

Aminopirinin Yeni Bir Renk Reaksiyonu

Nouvelle Colorimetrie de l'Aminopyrine

Feyyaz ONUR*

GİRİŞ

Aminopirin analjezik etkisi ile tanınan ve yakın zamana kadar pek çok farmasötik preparatın bileşiminde yer alan pirazolon-5 türevi bir maddedir. Şimdiye kadar aminopirinin miktar tayini için pek çok değişik yöntemin geliştirildiği bilinmektedir: titrimetrik (1-4), potansiyometrik (5,7-9), kondüktometrik (6,10), kulometrik (11), spektrofotometrik (12-17) gibi. Ama tüm bu yöntemler ancak aminopirin tek başına iken kullanılabilir. Yanında başka etken maddeler de var ise mutlaka bir ön ayırma işlemi gerekmektedir, böylece tayinde yapılan hata büyümektedir. Bu nedenle hem hatayı azaltacak hem de aminopirin için seçkinliği olacak, dolayısıyla ayırma işlemine gerek kalmayacak bir yöntem geliştirmeye çalışıldı. Bu amaçla daha önceki çalışmalarımız sırasında ilk defa tarafımızdan gözlenen ve bizim şartlarımızda aynı tür bir reaksiyona literatürlerde rastlanmamış olan şu renk reaksiyonu hareket noktası olarak seçildi: Aminopirinin NH_4SCN tuzu benzaldehitte çözüldüğünde önce mavi bir renklenme olmakta daha sonra çözeltilinin rengi sırasıyla mavi-mor ve sarıya dönmekte, uzun zaman aralığından sonra ise tüm renkler kaybolmakta ve geride beyaz bir kalıntı oluşmaktadır.

MATERYAL VE YÖNTEM

- 2.1. Çalışmalarda kullanılan aminopirin (Merck) tekrar saf-laştırmaya gerek duyulmadan kullanıldı.
- 2.2. Benzaldehit (Analar) distile edildikten sonra taze olarak kullanıldı.

Redaksiyona verildiği tarih: 14 Şubat 1983

* Analitik Kimya Bilim Dalı, Eczacılık Fakültesi, Ankara Üniversitesi.

- 2.3. Amonyum sulfosiyanür (Merck) yeniden saflaştırmaya gerek duyulmadan kullanıldı.
- 2.4. Aminopirin- NH_4SCN bileşiği KAUFMANN (18) e göre: 8 kısım aminopirin ve 8 kısım amonyum sulfosiyanür 10 kısım su içinde ısıtılarak çözüldü ve buz banyosunda kristallendirilerek hazırlandı.

BULGULAR

3.1. Reaksiyonumuzda görülen renkler dayanıklı değildir. Mavi ile başlayan renklenme sırasıyla mavi-mor ve sarıya dönmektedir. Bu değişim sırasında görünür alanda çözeltinin ardarda spektrumu alındığında maksimum absorpsiyonun dalga boyu da 590 nm den 420 nm ye kadar kaymaktadır.

Herşeyden önce kantitatif bir çalışma için renklerden birinin, ki ilk renk olması nedeniyle mavi renk seçildi, dayanıklı hale getirilmesi zorunludur. Bu amaca ulaşmak için aşağıdaki koşullar değiştirilerek çalışmalar yapıldı.

