Stein, A. G. Bearn, S. Moore, *J. Clin. Invest.* 33 (1954) 410.
23. A. G. Frame, *J. Clin. Invest.* 37 (1958) 1710.
24. A. B. Pardee, L. S. Prestidge, *J. Bacteriol.* 71 (1956) 677.
25. E. J. Bigwood, R. Crockaet, E. Schram, P. Soupart, H. Vis, *Advanc. Clin. Chem.* Vol. 2, 201—215, Acad. Press, New York 1959.
26. P. Soupart, *Abstr. of Communic. 5 th Inter. Congress Biochemistry, Moskva 1961*, p. 364.
27. H. L. Vis, *Thèse-Bruxelles*, Ed. Arscia S. A. 1963, p. 37—39.
28. J. L. Brown, A. H. Samy, R. F. Pitts, *Am. J. Physiol.* 200 (1961) 370.
29. P. Soupart, *Clin. Chem. Acta* 5 (1960) 233.
30. E. Roberts, D. Simonsen, *Amino Acids Pools*, Ed. Elsevier 1962., p. 284—349.
31. Wu. Chung, *J. Biol. Chem.* 207 (1954) 775.

# INFLUENCE DU COMPOSÉ GLUCIDIQUE DE LA NOURRITURE A LA BIOSYNTHESE ET L'UTILISATION DU THIAMINE

## II. Dynamique des acides aminés libres dans le plasma sanguin, le foie et l'urine des Rats adultes, carencés en thiamine.

Milenković M., Kučukalić E. et Panić V.

L'objet de ces études a été la possibilité d'utilisation de l'amidon et du dextrine (de 20 à 30 unités de glucose), dans les régimes alimentaires des Rats adultes, carencés en thiamine. La nourriture, contenant ces composés glucidiques est plus commode pour la consommation, que la nourriture à la base des disaccharides. L'aspect et la forme de nourriture en carence thiaminique ont une certaine importance, car on remarque, au cours de cette carence, des manifestations de l'anoréxie.

On a suivie, en même temps, par la dynamique des acides aminés libres, l'influence du sorte du composé glucidique, contenu dans la nourriture, au cours du métabolisme protéique.

A la base de dynamique des acides aminés libres, avec une augmentation des taux, constatées dans les deux groupes carencés, avec une hyperglycinurie bien définie, on a conclu que l'amidon, ainsi bien que le dextrine, ne donnaient pas la possibilité de la biosynthèse et de résorption satisfaisante de thiamine, pour couvrir les besoins des Rats adultes.

Cette constatation est complétée par le «poil» des acides aminés libres du foie, qui montre des spécificités dans les groupes carencés. Ces spécificités sont liées avec la carenc thiaminique, et aussi avec la sorte des glucides dans la nourriture.

INSTITUT DE CHIMIE-FAKULTÉ DES  
SCIENCES INSTITUT DE BIOCHIMIE-FA-  
CULTÉ DE MÉDECINE VÉTÉRINAIRE  
UNIVERSITÉ DE SARAJEVO

Reçu le 10. juni 1970.

## THIN-LAYER CHROMATOGRAPHIC SEPARATION AND COLORIMETRIC DETERMINATION OF SOME LOCAL ANESTHETICS AND TROPANE ALKALOIDS

J. Grujić-Vasić, S. Ramić and R. Popović

Cabinet of Chemistry, Medical Faculty — Institut of Chemistry,  
University of Sarajevo

Received November 24, 1970.

Tropane alkaloids and some anesthetics have been separated by thin-layer chromatography on Cellulose powder D »Riedel« impregnated with different buffer systems and determined quantitatively by Decker's colorimetric method<sup>1)</sup>.

### INTRODUCTION

Thin-layer chromatography (TLC) and paper chromatography are useful for the rapid separation of compounds of biological and medical interests. The majority of authors have used TLC with silica gel or alumina as the sorbent<sup>2)</sup>. Recently, however cellulose has been employed as a sorbent very frequently.

The present work describes TLC of tropane alkaloids and some local anesthetics. In our investigations we employed TLC with Cellulose powder D »Riedel« and Silica gel »Woelm« as sorbent, which were impregnated with buffers. The following substances were examined:

---

Dedicated with respect to Professor Tschesche on his sixty fifth birthday.

This communication is presented at 38 International Congress of Industrial Chemistry, Istanbul, 1969.

## 1. TROPANE ALKALOIDS AND CLOSELY ALLIED SYNTHETIC SUBSTANCES:

Atropine Sulphate, Cocaine Hydrochloride, Tropacocaine Hydrochloride, Homatropine Hydrobromide, Scopolamine Hydrobromide, Methylatropine Nitrate.

