

Menadionun Dayanıklılığı (Stabilitesi) Üzerinde Bir Araştırma

A Research on the Stability of Menadione

Muzaffer TUNÇEL

ÖZET

Sabit iyon şiddetinde ($I = 0.5$) yapılan kinetik deneylerde, çeşitli pH ve sıcaklıklardaki menadion çözeltilerinin reaksiyon hız değişmezleri saptanmıştır. Bu hız değişmezleri kullanılarak molekülün aktivasyon enerjisi 17.6 K cal/mol olarak hesaplanmıştır. Reaksiyon hız değişmezlerinin pH'a göre incelenmesinde, menadionun baz katalizli parçalanmasının pH 9'un üzerinde oldukça hızlı olduğu sonucuna varılmıştır.

SUMMARY

The reaction rate constants of menadion solutions of various pH and temperatures were determined in the kinetic experiments carried out at constant ionic strength ($I = 0.5$). By using these rate constants, the activation energy of molecule was calculated as 17.6 K cal/mol. According to the changes of the reaction rate constants with pH, it was concluded that the base-catalysed degradation of molecule was rather fast above pH 9.

Anahtar Kelimeler: Menadion, kimyasal kinetik

İlaç endüstrisi ve araştırma laboratuvarları elli yıldan beri dayanıklılık testleri üzerinde önemle durmaktadır. Bilindiği gibi dayanıklı-

Redaksiyona verildiği tarih: 5 Mart 1984

Analitik Kimya Anabilim Dalı, Eczacılık Fakültesi, Ankara Üniversitesi

lık çalışmaları fizikokimyasal temellere dayanmaktadır ve bu dala fizikokimyada kimyasal kinetik denilmektedir. Bu konuda önceleri ampirik kavramlardan yararlanılarak çalışmalar yapılmış, bu kavramlar zamanla geliştirilmiş ve bilimsel temellere oturtulmuştur. Günümüzde yapılan dayanıklılık deneyleri ile ilaçların bozunmaları konusunda birçok parametre tayin edilebilmekte ve parametreler arasındaki ilişkiler incelenmektedir (1-3).

Kimyasal kinetiğin hızla gelişmesi, ilaçların organizmadaki dayanıklılıklarının incelenmelerine olanak sağlamıştır. Böylece ilaçların organizmadaki absorpsiyon, dağılım, biyoyararlılık ve atılımının kantitatif olarak değerlendirilmesi, kimyasal kinetiğe dayalı olarak yapılabilmektedir (4,5).

K_3 vitamini olarak bilinen manadionun, organizmada kanın pıhtılaşmasına neden olan etkisinin yanı sıra, oksidatif fosforilasyonda da görev aldığı ileri sürülmektedir (6). Menadionun çözeltileri ışıktaki bozulmakta ve çeşitli kimyasal reaksiyonlar sonucu iki elektron alarak hidrokinonik yapıya dönebilmektedir. Bu araştırmada, kolayca reaksiyona girebilen bir yapıya sahip olan menadionun dayanıklılık koşulları; değişmez iyon şiddetinde, sıcaklığa ve pH'a bağlı olarak incelenmiştir.

MATERYAL VE METOD

Menadionun reaksiyon hızı değişmezleri çeşitli pH tamponları içerisinde ve sıcaklıklarda, kimyasal kinetik çerçevesinde incelenirken aşağıdaki çalışma yolu izlenmiştir.

Menadion bazik ortamda dayanıklı olmadığı için bazik bir tampon olan NaHCO_3 - NaOH tamponundan yararlanılarak dört değişik pH'a sahip reaksiyon çözeltileri hazırlanmıştır (7). Bu çözeltilerin hazırlanmasında kullanılan kimyasal maddeler, bunların molar derişimleri ve çözeltilerin iyon şiddetlerini $I = 0.5$ de değişmez tutmak için katılması gerekli NaCl 'ün molar derişimleri Tablo I'de verilmiştir.