3.1.1. Sıcaklık:

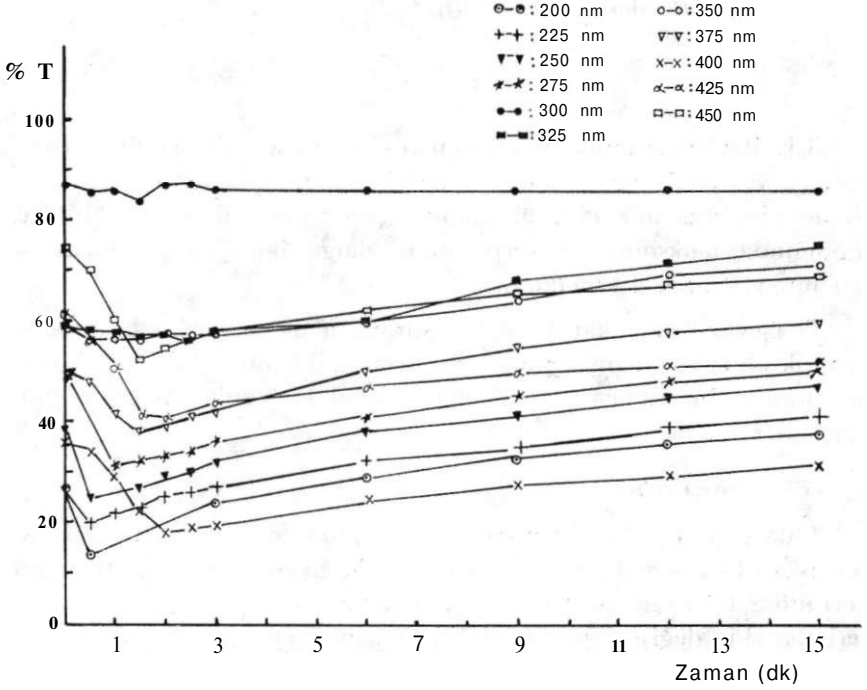
Oda sıcaklığında gözlenen renk değişiminin 50°C m üzerindeki sıcaklıklarda çok daha hızlı olarak yürüdüğü görüldü. Buz banyosu içerisinde (0°C da) yapılan deneylerde reaksiyon biçimi ve hızında herhangi bir değişme görülmedi. Sıvı azot içerisinde (-179°C da) yapılan deneylerde mavi rengin sabit kaldığı bunun yanında çözücü olan benzaldehitin de donduğu gözlemlendi.

3.1.2. Işık:

Reaksiyon önce karanlıkta yapıldı. Yine bir renk değişiminin olduğu ama bu renk değişim dizisinde sarı renklenme olmadan çözeltinin rensiz hale geldiği gözlemlendi.

Sonra, içerisinde benzaldehitte çözünmüş aminopirin- NH_4SCN bulunan reaksiyon kabı renk maviden mavi-mor'a döndükten sonra kuvvetlice çalkalandığında rengin yeniden maviye dönmesi ve bu geri dönüşün Hg lambası altında daha belirgin oluşu nedeniyle mavi rengi almış çözeltiden Hg lambasının spektrumundaki şiddetli çizgi verdiği dalga boyları olan 254, 365, 395, 436, 546, 579, 690 ve 734 nm lerdeki

ışınlar spektrofotometrede 30 dk süreyle geçirildi. Aynı işlem 200-450 nm ler arasında 25 er nm lik aralarla tekrarlandı (Şekil 1, 2). Elde edilen sonuçlara göre 300, 325 ve 450 nm lerde okunan geçirgenliklerde değişmeyen bir durum gözlemlendi. Buna rağmen çözeltinin renginin yine de maviden mavi-mor'a dönmüş olduğu görüldü (Şekil 1).



Şekil 1 : İçerisinden değişik dalga boylarında devamlı ışık geçirilmiş aminopirin-NH₄SCN bileşiğinin benzaldehyttteki çözeltisinin % geçirgenliği.