## 2. LOCAL ANESTHETICS:

Hostacaine Hydrochloride, Lidocaine Hydrochloride, Tetracaine Hydrochloride (Syn. Pantocaine), Dibucaine Hydrochloride (Syn. Nupercaine Hydrochloride), Cornecaine Hydrochloride, Falicaine Hydrochloride and Pramoxine Hydrochloride.

Previous experience by paper chromatograms (1, 2, 4) of some tropane alkaloids and anesthetics has led us to undertake the quantitative estimations of the following substances:

Hostacaine Hydrochloride, Tropacocaine Hydrochloride, Cocaine Hydrochloride, Tetracaine Hydrochloride and Lidocaine Hydrochloride.

## EXPERIMENTAL AND RESULTS

**Preparation of plates.** The development of thinlayer chromatogram was carried out on plates 20 × 20 cm covered with sorbent by means of the applicator made by Desaga in the manner described by Stahl<sup>2</sup>). The thickness of the layer of sorbent was 0,25 mm chromatoplates were impregnated with buffer — solution:  $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7/\text{KH}_2\text{PO}_4$  (pH = 6,6) and  $\text{CH}_3\text{COOH}/\text{CH}_3\text{COONa}$  (pH = 5,5).

The solvent used for development was n-butanol saturated with water. When the solvent had reached the limiting line, the plate was removed from the chromatographic tanks and dried in a horizontal position. The identifying reagent was Dragendorffs reagent<sup>3</sup>). This reagent detects tropane alkaloids as well as local anesthetics. The samples were dissolved in water and spotted at one cm interval using a micropipette. The time of development varied from 2,5—3<sup>h</sup>.

Separation on the plates. Cellulose powder D »Riedel« and on Silica gel have been employed as sorbents.

A very good separation of the examined compounds was obtained on Cellulose powder D impregnated with buffer  $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7/\text{KH}_2\text{PO}_4$  (pH = 6,6).

Comparing the  $R_f$ -values of tropane alkaloids and closely allied synthetic substances, it is evident that the impregnated Cellulose powder D with buffer system  $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7/\text{KH}_2\text{PO}_4$  (pH = 5,5) is a very suitable system for the separation of the above compounds when n-butanol saturated with water is the solvent. Table 1). Table 1. shows  $R_f$ -values × 100 (h  $R_f$ ) of investigated substances.

Table 1.

Table 1. Values for  $R_f \times 100$  for the tropane alkaloids and local anesthetics in solvent system n-butanol saturated with water/standard conditions; length of run about 15 cm; time of run, about 180 min./

No	Substances Investigated	Coating material					
		Cellulose D "Riedel"			Silica Gel "Focelm"		
		I	II	III	I	II	III
1.	Atropine Sulfate	29	32	58	2	9	15
2.	Hostacaine Hydrochloride	76	83	89	63	-	63
3.	Cocaine Hydrochloride	41	58	88	16	13	19
4.	Lidocaine Hydrochloride	68	85	92	45	17	42
5.	Tetracaine Hydrochloride	59	71	86	19	18	18
6.	Tropacocaine Hydrochloride	48	51	91	12	19	16
7.	Homatropine Hydrobromide	34	26	69	2	5	9
8.	Methylatropine Nitrate	34	28	51	1	0	6
9.	Scopolamine Hydrobromide	34	47	80	18	8	23
10.	Dibucaine Hydrochloride	69	78	96	17	17	25
11.	Cornecaine Hydrochloride	46	42	84	9	16	18
12.	Falicaine Hydrochloride	67	67	94	14	20	27
13.	Praxoxine Hydrochloride	76	86	94	41	32	43

II. : Thin layer impregn. with buffer  $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7/\text{KH}_2\text{PO}_4$  /pH= 5,6/

III. : Thin layer impregn. with buffer  $\text{CH}_3\text{COOH}/\text{CH}_3\text{COONa}$  /pH=5,5/

#### COLORIMETRIC DETERMINATION

In the course of our earlier study we have obtained a good separation of tropane alkaloids and local anesthetics on the paper strips (Whatman No. 1), impregnated with the buffer solutions  $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7/\text{KH}_2\text{PO}_4$  (pH = 6,6) using n-butanol saturated with water as the solvent system<sup>1</sup>. Some of the paper strips were partly impregnated with the Dragendorffs reagent according to the Deppeler's method<sup>2</sup>.

According to the Decker's data<sup>3</sup> for Buscopan, Lobeline, Atropine and Codeine we have investigated colorimetric determination of Hostacaine Hydrochloride, Tropacocaine Hydrochloride, Cocaine Hydrochloride, Tetracaine Hydrochloride and Lidocaine Hydrochloride. after their separation by paper chromatography<sup>4</sup>.