Reaksiyon çözeltileri, Tablo I'de molar değerleri verilen kimyasal maddelerin 100 ml için gerekli miktarlarınının 85 ml suda çözülmesi ve etanol ile 100 ml ye tamamlanmaları ile elde edilmektedir. Böy-

Tablo I: Reaksiyon çözeltilerinin hazırlanmalarında kullanılan kimyasal maddelerin molar derişimleri

	[NaHCO ³]	[NaOH]	[NaCl]
Çözelti I (Ç-I)	0.025	0.0227	0.4523
Çözelti II (Ç-II)	0.025	0.0191	0.4559
Çözelti III (Ç-III)	0.025	0.0170	0.4580
Çözelti IV (Ç-IV)	0.025	0.0050	0.4700

lece belli pH ve değişmez iyon şiddetinde çözeltiler hazırlanmış olmaktadır. Burada kullanılan etanolun görevi menadionun çözücüsü olmasıdır.

pH, sıcaklığın bir işlevi olarak değiştirdiğinden, hazırlanan reaksiyon çözeltilerinin çalışma sıcaklığındaki gerçek pH değerlerinin ölçülebilmesi için ölçüm yapılan pH metre, sıcaklık ile pH değerleri değişen 0.025 M KH₂PO₄-0.025 M Na₂HPO₄ standart tamponu (8) ile çalışma sıcaklığında sahip olduğu pH'a ayarlanmıştır. Hazırlanan reaksiyon çözeltilerinin pH değerleri reaksiyonların yürütüldüğü sıcaklıklarda ayrı ayrı ölçülmüştür. pH ölçümlerinde Tacussel (TS 70 N-1) pH metre kullanılmıştır.

Reaksiyonun yapıldığı yağ banyosu deney başlamadan en az bir saat önce çalıştırılmıştır. Böylece reaksiyon çözeltileri için homojen bir sıcaklık sağlanmıştır. Bu amaç için Heidolff marka termostatlı yağ banyosu kullanılmıştır.

Balonjojeler içerisindeki reaksiyon çözeltileri yaklaşık iki saat reaksiyonun yapılacağı yağ banyosunda dengelenmiş, sonra belli derişimlerdeki menadionun etanoldeki çözeltisinden katılarak reaksiyon başlatılmıştır.

Kiyasal kinetik deneylerinde numune alma zamanları büyük önem taşımaktadır. Çeşitli sıcaklıklarda yapılan kaba deneylerle bulunan reaksiyon hızı değişmezleri değerlerinden hareketle, başlangıç derişiminin yüzde 90, 80, 70, 60, 50 ve 40 ına karşı gelecek yaklaşık numune alma zamanları hesaplanmış ve bu sürelerde numune alınarak değerlendirmeye katılan noktaların geçerliliği sağlanmıştır.

Sönümlleme işlemleri 10 ml 0.05 M HCl bulunan tüpler içerisinde yapılmıştır. Yaklaşık numune alma sürelerine karşı gelen zamanlarda

2.0 ml numune reaksiyon balonjoesinden pipetle alınmış ve buzla soğutulmuş tüpler içerisine katılarak reaksiyon durdurulmuştur. Bu süreçte reaksiyon süreleri kaydedilmiştir.

Bir reaksiyonun tüm numune alma işlemleri sona erdikten sonra alınan numuneler, menadionun en yüksek soğurma verdiği 249 nm de Beckman DG-BT ultraviole spektrofotometresinde ölçülmüş ve elde edilen sonuçlar reaksiyon hız değişmezlerinin hesaplanmasında kullanılmıştır.

SONUÇ ve TARTIŞMA

Reaksiyon çözeltilerinin pH'ları çalışma sıcaklıklarında ölçülmüştür. Hazırlanan çözeltilere verilen simgeler ve çalışma sıcaklıklarında ölçülen pH değerleri Tablo II'de verilmektedir.

