

O thalleiochin-reakciji: prilikom 115. godišnjice

Barković, D.

Source / Izvornik: **Farmaceutski glasnik, 1952, 8, 375 - 381**

Journal article, Published version

Rad u časopisu, Objavljena verzija rada (izdavačev PDF)

Permanent link / Trajna poveznica: <https://urn.nsk.hr/urn:nbn:hr:163:032855>

Rights / Prava: [In copyright](#) / [Zaštićeno autorskim pravom.](#)

Download date / Datum preuzimanja: **2024-05-17**



Repository / Repozitorij:

[Repository of Faculty of Pharmacy and Biochemistry University of Zagreb](#)



Farmaceutski glasnik

Glasilo Farmaceutskog društva Hrvatske

GOD. VII.

ZAGREB, OKTOBAR 1951.

BR. 10

NAUČNO-PRAKTIČNI DIO

D. Barković:

O thalleiochin-reakciji — prilikom 115. godišnjice

(Prema predavanju održanom na 16. farmaceutskom kolokviju u Zagrebu, 3. XI. 1950.)

Thalleiochin-reakcija (T. r.) na kinin ubraja se u najzanimljivija poglavlja farmaceutske analičke naučne literature. Ona se već 115 godina provlači kroz čitavu golemu literaturu, koja se bavi analitikom kinina i kinidina. Predložen je velik broj različitih modifikacija ove reakcije, koja još i danas pobuđuje pažnju istraživača. Napokon, gotovo sve farmakopeje svijeta prihvatile su je kao identitetnu reakciju na kinin i kinidin, ili u izvornom obliku, ili uz manje modifikacije.

Stoga smatram da će biti od interesa, da joj prilikom njezine 115. godišnjice posvetimo nekoliko riječi.

Godine 1835. predložio je H. A. Messon, a nešto kasnije apotekar André, ovu reakciju na kinin: ako se vodenoj otopini kinina doda malo klorne vode, a zatim amonijaka u višku, nastaje smaragdnozelena boja. Brandes kasnije naznači, da jednaku reakciju daje i kinidin.

Produkt zelene boje, koji nastaje pri ovoj reakciji nazvali su Brandes i Leber najprije dalleiochin, a zatim thalleiochin, prema grčkom *θαλλειν*, zelenjeti se, i prvom slogu imena kinin.

Flückiger je modificirao T. r. tako da je klornu vodu zamijenio bromnom vodom, i time reakciju učinio pouzdanijom i osjetljivijom, pa se ona danas u tom obliku najčešće i izvodi.

Zelena boja, koja pri T. r. nastaje, neutralizacijom se mijenja u modru, a ako se otopina zakiseli, u crvenu (Hyde); ponovnim dodatkom amonijaka u višku, opet nastaje zelena boja. Ako se pak nakon dodatka klorne ili bromne vode, umjesto amonijaka doda kalijeve lužine, ne nastaje zelena već žuta boja (Vogel).

Osim kinina i kinidina daju T. r. i drugi derivati p-oksikinolina, kao na pr. kurepin i eukupin, dok je cinchonin i cinchonidin ne daju (jer H u položaju 6 kinolinskog prstena nije supstituiran sa —OR odn. OH—skupinom).

Thalleiochin-reakcija u farmakopejama.

Pored mnogobrojnih modifikacija ove reakcije, kao i razliĉnih drugih predlo-
ženih reakcija za identificiranje kinina i kinidna, gotovo sve farmakopeje zadržale
su T. r., uz rijetke izuzetke, sve do današnjeg dana.

U tablici I. navedene su izvedbe T. r. u nekim važnijim farmakopejama i zašlim
u posljednjih 50 godina.