**WORKING PROCEDURE.** After the separation has been completed, the dry paper chromatogram was sprayed with the Dragendorffs reagent<sup>5</sup>.



Table 2.

No	Substances Investigated	S u p s t a n c e s		Error %
		I	II	
1.	Hostacaine Hydrochloride	400	385	3,75
2.	Tropacocaine Hydrochloride	400	395	1,25
3.	Cocaine Hydrochloride	400	395	1,25
4.	Tetracaine Hydrochloride	400	385	3,75
5.	Lidocaine Hydrochloride	400	385	3,75

Quantity applied: I. 400  $\gamma$  of the compound are spotted in volumen of 0,02 ml of wather.

II.  $\gamma$  of the compound after extraction /spectrophotometric determination/

The spots were marked with a pencil and the chromatogram was left in the tank with  $\text{NH}_3$  atmosphere. The spots were converted to colorless. The marked spot was cut out and put into the separatory funnel with 20 ml buffer solution  $\text{pH} = 7,5$  (7,5 ml 0,1 M-citric acid and make up to 100 ml with 0,2 —  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$ ). The mixture was shaken for a few minutes, and than one ml of the bromthymolblue solution was added. (Bromthymolblue: Dissolve 0,15 g bromthymolblue and 0,15 g  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  anhydr. in water and make up to 100 ml). The mixture was extracted 3 times with 20 ml chloroform. The organic phase was collected in a flask of 100 ml with 25 ml 0,5% boric acid in ethanol was added and the solution was made up to 100 ml with ethanol. Ten mls of solution were analysed colorimetrically.<sup>3)</sup> The absorbance was read at 436 nm. The concentrations of Hostacaine Hydrochloride, Tropacocaine Hydrochloride, Cocaine Hydrochloride, Tetracaine Hydrochloride and Lidocaine Hydrochloride were estimated by means of a calibration curve obtained with standard solutions.

Table 2. shows the results of the quantitative measurements of the investigated substances. It is evident that the procedure is well proved for the quantitative estimations of Hostacaine Hydrochloride, Tropacocaine Hydrochloride, Cocaine Hydrochloride, Tetracaine Hydrochloride and Lidocaine Hydrochloride.

## SUMMARY

The separation of some local anesthetics, tropane alkaloids and colosely allied synthetic substances was investigated by the thin-layer chromatography using silica gel and Cellulose powder D as the sorbents. A good separation was obtained on cellulose impregnated with buffer  $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7/\text{KH}_2\text{PO}_4$  ( $\text{pH} = 6,65$ ) with solvent n-butanol saturated with water. (Table 1).

Our results suggest that the colorimetric method<sup>4)</sup> is applicable for a quantitative determination of some tropane alkaloids and local anesthetics (Table 2).

## REFERANCES — LITERATURA

1. W. Decker, A. Müller, J. chromatogr. 17, 618 (1965).
2. J. Grujić-Vasić, S. Ramić, B. Danon, R. Popović, Bull. Soc. chim., & Tehnolog. Sarajevo, 16, 103 (1968).
3. E. Stahl, Dunnschicht-Chromatographie, Springer-Verlag, Berlin (1962).
4. P. Horak, J. Zyka, Ceskoslov. farm. 12 394 (1963).
5. R. Muner, M. Macherboeuf, Bull. Soc. Chim. France, 19, 852 (1952).
6. H. Deppeler, A. Becker, Z. analyt. chem. 198, 345 (1963).

## I Z V O D

### TANKOSLOJNA HROMATOGRAFIJA I KOLORIMETRIJSKO ODREĐIVANJE LOKALNIH ANESTETIKA I TROPAN-ALKALOIDA

J. Grujić Vasić, S. Ramić i R. Popović

Metodom hromatografije na tankom sloju ispitivali smo tropan-alkaloide i lokalne anestetike navedene u Tabeli 1. Kao tanki sloj koristili smo celulozu (Cellulose powder D »Riedel«) impregniranu raznim pufer sistemima. Iz po-

dataka datih u Tabeli 1 vidi se da se postizava dobro odvajanje ispitivanih spojeva pri impregniranju celuloze puferom  $\text{Na}_2\text{B}_4\text{O}_7/\text{KH}_2\text{PO}_4$  ( $\text{pH} = 6,6$ ) i pri korištenju n-butanola zasićenog vodom kao rastvarača.