3.1.3. Substitue benzaldehit türevlerinin etkisi:

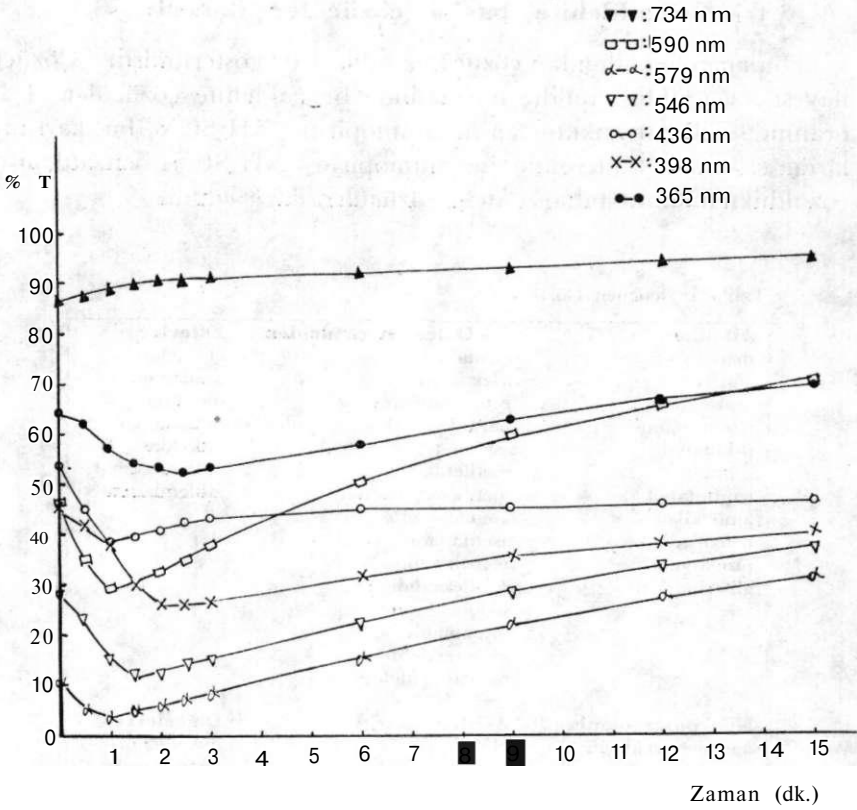
Renk reaksiyonu bu kez benzaldehit türevleri ile denenerek sübsitüsyonun etkisi incelendi: Denenen türevler:

Sıvı olanlar

- p-anisaldehyt
- p-metilbenzaldehyt
- 2,4-dimetilbenzaldehyt
- 2-klorobenzaldehyt

Katı olanlar

- 2,4-diklorobenzaldehyt
- 2-nitrobenzaldehyt
- 3-nitrobenzaldehyt
- 2,4-dihidroksibenzaldehyt



Şekil 2: Hg lambasının şiddetli çizgi spektrumu verdiği dalga boylarındaki ışığa maruz kalmış aminopirin-NH₄SCN bileşiğinin benzaldehitteki çözeltisinin % geçirgenliği.

bromobenzaldehit

2-hidroksi-5-nitrobenzaldehit

2,4-dimetilaminobenzaldehit

1 -metoksi-3-hidroksibenzaldehit

Aminopirin — NH₄SCN sıvı türevlerde doğrudan, katı türevlerin ise etanoldeki çözeltilerinin içinde çözülerek reaksiyon yapıldı. Elde edilen sonuçlara göre yalnızca p-anisaldehit, m-nitrobenzaldehit (etanol) ve p-hidroksibenzaldehit (etanol) içinde aynı şekilde mavi renklenmenin meydana geldiği ve rengin sonra değişim sırasını izleyerek kaybolduğu görüldü.

Diğer sıvı türevler ile katı türevlerin etanoldeki çözeltilerinin içinde ise mavi bir renklenmenin meydana gelmediği gözlemlendi.

3.1.4. Benzaldehite başka çözücüler ilavesi:

Bu amaçla kullanılan çözücüler tablo 1 de gösterilmiştir. Çözücü ilavesi iki şekilde yapıldı: birincisinde benzaldehite çözücüler (1:1) oranında karıştırıldıktan sonra aminopirin—NH₄SCN bu karışımlarda çözüldü. İkincisinde ise aminopirin—NH₄SCN benzaldehitte çözüldükten sonra tablo 1 deki çözücüler ilave edildi.