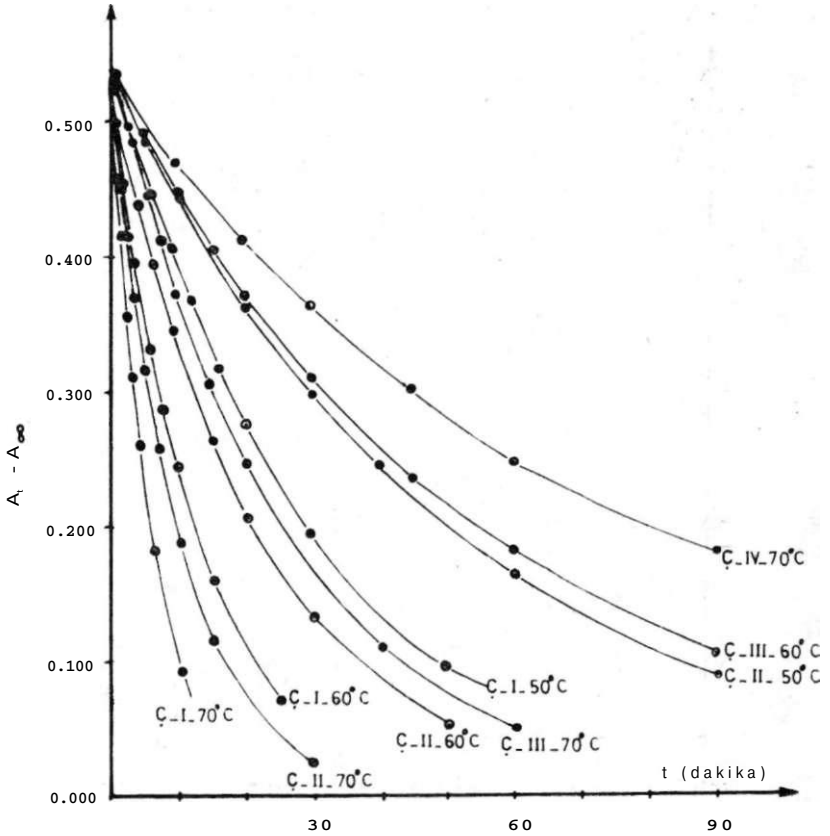
Tablo II: Hazırlanan reaksiyon çözeltilerinin çeşitli sıcaklıklardaki pH'ları

	PH değerleri		
	70°C	60°C	50°C
Ç- I	10.33	10.30	10.28
Ç- II	10.20	10.16	10.12
Ç- III	9.89	9.85	9.82
Ç- IV	9.42	9.37	9.28

Reaksiyon sürecinde alınan numunelerin soğurma değerleri ultraviole spektrofotometresinde okunmuş, zamana karşı $A_t - A_\infty$ değerleri Şekil 1a ve 1b de grafiğe alınmışlardır.

A_∞ , menadionun tümüyle bozunmasından sonra gösterdiği absorpsiyon olup, $A_t - A_\infty$ değerleri menadionun karşı geldiği süredeki derişimini vermektedir. Zamana karşı $\ln (A_t - A_\infty)$ değerlerinin Şekil 2a ve 2b'de olduğu gibi doğrusal değişim göstermesi nedeniyle menadionun baz katalizli parçalanma reaksiyonunun birinci derece olduğu saptanmıştır (3).

Her bir reaksiyon çözeltisi için t zamanlarındaki $\ln (A - A_\infty)$ değerlerinin regresyon analizleri yapılmış, doğruların eğim ve kesimleri bulunmuştur. Bulunan eğim değerleri reaksiyon hız değişimine,



Şekil 1a: Menadionun bozanına eğrileri.

kesim değerleri ise menadionun başlangıç derişimine karşı gelmek
tedir. Bu değerler Tablo III'de toplanmıştır.