U vezi sa našim ranijim ispitivanjima alkaloida i anestetika<sup>(2)</sup>, koristeći se iskustvima drugih autora<sup>(1,4)</sup>, mogli smo da kvantitativno odredimo supstance navedene u Tabeli 2. Smatramo da se procedura koju navodimo u eksperimentalnom dijelu ovog rada može vrlo korisno da primijeni za kvantitativno određivanje ispitivanih supstanci.

Primljeno 24. novembra 1970.

KABINET ZA HEMIJU MEDICINSKOG FAKULTETA, HEMIJSKI INSTITUT PRIRODNO-MATEMATIČKOG FAKULTETA, UNIVERZITET SARAJEVO

## POLAROGRAFIJA AZOMETINA AMINOKISELINA

K. Dursun i A. Hadžić

Hemijski institut Prirodno-matematičkog fakulteta u Sarajevu

Primijeno 24. novembra 1970.

Proučavano je polarografsko ponašanje azometina aminokiselina u puferovanim sistemima u širokoj oblasti pH-vrijednosti.

Azometini aminokiselina predstavljaju jednu od veoma interesantnih grupa spojeva. Interes prema ovim spojevima osobito je porastao u novije vrijeme kada su se pojavili radovi o mogućnosti korištenja azometinske grupe kao vremenske zaštite amino grupe aminokiselina pri sintezi peptida<sup>1)</sup>, a osim toga, azometini su se počeli koristiti i u analitici aminokiselina<sup>2)</sup>.

Aminokiseline su u većini slučajeva polarografski inaktivni spojevi, jer rijetko sadrže skupine koje se mogu na kapljućoj živinoj elektrodi oksidovati, ili redukovati. Ovo je razlog zbog kojega se traže metode da se ovi polarografski inaktivni spojevi prevedu u polarografski aktivne derivate. Jedan od mogućih načina je sinteza azometina aminokiselina<sup>3, 4)</sup>, jer ti spojevi sadrže polarografski aktivnu  $-\text{CH} = \text{N}-$  skupinu<sup>5, 6)</sup>.

Istraživanja smo provodili sa kondenzacionim derivatima aminokiselina i aldehida i to onih koji u susjedstvu sa aldehidnom grupom imaju OH-grupu, kao što su 5-hlorsalicilaldehid i 2-oksinaftaldehid.

Sintetizirani su slijedeći azometini aminokiselina:

N-(5-hlorsaliciliden)-valin (I),

N-(5-hlorsaliciliden)-alanin (II),

N-(5-hlorsaliciliden)-fenilalanin (III),

N-(2-hidroksi-1-naftiliden)-valin (IV).

Prije nego smo pristupili polarografskom istraživanju azometina, detaljno smo polarografski ispitali i aldehide i to u puferovanim rastvorima, kod raznih pH-vrijednosti. Rezultate ovih polarografskih

istraživanja imali smo u vidu pri donošenju zaključaka o polarografskom ponašanju azometina aminokiselina.

Na osnovu provedenih mjerenja navedenih azometina aminokiselina pokazalo se da se i azometini aminokiselina kao i azometini koje smo ranije proučavali<sup>6)</sup>, hidrolitički, veoma brzo, razlažu na aminokiselinu i aldehid (Tabele 1, 2 i 3). Kod pH-vrijednosti od 2—5, odnosno 6, dobivali smo samo stepenicu koja odgovara redukciji aldehidne grupe, jer je došlo do veoma brze hidrolize azometina, pa se u tom području nije mogla pratiti redukcija azometina. Kod pH-vrijednosti većih od 5, odnosno 6, azometini su davali i azometinsku redukcionu stepenicu, znači kod tih pH-vrijednosti moguće je vršiti polarografsko mjerenje.

Poluvalni potencijal polarografske stepenice azometina aminokiselina funkcija je pH-vrijednosti.

Azometini 2-oksinaftaldehida ponašaju se nešto drugačije. Kod ovih azometina, i kod niskih pH-vrijednosti od oko 2,5, dobivene su dvije polarografske stepenice, i aldehidna i azometinska (Tabela 4).

Upoređivanjem poluvalnih potencijala mogli smo zaključiti da se kod svih istraživanih azometina, kod nižih potencijala, pojavljuje stepenica koja potiče od azometinske skupine, a kod negativnijih potencijala redukciona stepenica aldehida nastalog hidrolitičkim cijepanjem azometina.

Određivanjem visine polarografske stepenice moglo se zaključiti da je u kiselom području azometinska stepenica mala, porastom pH-vrijednosti do 6 ili 7 ona se povećava. U baznom području veličina  $i_d$  se opet smanjuje.

Izračunavanjem broja izmjenjenih elektrona i protona može se zaključiti da se polarografska redukcija azometinske skupine vrši kao i kod ostalih azometina, primanjem dva elektrona i dva protona<sup>6)</sup>.