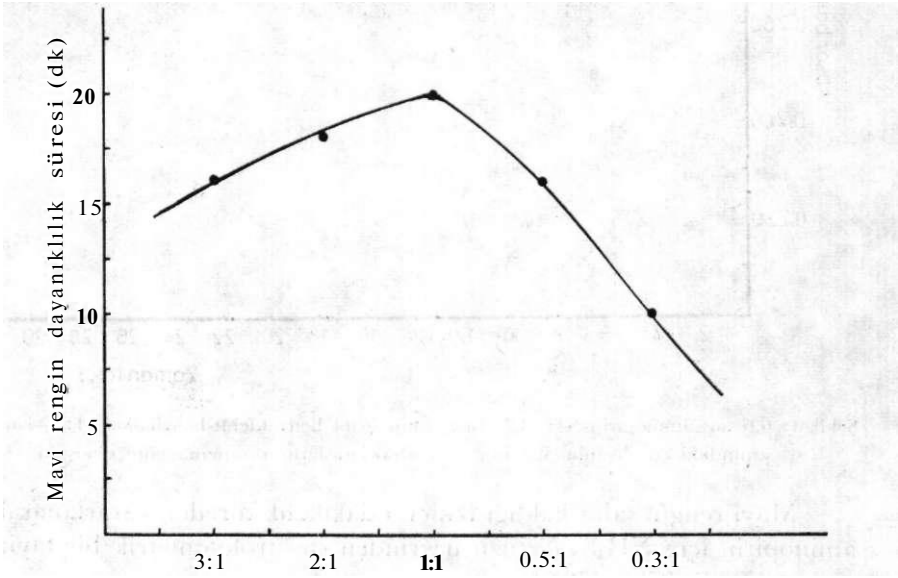
Tablo 1 Denenen Çözücüler

Alkoller	C=O içeren çözücüler	Esterler
metanol	formaldehit	etilasetat
etanol	asetaldehit	amilasetat
2-propanol	propionaldehit	diethylalat
izo-propanol	paraldehit	etilmalonat
n-butanol	aseton	etilaktat
2-butanol	metiletilketon	etilkloroasetat
izo-butanol	metilizobutilketon	etilfenilasetat
amil alkol	asetofenon	
benzil alkol	asetilaseton	
propandiol	benzilaseton	
gliserin	2,5-hekzandion	
	sikloheksanon	
	sinnamaldehit	
	krotonaldehit	
	izo-valeraldehit	
Non polar olanlar	Asitler	Diğerleri
karbontetraklorür	HNO ₃	nitrometan
kloroform	HCl	nitroetan
dioksan	HClO ₄ %20-70	nitrobenzen
sikloheksan	H ₂ SO ₄	formamit
benzen	H ₃ PO ₄	piridin
karbonsülfür	HCOOH	etilenglikol
ksilol	CH ₃ COOH	tetrahidrofuran
eter	propiyonik asit	dimetilformamit
		dimetilsulfoksit
		asetonitril

Gözlenen sonuçlara göre: en şiddetli mavi renk hekzandion, asetofenon, sikloheksanon, nitroetan, dimetilformamit, asetonitril ve dimetilsulfoksit ilavesinden sonra meydana geldi. Ama hepsinde de mavi renklenme yine aynı sırayı izleyerek hızla kayboldu.

Sikloheksan, karbontetraklorür, ksilol, eter, fenilhidrazin etilen glikol ve izo-valeraldehit ilavesinde ise çözünmenin olmadığı ve mavi rengin meydana gelmediği görüldü.

1:1 oranında benzilalkol ilavesinde ise mavi renk diğer çözücülerdekine oranla daha uzun süre sabit kaldı. Bunun üzerine benzaldehit-benzilalkol oranı 1:0.3, 1:0.5, 1:1, 1:2, 1:3 şeklinde değiştirilerek deneyler tekrarlandı. Mavi renkli çözeltinin maksimum absorpsiyon dalga boyu 590 nm olarak saptandıktan sonra bu dalga boyunda yukardaki oranlarda oluşturulan çözücü karışımındaki absorpsiyon zamana karşı grafiğe geçirildi (Şekil 3). Şekil 3'e göre en uzun süreli mavi rengin 1:1 oranındaki karışımında oluştuğu belirlendi.