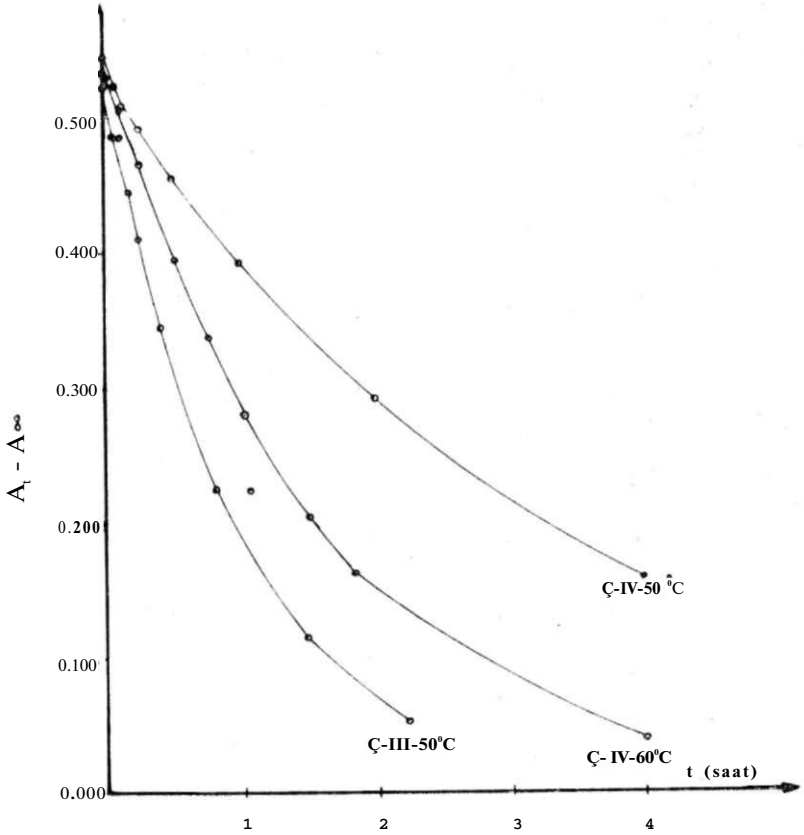
Reaksiyon hız değışmezlerinin aktivasyon enerjisi ve frekans fak
törü ile ilgisi Arrhenius denklemi adı ile bilinen,

$$k = S e^{-H_a/R^T} \text{ denklemi ile verilir.}$$

Burada k : hız değışmezini,

H_a : aktivasyon enerjisinini,

S : frekans faktörünü,



Şekil 1b : Menadionun bozunma eğrileri.

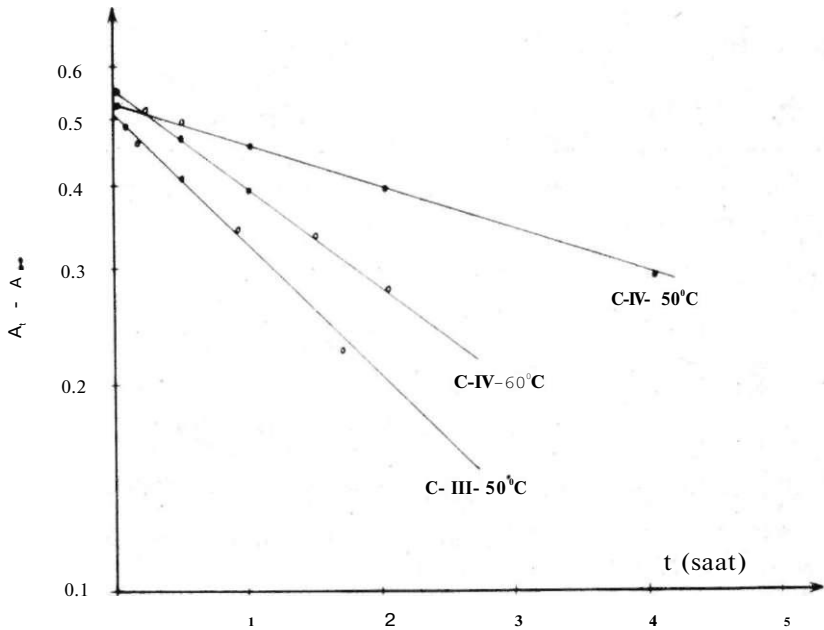
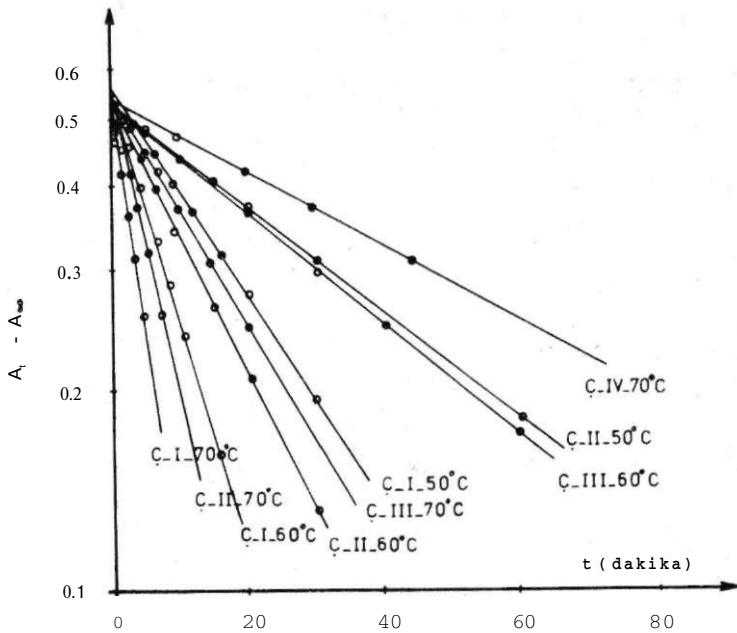
R : gaz sabitini,