TABELA 1

Ovisnost poluvalnog potencijala od pH-vrijednosti za spoj (I).

pH	Stepenica aldehida $-E_{1/2}$ (V)	Stepenica azometina $-E_{1/2}$ (V)
2,55	1,06	—
3,60	1,10	—
4,50	1,15	—
5,10	1,17	1,00
6,00	1,24	1,05
7,30	1,35	1,03
8,70	1,45	1,04
9,30	1,52	1,05
10,75	1,60	1,06
11,40	1,65	1,08

TABELA 2

Ovisnost poluvalnog potencijala od pH-vrijednosti za spoj (II)

pH	Stepenica aldehida $-E_{1/2}$ (V)	Stepenica azometina $-E_{1/2}$ (V)
2,55	1,05	—
3,60	1,10	—
4,50	1,20	—
5,10	1,18	—
6,00	1,22	—
7,30	1,30	1,07
8,70	1,45	1,05
9,30	1,56	1,07
10,75	1,58	1,05
11,40	1,66	1,05

TABELA 3

Ovisnost poluvalnog potencijala od pH-vrijednosti za spoj (III)

pH	Stepenica aldehida $-E_{1/2}$ (V)	Stepenica azometina $-E_{1/2}$ (V)
2,55	1,08	—
3,60	1,12	—
4,50	1,15	—
5,10	1,18	0,95
6,00	1,22	0,98
7,30	1,31	1,07
8,70	1,42	1,13
9,30	1,56	1,17
10,75	1,60	1,20
11,40	1,65	1,23

TABELA 4

Ovisnost poluvalnog potencijala od pH-vrijednosti za spoj (IV)

pH	Stepenica aldehida $-E_{1/2}$ (V)	Stepenica azometina $-E_{1/2}$ (V)
2,55	1,10	0,92
3,60	1,14	0,95
4,50	1,15	0,99
5,10	1,20	1,02
6,00	1,24	1,00
7,30	1,42	1,15
8,70	1,53	1,12
9,30	1,56	1,13
10,75	1,60	1,13
11,40	1,67	1,14

## EKSPERIMENTALNI DIO

Sva mjerenja su provedena na polarografu firme »Radiometer«, Copenhagen, tip PO 3h. Kao osnovni elektrolit poslužio nam je Teorell-Stenhagenov pufer. Koncentracija azometina aminokiselina bila je  $10^{-3}$  mol/litar. Mjerenja su provedena kod  $20^{\circ}\text{C}$ . Za prigušivanje polarografskih maksimuma služila nam je 0,01%-tna otopina tiloze. Kisik je iz ispitivane otopine odstranjivan prije mjerenja strujom čistog vodika u trajanju od 15 minuta. Kao anoda služila je zasićena kalomel-elektroda, a kao katoda kapajuća živina elektroda, koja je kod pH 6,24 u puferu i kod potencijala  $-1,5\text{ V}$ , pri  $20^{\circ}\text{C}$ , imala slijedeće karakteristike: brzinu isticanja žive  $m = 3,2\text{ mg/sec}$  i vrijeme kapanja  $t = 3,16\text{ sec}$  ( $h = 25\text{ cm}$ ),  $K = 3,25 \cdot 10^{-3}\text{ A/mm}$ . Konstanta  $K = i_d = 2,10 \cdot 10^{-6}\text{ V}$  ( $a_d =$  razmak između dvije linije registrirane na polarografskom papiru).

## LITERATURA

1. J. C. Sheehan, V. J. Grenda, J. Am. Chem. Soc., 84 (1962) 2417.
2. D. R. Norton, N. H. Furman, Anal. Chem., 26 (1954) 1116.
3. L. P. Moljević, Z. V. Puškarjeva, L. B. Rodina, Sintez prirodni sojedinjeni, ih analogov i fragmentov, Moskva 1965, str. 166.
4. B. Witkop, T. W. Beiler, J. Am. Chem. Soc., 76 (1954) 89.
5. L. Holleck, B. Kasttenning, Z. Elektrochem., 60 (1956) 127.
6. M. Deželić, K. Dursun, Polarography 1964, p. 875.

## ZUSAMMENFASSUNG

### Polarographische Untersuchung der Aminosäureazomethine

K. Dursun und A. Hadžić

Die folgende Aminosäureazomethine wurden polarographisch untersucht:

- N-(5-Chlorsalicyliden)-valin (I),
- N-(5-Chlorsalicyliden)-alanin (II),
- N-(Chlorsalicyliden)-phenylalanin (III),
- N-(2-Hydroxy-1-naphthyliden)-valin (IV).