Tablica I

Farmakopeja	Izvedba T. r.
Ph. Dan. (1893), Ph. Germ. IV. (1900), Ph. Croat-Slav. II. (1901), Ph. Austr. (1906), Ph. Hung. III. (1909), Ph. Serb. II. (1926), Ph. Hungar. IV. (1934), Cod. Gall. VI. (1937)*	Klorna voda i amonijak
Ph. Svec. X. (1925), DAB VI. (1926) Ph. Ital. V. (1929), Ph. Belg. (1930), Ph. Jug. (1933), Ph. Ital. VI. (1940), Ph. Nederl. V. (1940) USP XII (1942), Ph. Svec. XI. (1946), Ph. BSL I. (1947) B. P. VII. (1948), USP XIV. (1950)	Bromna voda i amonijak
Ph. Helv. III. (1893) Ph. Helv. V. (1933) Cod. Gall. VI. (1937)* Ph. Fenn. VI. (1940) Ph. Dan. IX. (1948)	$\left. \begin{array}{l} \text{HCl} + \text{Ca}(\text{OCl})_2 \text{ (Cl)} \\ \text{H}_2\text{SO}_4 + \text{NaOCl} \text{ (Cl)} \\ \text{NaOCl} + \text{H}_2\text{SO}_4 \text{ (Cl)} \\ \text{Br}' + \text{BrO}_3' + \text{HCl} \\ \text{(Br)} \\ \text{Br}' + \text{BrO}_3' + \\ + \text{NH}_4\text{CNS (Br)} \end{array} \right\} \text{ i amonijak}$

* Cod. Gall. navodi obje izvedbe, a osim toga i Erythrochin-reakciju.

Kako se iz tablice vidi, starije su farmakopeje zadržale T. r. u izvornom obliku,
dok je u većini novijih klorna voda zamijenjena bromnom vodom. Tek neke
farmakopeje propisuju, umjesto klorne odnosno bromne vode, reagencije, iz kojih
se pri reakciji uz izvjesne uvjete oslobađa klor ili brom.

Uvjeti pri izvedbi Thalleiochin-reakcije.

Iako jednostavna u izvedbi, ova reakcija često ne uspijeva, jer je u znatnoj
mjeri zavisna o različnim uvjetima, uz koje se izvodi. Otuda i potječu mnogo-
brojne modifikacije T. r., a kojima je svrha, da je učine pouzdanijom. Sve do danas
susrećemo u literaturi nove prijedloge za njenu bolju izvedbu, pa novi autori upu-
ćuju na nedostatke dosadašnjih izvedbi i modifikacija te reakcije.

Bitni načine uvjeti za uspjeh T. r. jesu: povoljan pH otopine kinina, potrebna
količina halogena i dodatak amonijaka u višku. Ovim uvjetima autori obraćaju
prvenstvenu pažnju pri ispitivanju T. r., a o važnosti tih uvjeta pri izvedbi reakcije
mogao se uvjeriti svatko tko ju je izvodio.

pH otopine kinina od znaĉne je važnosti za uspjeh reakcije, osobito pri
razrijeđenim otopinama (Eisenbrand). Stoga je potrebno, da otopine kinina budu po

mogućnosti neutralne ili tek posve slabo kisele (Wagg, Abensour). Društije je reakcija nestalna (Leger) ili ne uspijeva (Zechner i Wischo). Navodi se na pr. da se u 5 ccm otopine kinina smije dodati najviše 1 kap razrijeđene sumporne kiseline 1:4 (Hyde).

Glavni pak razlog neuspjeha T. r. leži u dodatku viška klora ili broma (Rosenthaler) kao i u dodatku premalo halogena. Nepovoljno utječe i suviše dugo djelovanje halogena na otopinu kinina (Eisenbrand) prije dodatka amonijaka.

Da bi se izbjegao dodatak viška halogena, predloženi su različiti postupci koji sastoje u tome, da se otopini kinina doda za reakciju potrebna količina halogena u obliku klorne ili bromne vode, odn. reagencija koje ih oslobađaju, ili da se višak dodanog halogena naknadno ukloni spomoću reagencija, koje ga mogu vezati, ili pak spomoću organskih otapala, u kojima se otapa.

U tablici II navedeno je nekoliko primjera takvih postupaka, kojima se nastoji postići povoljna količina halogena potrebna za reakciju dodavanjem halogena u obliku pare ili vodenih otopina.