T : mutlak sıcaklığı simgelemektedir.

Denklemler :

$\ln k = H_a/RT + \ln S$ şeklinde yazıldığında $1/T - \ln k$ grafiğindeki eğimin H_a/R ifadesine eşit olacağı ortadadır.

Aktivasyon enerjisinin hesaplanabilmesi için çeşitli sıcaklıklardaki reaksiyon hız sabitleri Tablo IV'de toplanmıştır.



Şekil 2a ve 2b : Menadionun birinci derece bozunma eğrileri. (Grafikler yarı-logaritmik kağıda çizilmiştir.)

Tablo III: Reaksiyon sonunda hesaplanan reaksiyon hız değişmezleri ve menadion başlangıç derişimleri

	A _o	k (dakika ⁻¹)
C-I-70°C	0.524	0.1689
C-II-70°C	0.535	0.1054
Ç-III-70°C	0.549	0.0399
C-IV-70°C	0.530	0.0124
Ç-I-60°C	0.536	0.0803
Ç-II-60°C	0.530	0.0463
Ç-III-60°C	0.530	0.0181
Ç-IV-60°C	0.550	0.0055
Ç-I-50°C	0.557	0.0351
Ç-II-50°C	0.539	0.0199
Ç-III-50°C	0.525	0.0085
Ç-IV-50 °C	0.530	0.0025

Tablo IV: 1/T ve reaksiyon hız değişmezleri

Sıcaklık		k			
t°C	1/T (°K ⁻¹)	Ç-I	Ç-II	Ç-III	Ç-IV
70	0.00291	0.1689	0.1054	0.0399	0.0124
60	0.00300	0.0803	0.0464	0.0181	0.0055
50	0.00309	0.0351	0.0199	0.0085	0.0025

Tablo IV'deki 1 /T ve k değerlerinin doğal logaritmik değerleri kullanılarak Arrhenius eğrileri Şekil 3'de grafiğe alınmışlardır. Bu değerlerin regresyon analizleri yapılmış ve aşağıdaki denklemler bulunmuştur.

$$\text{Ç-I} \quad y = [23.63 \pm (12.71) (0.8158)] - [8728 \pm (12.71) (271.85)]x$$

$$\text{Ç-II} \quad y = [24.70 \pm (12.71) (0.2472)] - [9261 \pm (12.71) (82.39)] x$$

$$\text{Ç-III} \quad y = [21.77 \pm (12.71) (0.3332)] - [8590 \pm (12.71) (111.04)] x$$