Alle Messungen wurden mit dem Polarographen »Radiometer« Copenhagen, Typ PO 3h ausgeführt. Als Grundelektrolyt diente der Teorell-Stenhausche Universalpuffer.

Alle hier untersuchten Azomethine besaßen gut ausgeprägte Stufen. Beim Polarographieren der Aminosäureazomethine konnten wir feststellen, dass sie sich in saueren Lösungen sehr schnell hydrolytisch spalten. Im pH-Bereich von 1 bis 5 (oder 6) sind auf den Polarogrammen nur eine Stufe zu sehen, und zwar die Stufe des Aldehyds. In neutralen, oder schwach alkalischen Lösungen, konnten wir zwei Stufen.

Anderes verhält sich nur die Verbindung (IV). Auf den Polarogrammen dieser Verbindung sind, im allem pH-Bereich zwei Stufen zu sehen.

Eingegangen am 24 November 1970.

CHEMISCHES INSTITUT NATURWISSENSCHAFTLICH-MATEMATISCHE FAKULTÄT — SARAJEVO

## PRIOLOG POZNAVANJU BIOGENETSKE DINAMIKE TANIDNIH MATERIJA U KORI, DRVETU I LIŠĆU HRASTA

D. Murko i H. Džanić

Hemijski institut, Prirodno-matematičkog fakulteta u Sarajevu  
Prilježeno 30. novembra 1970.

Izvršeno je određivanje sadržaja i svojstava tanidnih materija u kori, drvetu i lišću mladog stabla hrasta kitnjaka, tokom vegetacijskog perioda 1968. godine.

Drvo hrasta predstavlja glavnu sirovinu naše taninske industrije, koja obezbjeđuje godišnju proizvodnju od cca 2200 t (1) vegetabilnih štavila. Utvrđivanje biodinamike sadržaja i svojstava tanidnih materija u kori, drvetu i lišću ove biljke doprinosi optimizaciji njihovog iskorišćavanja.

### EKSPERIMENTALNI DIO

Ispitivani su uzorci kore, drveta i lišća hrasta hitnjaka (*Quercus sessiliflora* L.), starog cca 15–20 godina, uzraslog na području Cazina. Uzorci su prikupljeni jednom mjesečno, tokom vegetacijskog perioda 1968. godine. Nakon sušenja na sobnu vlagu (2), uzorci su bili podvrgnuti ekstrakciji vodom, a dobiveni ekstrakti su poslužili za određivanje sadržaja i svojstava tanidnih materija (3).

Kvantitativno određivanje sadržaja štavinih materija vršeno je gravimetrijskim postupkom sa kožnim prahom. Rezultati ovih određivanja prikazani su u tabeli 1.

TABELA 1.

Pregled variranja sadržaja tanidnih materija u pojedinim dijelovima hrasta kitnjaka tokom ispitivanog perioda 1968. god.

Uzorak	Datum uzimanja uzorka							
	21. 3.	21. 4.	21. 5.	21. 6.	21. 7.	21. 8.	21. 9.	21. 10.
Kora	6,0	5,5	5,1	4,5	4,0	5,2	6,3	6,7
Drvo	1,4	1,8	1,8	2,0	2,2	2,8	2,9	3,2
Grančice (8 mm)	1,9	2,0	2,1	2,2	2,4	2,5	2,7	3,1
Lišće	—	2,8	3,9	6,0	7,4	8,4	9,0	9,7

Rad je referisan na I kongresu za industrijsku hemiju u Beogradu, juna 1969.



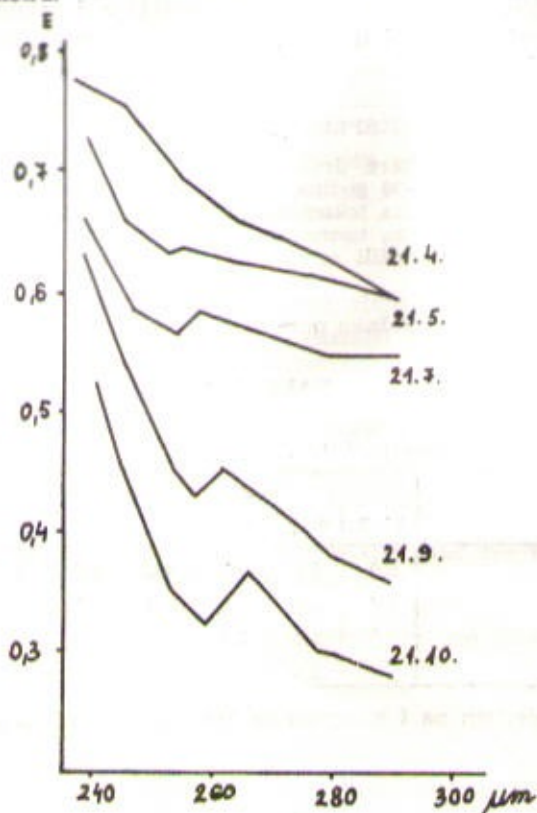
Paralelno sa određivanjem kvantitativnog sadržaja tanidnih materija ispitana su i njihova svojstva na osnovu standardnih kvalitativnih reakcija na tanide (4). Pregled utvrđenih reakcija prikazan je u tabeli br. 2.