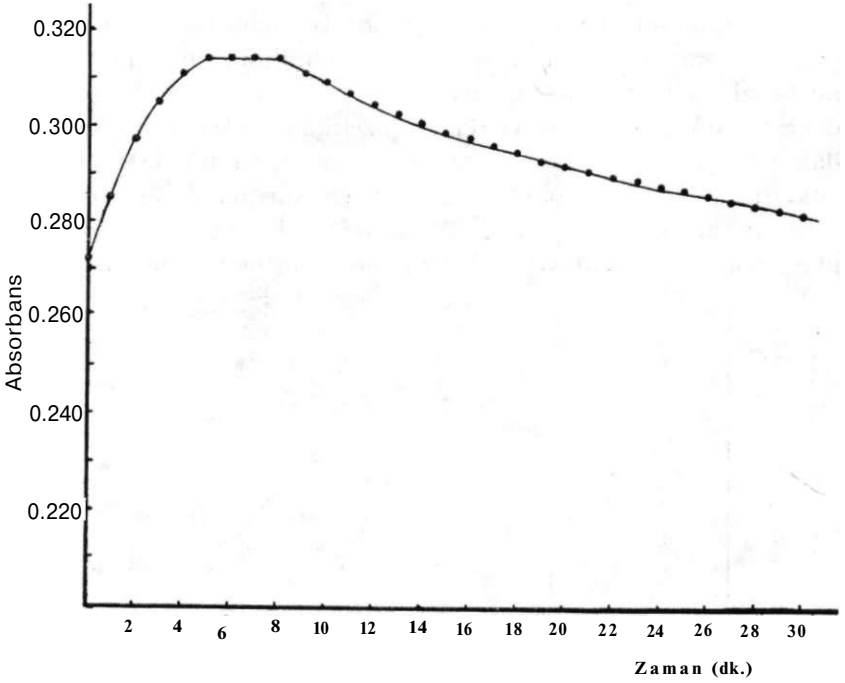


Benzaldehit-benzil alkol oranı

Şekil 3: Aminopirin- NH_4SCN bileşiğinin değişik oranlarda karıştırılmış benzaldehit-benzilalkol içerisinde meydana getirdiği mavi rengin dayanma süresi.

Sonra bu çözücü karışımı içerisinde aminopirin- NH_4SCN çözümlere mavi rengin dayanıklılığı çözeltinin 590 nm deki absorpsansı zamana karşı grafiğe geçirilerek izlendi (Şekil 4).

Elde edilen grafiğe bakıldığında absorpsansın; çözeltinin hazırlanıp spektrofotometreye konulduğu andan itibaren 5 dakikalık süre boyunca artış gösterdiği, bunu izleyen 5 dakika süresince sabit kaldığı ve daha sonra düştüğü görülmektedir. Yaklaşık 2 saat kadar sonra ise absorpsans minimum'a inmekte ve bu anda çözeltinin mavi rengi de kaybolmaktadır.



Şekil 4: 6.6 mg aminopirin- NH_4SCN bileşiğinin 5 ml benzaldehit-benzilalkol (1:1) karışımındaki çözeltisinin 590 nm deki absorbanslarının zamana göre değişimi.

Mavi rengin sabit kaldığı ikinci 5 dakikalık süreden yararlanarak aminopirin için NH_4SCN tuzu üzerinden spektrofotometrik bir tayin yöntemi geliştirildi. Buna göre:

KAUFMANN'a göre (18) hazırlanan aminopirin- NH_4SCN tuzu tartılır ve 5 ml lik balonjölere konular (balonjoje hacminin küçük seçilmesi ile pahalı ve zor bulunan çözücüler olan benzaldehit ve benzil alkolün daha az miktarlarda kullanılması sağlanmaktadır). Daha sonra 1:1 oranında taze hazırlanmış benzaldehit-benzil alkol karışımı ilave edilerek iyice karıştırılmak suretiyle tartılmış olan tuz çözülür, çözüme işleminin bitiminden 6-7 dakika sonra oluşan mavi rengin şiddeti maksimuma ulaşmıştır. Çözelti bu anda spektrofotometreye konularak 590 nm deki absorbansı okunur.

Yukarıda açıklanan yöntem ile hazırlanan standart eğrinin denklemi $y = 0,0178 x - 0,00105$ olarak hesaplanmıştır. Elde edilen verilere

göre $r^2 = 0.999$ dur. (n) için % 95 olasılıkla güvenilirlik sınırlarının:

$$- 0.00462 < n < 0.00256$$

olduğu saptanmıştır.

Bu standart eğri yardımı ile 50 mg aminopirin için yapılan tayinlerde elde edilen sonuçlar aşağıdadır (Tablo 2).

Tablo 2. Geliştirilen yöntem ile elde edilen sonuçlar.

Konulan (mg)	Bulunan (mg)	$x - \bar{x}$	$(x - \bar{x})^2$
50	49.9	- 0.1	0.01
50	50.0	0.0	0.00
50	50.2	0.2	0.04
50	49.9	- 0.1	0.01
50	50.1	0.1	0.01
50	50.1	0.1	0.01
50	50.0	0.0	0.00
50	49.9	- 0.1	0.01
50	50.1	0.1	0.01
50	50.1	0.1	0.01
50	49.8	- 0.2	0.04
	\bar{x} 50.0		Top = 0.15

Tablo 2'deki sonuçlara göre:

Standart sapma: 0.13

Bağıl sapma: % 0.244

Standart hata: 0.0386 olarak hesaplanmıştır.