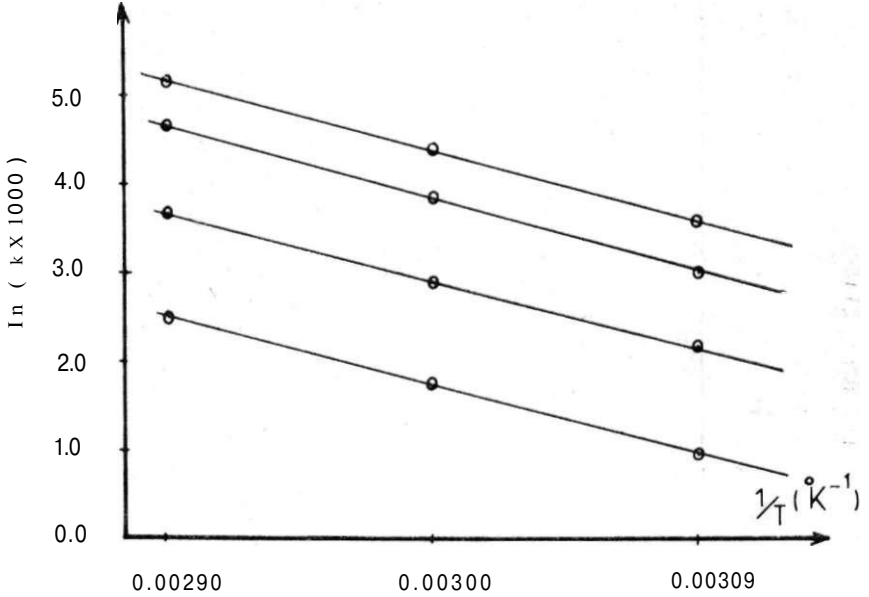
$$\text{Ç-IV} \quad y = [21.49 \pm (12.71) (0.0537)] - [8896 \pm (12.71) (17.91)] x$$

Bu denklemlerin eğimlerinin ortalaması 8869 ± 289.9 tur.

Eğim değerlerinden hareketle; $H_a = \text{eğim} \times R$ eşitliğinden aktivasyon enerjisi $17.6 + 0.6 \text{ K cal/mol}$ bulunmuştur.

Reaksiyon hız değişmezlerinin pH ile değişimini incelemek amacı ile, Tablo II'deki pH ve Tablo III'deki k değerleri kullanılarak Şekil 4'deki eğriler elde edilmiştir.

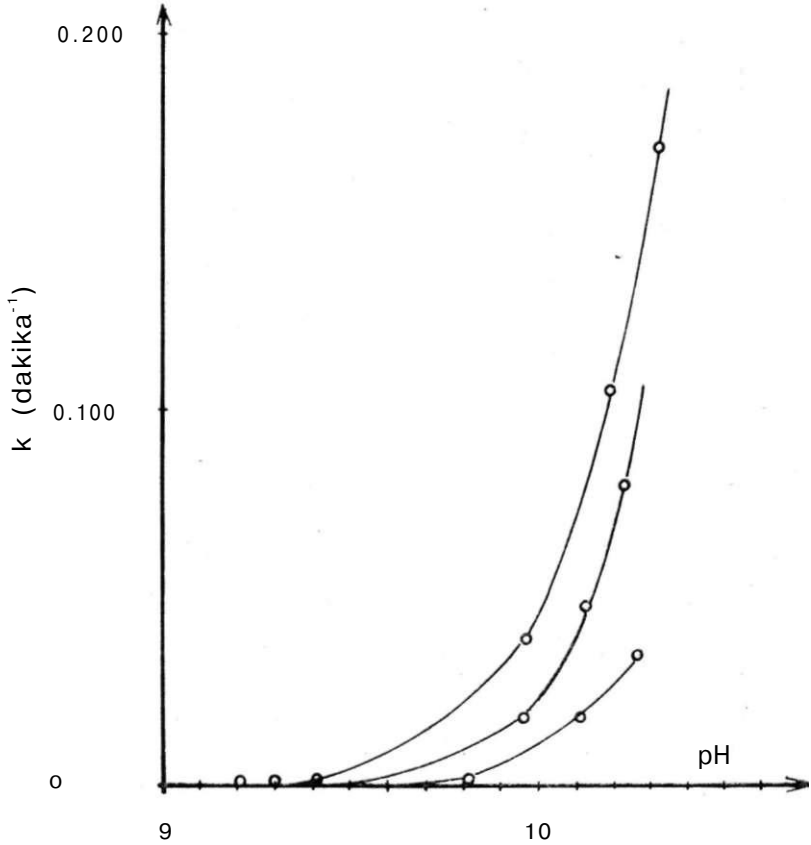
Menadionum Dayanıklılığı Üzerinde Bir Araştırma



Şekil 3 : Menadionun Arhenius eğrileri

Sıcaklığın pH üzerine önemli ölçüde etkidiği göz önüne alınarak hazırlanan reaksiyon çözeltilerinin pH ları, pH sı sıcaklık ile değişen standart tampona göre ayarlandıktan sonra ölçüm yapılarak tayinlerin duyarlılığı artırılmıştır.