Tablica II

Dodavanje halogena	Autor
Otopini se doda samo toliko Br-vode, da se oboji upravo svijetlo žuto	Blažec (1897)
Količinu Br-vode valja točno odmjeriti: na 5 mg k. kap zasićene bromne vode	Leger (1904)
Brom se dodaje u obluku pare, dok ne nestane fluorescencije	Ballandier (1904)
Djelovanje 6 at. Br na mol kinina za vrijeme 1 minute	Hart (1921)
Djelovanje 4—8 at. Br na mol kinina za vrijeme 15 sekundi	Olszewsky (1926)
Otopini od 5 mg kinina u 5 ccm vode dodaju se 8 kapi zasićene Br-vode	Zechner i Wischo (1928)
Neutralnoj otopini brzo se doda 3—6 kapi razr. Br-vode (1 + 9) i ostavi stajati 10—15 sekunda	Eisenbrand (1931)

Kako se iz tablice vidi, količina broma, kojoj se pripisuje povoljan ishod reakcije, dosta je različita, pa varira između 1 i 4 mola broma na 1 mol kinina.

U tablici III navodi se nekoliko postupaka, kojima se nastoje postići optimalni uvjeti za T. r. spomoću reagencija, iz kojih se halogen oslobađa u reakcijskoj smjesi.

Prednost izvedbe T. r. s ovim reagencijama sastoji u lakšem postizavanju povoljne količine halogena za reakciju, kao i u tome, što su one, za razliku od klorne i bromne vode, uglavnom bez neugodnog mirisa slobodnih halogena. Međutim imaju taj nedostatak, što je reakcija zbog nazočnosti kiseline u reakcijskoj smjesi znatno manje osjetljiva, kako je to nedavno dokazao i Moers.

Tablica III

Reagens	Izvedba	Autor
$\text{KClO}_3 + \text{H}_2\text{SO}_4$ ili HCl	0,01 g soli kinina rastrija se s isto toliko KClO_3 i kapi konc. H_2SO_4 odn. HCl	Vitali (1887) Vulpius (1886)
Klorno vapno (Ca-hipoklorit)	Otopini se dodaje reagensa, dok se upravo ne izgubi fluorescencija, a otopina oboji slabo žuto	Hyde (1897)
$\text{KBrO}_3 + \text{HBr}$	Otopini se doda određena količina reagensa	La Wall (1902)
$\text{KBrO}_3 + \text{HCl}$	Otopini se doda reagensa, pa smjesa kuha dok se ne oboji narančastožuto	Vondrasek (1908)
$\text{H}_2\text{O}_2 + \text{HCl}$	Otopini se doda određena količina reagensa i kuha dok se ne oboji žuto, pa razrijedi vodom	v. Mikò (1927)
NaOCl	Mjesto bromne vode doda se otopina NaOCl (Eau de Javelle)	van Unk (1928)

Da bi se naknadno uklonio višak halogena (broma), predložen je za njihovo povezivanje na pr. dodatak etanola (Abensour) ili amonijeva klorijanata (Rosenthaler), a za odstranjivanje viška halogena otapanjem, dodatak kloroforma (Winograd) ili ugljičnog tetraklorida (Puy) i t. d.

Dodatak amonijaka u višku, nakon djelovanja halogena, na otopinu kinina odn. kinidina uzrokuje stvaranje zelene boje. Iako višak amonijaka bitno ne utječe na reakciju i na boju, ipak neki autori točnije navode količinu amonijaka, koju treba dodati reakcijskoj smjesi. Tako se na pr. dodaje 1–2 kapi amonijaka (Abensour), 3 kapi amonijaka (Zechner i Wischo), 10 kapi konc. amonijaka (La Wall), 1 cm razr. amonijaka (Winograd) i t. d. Ako se pak prije amonijaka doda reakcijskoj smjesi kap otop. NaOH , dobiva se jasnija reakcija (Monnet).

T. r. može se izvesti i u obliku obojene zene (v. Mikò) ako se na otopinu kinina nakon dodatka bromne vode oprezno naklije 1 cm amonijaka (5 n), a može se izvesti i u obliku mikroreakcije na papiru za filtriranje.

Izvedba Thalleiochim-reakcije na papiru za filtriranje.