$n = 10$ için % 95 olasılıkla $t = 1.81$ cetveldeki değerdir. Buna göre: Ortalamadaki sapma: $50.0 \pm 1.81 \times 0.0386$ dır.

Yapılan çalışmalara göre geliştirilen bu yöntem ile 1 mg aminopirinin tayin edilebileceği anlaşılmıştır (limit değer).

Tayin işleminde dikkat edilmesi gerekli noktalar:

1- Bilinmeyen miktarlardaki aminopirin ile çalışılırken karşılaşılan en büyük zorluk ortama konulan NH_4SCN miktarının ayarlanması olmaktadır. Soruna çözüm bulmak için herşeyden önce ortama konulan NH_4SCN miktarının reaksiyona etkisinin incelenmesi gere-

kir. Bu amaçla aminopirin, NH_4SCN ile değişik mol oranlarında karşılaşacak bişimde bir araya getirildikten sonra yukarıdaki yntem yardımıyla karışımlardaki aminopirin miktarları tayin edildi (Tablo 3).

Tablo 3. Aminopirin miktar tayininde ilave edilen NH_4SCN miktarının etkisi.

(Aminopirin) : (NH_4SCN) mol oranları		Tayin edilebilen aminopirinin yzdesi
1 : 0.50	de	~ % 50
1 : 0.75	de	~ % 75
1 : 1.25	de	% 100
1 : 1.50	de	% 100
1 : 2.00	de	% 100
1 : 3.00	de	% 100

Tablo 3'deki sonuçlar incelendiğinde NH_4SCN ün 1:1 den daha az mol oranında aminopirin ile karıştırılması halinde ancak konulan NH_4SCN yzdesinde, yani oluşan % tuz miktarında, 1:1 den daha fazla oranda karıştırılması halinde ise aminopirinin % 100 oranında tayin edilebileceği anlaşılmıştır. Bu nedenle bilinmeyen miktarlardaki aminopirin ile çalışılırken mutlaka ortama fazla miktarda NH_4SCN koymak gerekmektedir. NH_4SCN ün kendisi aynı renk reaksiyonunu vermediği için ortamdaki aşırı bulunuuşu ile renklenmeye dayalı bu tayin yntemini etkilemeyecektir.

2- Aminopirin- NH_4SCN tuzu hazırlanırken ortamın sıcaklığına da çok dikkat etmek gerekir. Çok yksek sıcaklıklarda NH_4SCN tuzu parçalanacağı için hesaplarda hata meydana gelecektir. Isıtma ancak erime sıcaklığında yapılmalı, erimenin hemen ardından ısıtma işlemine son verilmelidir.

3.2. Yntemin tabletlere uygulanması

3.2.1. Bu amaçla 20 adet tablet havanda iyice ezilerek toz edilir. Bu tozdan içerisinde yaklaşık 50 mg kadar aminopirin içeren kısım tartılarak alınır. Tartılan kısım üzerine NH_4SCN ilave edilerek çok az miktarda (2-3 damla) su katıldıktan sonra dikkatlice ısıtılarak karıştırılır (ortama konulan NH_4SCN miktarı bu durumda önemlidir. NH_4SCN miktarı tartılan tozdaki tım etken maddeler aminopirinmiş gibi dūřnölerek, fazlası ilave edilmelidir. nkü tabletteki diğer etken maddeler ve katkı maddeleri içerisinde aminopirin seyrelmiş

durumdadır. Aminopirini tamamen NH_4SCN tuzu haline çevirebilmek için mutlaka bu aşırı ilaveyi yapmak gerekir). Sonra karışım buzdolabında 3-4 saat bekletilerek iyi bir kristallenmenin oluşması sağlanır. Daha sonra karışımdan alınan belli miktardaki madde tartılır ve 5 ml lik balonjollere konulur. İlave edilen Benzaldehit-benzil alkol (1:1) ile tuz çözülür ve hemen sonra mavi bant süzgeç kağıdından süzülerek çözünmeyen dolgu maddelerinden kurtarılır. Süzüntünün, çözme işleminin başlangıcından itibaren 2'inci 5 dakikalık süre içerisinde spektrofotometrede 590 nm de absorbansı okunarak standart eğri yardımıyla miktarı tayin edilir.