Menadionun dayanıklılığı konusunda yapılmış fazla çalışma olmadığı için değerlerin karşılaştırılması olanağı olmamıştır. DAABİS ve SALEH (9) tarafından hidrotropik tuzlarının menadionun stabilitesi üzerine etkisini incelemek amacı ile yapılan bir çalışmada menadionun bozunma kinetiği araştırılmış ve bizim bulgularımızda olduğu gibi reaksiyonun birinci derece olduğu bulunmuştur. Bu araştırmada iyon şiddeti ile ilgili herhangi bir kayda rastlanmamıştır. Ayrıca 5 mg menadionun 40 ml borat tamponunda ısıtılarak çözüldüğü, çözülen menadionun soğutulduktan sonra çeşitli sıcaklıklarda reaksiyona sokulduğu, çalışma sıcaklığına kadar ulaşıldıktan sonra bu çözeltiden numune alınmaya başlandığı belirtilmektedir. Bu ısıtma işlemi ve reaksiyon çözeltilsinin yağ banyosunda dengeye getirilmeden reaksiyonun başlatılması konulan tartışılabilir.



Şekil 4 : Menadionun hız değişmezlerinin pH ile değişim grafiği.

Aynı çalışmada aktivasyon enerjisi hidrotropik tuzlar beraberliğinde ve yalnız menadion için belirlenmiş, 20.7 K cal/mol bulunmuştur. Bu araştırmada bulunan değer 17.6 K cal/mol dür. Aktivasyon enerjileri arasındaki farkın, pH'ın sıcaklıkla değişimi dikkate alınmadığından ileri geldiği sanılmaktadır.

Şekil 4'de bozunma hız değişmezlerinin pH ile değişiminde; 70 °C de 9.7, 60 °C de pH, 50 °C de 10.2 de çok arttığı görülmektedir. Bütün bu bulgular pH 9'un üzerinde menadionun dikkate değer bir hızla bozunduğunu göstermektedir.

LİTERATÜR

- 1- **Frost, A. A., Pearson, R. G.:** *Kinetics and Mechanism*, Second Ed., John Wiley and Sons Co., New York (1961)
- 2- **Glasston, S., Laidler, K. J., Eyring, H.:** *The Theory of Rate Processes*, Mc Graw-Hill Co., New York (1941)
- 3- **Panchenkov, G. M., Lebedev, V. P.:** *Chemical Kinetics and Catalysis*, Mir Publishers, Moscow (1976)
- 4- **Notari, R. E.:** *Biopharmaceutics and Clinical Pharmacokinetics*, Third Ed., Marcel Dekker Inc., New York (1979)
- 5- **Wagner, J. G.:** *Fundamentals of Clinical Pharmacokinetics*, Drug Intelligence Publication Inc., Illinois (1979)
- 6- **Redfearn, E. R.:** *Mode of Action of Ubiquinones (Coenzymes Q₁) in Electron Transport System, Vitamins and Hormons.*, 24, 465 (1966)
- 7- **Bates, R. G., Bowers, V. E.:** *Alkaline Solution for pH control.* Anal. Chem., **28**, 1322 (1956)
- 8- **Bates, R. G., Bowers, V. E.:** *The Measurement of pH. "Handbook of Analytical Chemistry"* de Ed. L. Meites. Bölüm 11. Mc Graw-Hill Book Co. New York (1963)
- 9- **Daabis, N. A., Saleh, A. M.:** *Effect of Hydrotopic Salts on the Stability of Menadion.* Canadian J. of Pharm. Sci., **9**, 24 (1974)