Reakciju na kinin i kinidin na papiru za filtriranje, u obliku reakcije fluorescencije spomoću para broma i amonijaka, predložio je Heitinger.

Pokazalo se međutim, da T. r. i kao reakcija boje na papiru za filtriranje lako uspjeva i da je prilično osjetljiva. Ovakvom načine izvedbom uspješno se daje izbjeći glavni njen nedostatak, a to je dodatak viška broma.

Kap otopine kininove soli stavi se na papir za filtriranje i drži kratko vrijeme u para broma (2–3 sekunde), dok se mrlja upravo ne oboji žuto. Nakon toga izvan para broma, boja se ubrzo gubi, pa se prema tome brzo uklanja i višak broma. Stavi li se zatim mrlja u pare amonijaka, nastaje intenzivna zelena ili zelenomodra boja.

Takvom izvedbom T. r. može se dokazati još 1 γ kinina u 0,025 cm otopine ako se otopina kapne na papir za filtriranje Schleicher i Schüll N° 598, a još 0.1 γ kinina, ako se pipeta prisloni na papir i otopina polako otpusti.

Pri ovoj izvedbi T. r. također je od važnosti, da otopine budu približno neutralne. Stoga je potrebno, da se kisele otopine neutraliziraju amonijakom i nekoliko kapi ispari na vodenoj kupelji do suha. Ostatak se otopi grijanjem u nekoliko kapi vode. Kod lužnatih otopina postupa se na isti način, pošto se neutraliziraju octenom ili klorovodičnom kiselinom.

S obzirom na osjetljivost T. r. u ovakvoj izvedbi, dovoljna je za ispitivanje vrlo mala količina preparata.

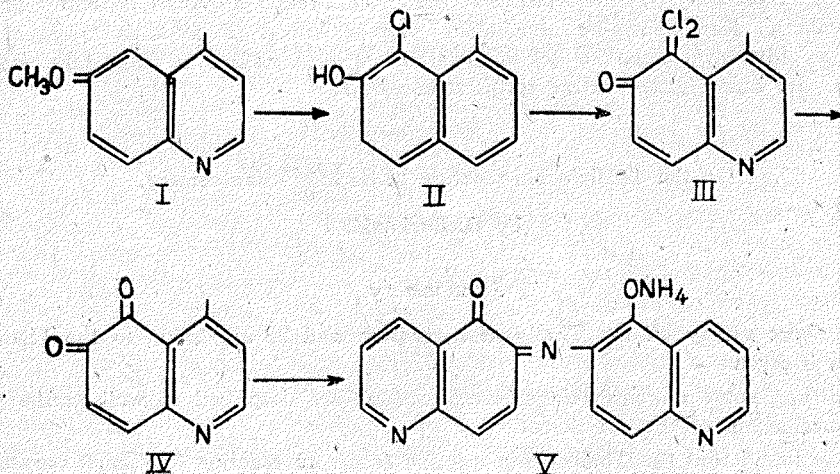
Tako se na pr. kinin i kinidin u tabletama njihovih topljivih soli mogu dokazati već time, da se tableta na vodom ovlažen papir za filtriranje lako pritište oko pola do jedne minute. Na taj način dobivena otopina daje jasnú reakciju.

Nepovoljni utjecaj viška broma odn. utjecaj duljeg djelovanja broma na boju i osjetljivost reakcije, može se lako ustanoviti duljim djelovanjem para broma na otopinu alkaloida na papiru za filtriranje.

O mehanizmu Thalleiochin-reakcije.