TABELA 2.

Pregled reakcija tanidnih ekstrakata kore, drveta i lišća hrasta.

REAGENS	Reakcije ekstrakta iz		
	Kore	Drveta	Lišća (21.6)
H—CHO + HCl	talog	talog	talog
Br <sub>2</sub> —voda	talog	slab talog	talog
Pb(CH <sub>3</sub> COO) <sub>2</sub>	talog	slab talog	talog
FeNH <sub>4</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>2</sub>	crno obojenje	tamno-plavo obojenje	plavo obojenje
NaNO <sub>2</sub> + HCl	žućkasto o.	ružičasto o.	ružičasto o.
KCN	ružičasto o.	bez promjene	crveno o.
Vanilin + H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	crvenkasto o.	bez promjene	bez promjene

Ovaj izrazito galotaninski karakter ekstraktivnih materija hrasta mijenja se međutim, tokom vegetacijskog perioda, a posebno starenjem kore i lišća, te postepeno poprima djelimično i katehinski karakter. Tok kondenzacije tanida hrasta može se pratiti pomoću spektrofotometrije u UV-području (5). Slika br. 1 prikazuje apsorpcione krive 0,02%-tnih vodenih ekstrakata tanida izolovanih iz lišća hrasta kitnjaka različite starosti, određene na UNICAM SP 500 spektrofotometru.



## ZAKLJUČAK

Iz prikazanih rezultata određivanja sadržaja tanidnih materija hrasta, vidi se da tokom vegetacijskog perioda dolazi do njihovog povećavanja, što navodi na zaključak da je rana jesen optimalni period za iskorištavanje hrasta kao taninske sirovine. Utvrđeno je takođe da galotanini hrasta tokom vegetacijskog perioda podliježu procesu kondenzacije, što ima za posljedicu pojavu komponenti katehinskog tipa.

## LITERATURA

1. Statistički godišnjak SFRJ 1969, Beograd 1969, 404.
2. Murko D., Narodni šumar, XIX, 318 (1965).
3. Gnam H., Die Gerbstoffe und Gerbmittel, Stuttgart 1949, 62.
4. Kubeika V., Koželužsko analyse, Brno 1946, 313—334.
5. Blažej A. Mladek M. a Šuty L., Sbornik prac Ch. F. (Bratislava) 1961, 241.

## ZUSAMMENFASSUNG

### BEITRAG ZUR KENNNTNIS VON BIOGENETISCHE DYNAMIK DER GERBSTOFFEN IN RINDE, HOLZ UND BLÄTER VON EICHEN

D. Murko und H. Džanić

In der vorliegenden Arbeit wurden gehalt von Gerbstoffen in Rinde, Holz und Blätter von Steineiche (*Quercus sessiliflora* L.) untersucht. Mittel klassischen Reaktionen auf Gerbstoffen und UV-Spektrophotometrie wurde festgestellt das die Eichengerbstoff ein Tipp von Gallotannin ist welches bei altern kondensiert sich.

Eingegangen am 30 November 1970.

CHEMISCHES INSTITUT DER  
NATURWISSENSCHAFTLICHEN FAKULTÄT  
UNIVERSITÄT — SARAJEVO

**PREGLED NAUČNIH RADOVA, KONGRESNIH REFERATA I UGOVORNIH TEMA ČLANOVA HEMIJSKOG  
INSTITUTA PRIRODNO-MATEMATIČKOG FAKULTETA UNIVERZITETA U SARAJEVU OD 1. VII 1968.  
GODINE DO 31. VIII 1970. GODINE**