3.2.2. Tabletlerdeki aminopirin miktar tayininde en çok, birlikte bulunduğu kafein, fenasetin, barbütirik asit türevleri (fenobarbital, veronal, allobarbital gibi) ve afyon alkaloitlerinin reaksiyona iştirak etmedikleri saptanmıştır.

ÖZET

Aminopirinin NH_4SCN tuzu benzaldehitte çözüldüğünde geçici bir mavi renklenme meydana gelmektedir. İlk kez tarafımızdan gözlenen bu reaksiyon üzerinde yapılan çalışmalar sonucunda mavi renk benzaldehite 1:1 oranında benzil alkol ilave edilerek bir tayin işlemi için gerekli süre boyunca dayanıklı hale getirildi ve bu renge dayalı spektrofotometrik bir miktar tayini yöntemi geliştirildi. Yöntemin hassasiyetinin 1 mg olduğu, ayrıca tabletlere kolayca uygulanabileceği saptandı.

RESUME

Lorsqu'on dissout l'aminopyrine- NH_4SCN dans b enzaldehyde une coloration bleue instable s'apparait. D'après nos études sur cette réaction, nous avons réussi de l'être stable en ajoutant alcool b nzylique (1:1) pendant une durée suffisant pour une détermination et nous avons développé une méthode sp ctrophotom trique. Nous avons déterminé que la limite de cette méthode est de 1 mg et celle-ci peut s'appliquer aisément pour l'aminopyrine se plaçant dans les tablettes.

LITERATÜR

- 1- Kreutzkamp, N., Ebel, S., Kindling, H., *Deut.Apotheker-Ztg.* 99, 443 (1959).
- 2- Graf, E., Fiedler, E., *Naturwissenschaften* 39, 556 (1952).
- 3- Schleuder, M., Beyrich, Th., *Pharmazie* 29(7), 448 (1974).
- 4- Szabo, A.E., Vinkler, E., Stajer, G., *Pharmazie* 28 (8), 542 (1973).
- 5- Sell, E., Razjer, D., *Ann.Acad.Med.Gedenensis* 6, 127 (1976).
- 6- Nolic, K., Dukic, S., *Arh. Farm.* 17 (2), 61 (1967).
- 7- Ellert, H., Jasinski, T., Pawelczak, I., *Acta Polon.Pharm.* 16, 235 (1959).
- 8- Vajgand, V., Pastor, T., *Glasnik Hem. Društva, Beograd* 27 (5), 263 (1962).
- 9- Chakarova, P., Budevski, O., *Pharmazie* 30 (8), 524 (1975).
- 10- Sell, E. *Gdansk Tow.Nauk., Rozpr.Wydz.* 7, 251 (1970) (ca. 75 101351)
- 11- Bjelica, L.J., Vajgand, V.J., Pastor, T.J.Pali, D.V., *Gals.Hem.Društva, Beograd* 41 (5), 195 (1976)
- 12- Coueur, A., Boucherle, A., *Bull. Trav. Soc. Pharm. Lyon* 7 (3), 115 (1963)
- 13- Ghimicescu, C., Stan, M., Dorneanu, V., *Farmacia (Bucharest)* 23 (3), 147 (1975)
- 14- Obtemperanskaya, S.I., Speranskaya, T.N., Burkhtenko, L.N., *Otkrytiya Izobret., Prom. Obraztsy, Tovarnye Znaki* 54 (28), 134 (1977)
- 15- Bontems, R., Teirlinck, P., *Journ.Pharm.Belgique* 16, 146 (1961)
- 16- Claeys, A., Pijck, J., *Journ.Pharm.Belgique* 19, 33 (1964)
- 17- Adam, W., *Acta Poloniae Pharmaceutica* 24 (2), 161 (1967)
- 18- Kaufmann, H.P., *Reichspatentamt Patentschrift, Deutschland,* 27.Mai (1933)