Istraživanjem mehanizma odn. toka ove reakcije kao i njenog reakcijskog produkta (talejohina) bavili su se mnogi autori, prvenstveno H. Fühner, nadalje Vondrasek, Pavolini, Christensen, Skraup, Monti i Turrelli, Zannella i drugi. Ipak sastav talejohina nije još do danas sa sigurnošću utvrđen. Većina autora slaže se u tome, da T. r. uzrokuje kompleks p-kinanizola (I) odn. p-oksikinolina. Kloriranjem ovog posljednjeg pripremio je Fühner 5,5-diklor-6-ketokinolin (III), koji intermedijarno stvara s amonijakom vjerojatno 5,6-kinolin-kinon (IV), a zatim produkt zelene boje, kao i kinin. Za produkt medrozeleno boje, koji nastaje djelovanjem amonijaka na 5,6-kinolin-kinon hidroklorid, Fühner drži da je vjerojatno dikinolin-indamin amonijak (V), kinon-imin boja po analogiji sa indamin- i indofenol-reakcijom. Nazvao ga je talejohinolinom, za razliku od talejohina. Ovaj se produkt otapa u kiselinama s crvenom bojom, a dodatkom amonijaka u višku crvena boja prelazi opet u zelenu, kao i kod talejohina.

Prema tome vjerojatni tok T. r. mogao bi se prikazati ovako:



Osjetljivost T. r. ocjenjuju pojedini autori vrlo različito. Dok na pr. Luckiger navodi osjetljivost za reakciju s bromom 1:5.000, Salamon nalazi da je uz klornu vodu 5 ccm 1:10.000, a uz bromnu vodu 1:40.000 Eisenbrand

navodi za osjetljivost reakcije s bromnom vodom u 10 cm 1:200.000, a istu osjetljivost dobiva Moers u 5 cm u nazočnosti metilnog alkohola, i t. d.

Bez obzira na to, da li se ovi podaci odnose na sam alkaloid ili na njegove soli, ove znatne razlike očito pokazuju od kolike su važnosti uvjeti, uz koje se T. r. izvodi: razrijedenost i pH otopine, količina halogena i trajanje djelovanja halogena.

Dok se pouzdana reakcija dobiva u neutralnoj otopini, koja nije suviše razrijedena dodatkom bromne vode do posve slabe žućkaste boje, a poslije nekoliko sekundi dodatkom amonijaka u višku, dotle su u veoma razrijedenim otopinama navedeni uvjeti od mnogo većeg utjecaja, pa je reakciju i znatno teže reproducirati.

Na kraju naveo bih da je bilo i različitih pokušaja, kako bi se T. r. iskoristila za prosuđivanje vrijednosti kininove kore i njenih preparata. Takvo ispitivanje navode i neke farmakopeje. Tako je na pr. predložio Vondrasek kolorimetrijski postupak na temelju T. r. dobivene kuhanjem otopine kinina sa 0.1 n HCl i 0.1 n KBrO₅ i dodatkom NH₄OH u višku. Slični prijedlozi potječu od Wagga, La Walla, Harta. Jedan od najnovijih pokušaja određivanja kinina u kininovoj kori na temelju T. r. potječe od Moersa, a osniva se na kolorimetrijskom odnosno na fotometrijskom postupku.

Zaključujući razlaganja o ovoj staroj zanimljivoj reakciji htio bih samo još citirati Flückigera iz 1872. g. »Na svaki se način thalleiochin-reakcija ubraja među delikatne; uz višak klora ili bromajala i uz premalenu količinu tih reagensa ona izostaje, pa ne postoji sredstvo da bi se uvjeti mogli održati potpuno oštro i nepogrešivo; i ovdje vježba čini majstora« (Z. a. Ch. 11, 317, 1872).

Zaključak

Prikazan je ukratko historijat thalleiochin-reakcije i njena primjena u farmakopejama. Nadalje se navode važnije modifikacije kao i vjerojatni mehanizam ove reakcije.

Pouzdanom i osjetljivom pokazala se thalleiochin-reakcija ovom izvedbom u obliku mikroreakcije: Kap neutralne razrijedene otopine kinina ili kinidina izloži se na papiru za filtriranje nekoliko sekundi parama broma, a kad se žuta boja izgubi, stavi u pare amonijaka. Nastaje mrlja zelene boje.

On the Thalleiochin-reaction at its 115th anniversary.

by D. Barković

Summary

A short survey on the Thalleiochin-reaction and its admission to the Pharmacopoeas is given.

Further, some more important modifications are described as well as the probable mechanism of the reactions.