Red. br.	Odjeljenje	Broj objavljenih naučnih radova Autor u časopis. Koautor u časopis.	Kongresni ref.		Teme sa fondovima	
			Dom. Strani Svega	Dom. Strani Svega	Gotove	U radu
1	Opšta i anorganska hemija	7 3 1 4 2 2 —	2 1 —	1 2 —	2 —	2
2	Analitička hemija	8 9 1 10 2 2 4 8 1 9 2 —	4 8 1 9 2 —	2 2 —	2 2 —	2
3	Organska hemija i biohemija	18 26 2 28 33 7 40 14 7 21 2 —	40 14 7 21 2 —	2 3 1 4	2 3 1 4	4
4	Fizikalna hemija i radiohemija	11 1 1 2 2 1 3 2 2 4 2 —	3 2 2 4 2 —	2 3 —	2 3 —	3
SVEGA		44 39 5 44 39 10 40 25 10 35 8 —	40 25 10 35 8 —	8 8 1 9	8 8 1 9	9



## IN MEMORIAM

### OMER HASANAGIĆ, dipl. hem.

Dne 2. septembra 1970. godine nenadana smrt odnijela je iz redova Saveza hemičara i tehnologa Bosne i Hercegovine, njegovog počasnog i zaslužnog člana, neumornog društvenog radnika, profesora Omera Hasanagića.

Profesor Hasanagić rođen je 1900. godine u Mostaru, gdje je završio osnovno obrazovanje i gimnaziju. Hemiju je studirao na Prirodno-matematičkom fakultetu u Beogradu. Nakon diplomiranja, provodi niz godina na radu u laboratorijama carinske službe, da bi, nakon oslobođenja zemlje od fašističkih okupatora, bio postavljen za prvog direktora Fabrike sode u Lukavcu, koja pod njegovim rukovodstvom doživljava uspješnu obnovu i otpočinje redovnu proizvodnju. Godine 1949, drug Hasanagić odlazi na dužnost šefa laboratorija u hemijskoj industriji »ZORKA« — Sabac, odakle 1951. godine, dolazi, po pozivu, za direktora Zavoda za industrijska istraživanja u Sarajevu. Na ovom položaju ostaje sve do rasformiranja Zavoda, ostvarujući uspješnu saradnju sa nizom tvornica i privrednih organizacija u našoj, a i drugim republikama. Posljednja funkcija profesora Hasanagić bilo je mjesto direktora Visoke tehničke škole za pogonske inženjere u Sarajevu, odakle 1964. godine odlazi u zasluženu mirovanu. Profesor Hasanagić je niz godina održavao i predavanja iz Hemije na Veterinarskom fakultetu u Sarajevu, a aktivno je učestvovao u radu niza stručnih akcija, simpozija i savjetovanja, pri čemu je posebno dolazila do izražaja njegova stručna svestranost. Bio je i stalni član stručnih komisija za ispite inženjera i tehničara (hemičara i tehnologa) Izvršnog vijeća SR (NR) Bosne i Hercegovine.

Kao dugogodišnji član Upravnog odbora Saveza hemičara i tehnologa BiH zaslužan je za osnivanje Društva i podružnica u Sarajevu, Banja Luci, Tuzli, Mostaru, Goraždu, Jajcu, Vitezu i drugim mjestima, za čiji rad se nije prestao interesovati ni nakon odlaska u penziju. Bio je i jedan od osnivača Saveza inženjera i tehničara za zaštitu materijala BiH, čiji je član upravnog odbora ostao sve do svoje smrti.

Za svoj dugogodišnji, nesebičan rad u organizacijama našeg Saveza, profesor Hasanagić je bio proglašen za počasnog i zaslužnog člana Saveza HT BiH, i Jugoslavije, a posebna priznanja primio je i od organizacija, kojima je tako uspješno rukovodio.

Smrću druga Omera Hasanagića, Savez hemičara i tehnologa, kao i cjelokupna organizacija inženjera i tehničara Bosne i Hercegovine, izgubila je jednog dugogodišnjeg člana i rijetko agilnog društvenog radnika.

D. M.

KOKSNO-HEMIJSKI KOMBINAT

# »Boris Kidrič«

L U K A V A C

POIZVODI:

KOKS — LIVNIČKI — preko 80 mm  
— METALURSKI — preko 40 mm  
— METALURSKI — 20—40 mm  
— SITNI

SMOLA — KATRANA KAMENOG UGLJA  
— ZA ELEKTRODE  
— ZA PUTEVE (cestosmola)

NAFTALIN — TOPLOPRESOVAN

ANTRACEN

BENZOL

TOLUOL

SOLVENT NAFTA

KREOZOT (ulje za impregnaciju drveta)

AMON SULFAT — ZA INDUSTRIJU 21% N  
— ZO POLJOPRIVREDU 20,5% N  
(praškasto azotno đubrivo)

KAN — KREČNI AMONIJUM NITRAT 25% N  
(granulovano azotno đubrivo)

KISELOOTPORNI KIT K-1

LUŽNATOOTPORNI KIT K-2