It is found that the Thalleiochin-reaction as a spot reaction is of high sensibility if performed as follows: A drop of a neutral diluted solution of Quinine or Quinidine on a piece of filter-paper is exposed to the vapor of bromine during few seconds. When the yellow color of the spot disappears, the paper is exposed to the vapor of ammonia: the spot becomes green in color.

Iz literature

1. Andrè, Journ. de Pharm. 1836. s. 127; C. 1836, 269.
2. F. A. Flückiger, Z. anal. Ch. 11, 318 (1872)
3. H. Fühner, Arch. Pharm. 244, 605 (1906)
4. J. Vondrasek, Pharm. Post. 41, 603 (1906)
5. H. Salamon, Ber. d. d. Pharm. Ges. 28, 273 (1918)
6. J. Eisenbrand, Arch. Pharm. 269, 65 (1931)
7. L. Rosenthaler, Scient. Pharmac. 1936, 59
8. D. Barković, Apot. vj. 23, 71 (1941), Farm. glas. 3, 211 (Nauka i praksa) 1947.
9. R. Moers, J. Pharm. Belg. 4, 219 (1949)
10. M. Heitingen, Die Fluoreszenzanalyse in der Mikrochemie, Wien u. Leipzig, 1937. s. 141.
11. L. Ekkert, Erkennung organischer Verbindungen, im besonderen von Arzneimitteln (Die chemische Analyse XXXII. Bd.) Stuttgart 1933, Chinin S. 34—39.
12. Merck's, Reagentienverzeichnis, 7. Aufl. Darmstadt, 1932.

ph. mr. Radovan Damaška,
ing. Mladen Brajdić,
dr. Josip Kolačnj:

Terapija kalcijem i problematika izrade kalcijevih preparata

(Predavanja održana na 22. farmaceutskom kolokviju u Zagrebu, 4. V. 1951.)

Fiziologija i farmakoterapija kalcija

Kalcij je jedan od lijekova, o kojem vladaju vrlo suprotna mišljenja. Jedni ga primjenjuju vrlo često kad je opravdano, ali i kad je neopravdano, pa i kad je nepodesno. Drugi mu pak poriču svaku terapeutsku vrijednost. Osim toga pri proizvodnji kalcijevih preparata javljaju se često teškoće. Najrašireniji kalcijev preparat, kalcijev glukonat, upotrebljava se za parenteralnu primjenu u prezasićenoj otopini, pa je prilično teško postići stabilnu otopinu. Pored toga ovaj preparat predstavlja odličnu podlogu za razvitak mikroorganizama, za koje često ni ne znamo da ih ima u preparatu. Oni doduše ugibaju za vrijeme sterilizacije gotovih ampula, ali njihove bjelaničevinaste tvari ostaju u otopini i uzrokuju neprilike pri aplikaciji lijeka. Ovi razlozi čine kalcijeve preparate interesantnima pa smo preduzeli da ih osvijetlimo sa svih strana.

Kalcij je jedan od prijeko potrebnih elemenata za život organizma. On se nalazi svugdje u organizmu, a prenosi se, vezan na proteine, krvnim serumom. Njegova funkcija u organizmu je raznolika:

1. Kalcij je uz fosfor glavni sastavni dio kosti i zubi. No u patološkim pojavama, koje se mogu javiti pri ovoj funkciji kalcija, kao što su rahitis i osteomalacija, manja je važnost kalcija. Važniji su u tim patološkim pojavama katalizacijski procesi, koji uređuju promet kalcija i fosfora u organizmu, a pri čemu imaju glavnu ulogu biokatalizatori kalciferol ili vitamin D i hormon epitelnih tjelešaca, koji izlučuje žlijezda paratireoida.

2. Nazočnost kalcijevih iona prijeko je potrebna, da bi se mogla vršiti normalna pojava grušanja krvi. Potrebni su kalcijevi ioni uz trombokinazu, da bi se protrombin pretvorio u trombin, koji mijenja fibrinogen u grušav, nitasti fibrin.

3. Kalcij je uz natrij, kalij i magnezij važan fiziološki modulator, koji podržava organe u ravnoteži između stanja prenadraženosti i uopće njihove sposobnosti da