

Izopropilfenazon-Kafein İçeren Analjezik İlaçlarda Absorbans Oranları Yöntemi İle Spektrofotometrik Miktar Tayini Çalışmaları

Okan ATAY (*)
Fatma GÜMÜŞ (*)

Özet : Bu çalışmada izopropilfenazon ve kafein içeren analjezik ilaçlarda, herhangi bir ayırma işlemi yapılmaksızın doğrudan spektrofotometrik yöntemle miktar tayinleri yapılmıştır. Çalışmada absorbans oranları yöntemi kullanılmıştır. İzopropilfenazon için 240 nm, kafein için 272 nm ve üzöbestik nokta için 267.3 nm de saptanan absorbans değerlerinden ve bunların oranlarından yararlanılmıştır. Etken maddelerin kantitatif tayinlerinde yararlanılan regresyon denklemleri oluşturulmuştur. Tarafımızdan hazırlanan standart karışımlarla, yöntemin duyarlılığı ve tekrarlanabilirliği saptanmış ve metod piyasada bulunan izopropilfenazon + kafein karışımlarına uygulanmıştır. Çalışmada en uygun konsantrasyon aralığının kafein için 2-10 µg/ml, izopropilfenazon için 1-20 µg/ml olduğu saptanmıştır. Piyasa örnekleri ile yapılan çalışmalarda draje üretiminde kullanılan eksipiyen maddelerin yöntemi etkilemediği saptanmıştır.

(*) Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Kimya Anabilim Dalı, Etiler - ANKARA

Teslim Tarihi : 25/11/1987

Yayına Kabul Tarihi : 28/3/1988

**SPECTROPHOTOMETRIC ANALYSIS OF
ANALGESIC DRUGS CONTAINING ISOPROPYLPHENAZONE—
CAFFEINE BY ABSORBANCE RATIO METHOD**

Summary : In this study, quantitative determination of analgesic drugs containing isopropylphenazone and caffeine was performed by direct spectrophotometric method without isolation. Absorbance ratio method was used in the study. The absorbance values measured for isopropylphenazone at 240 nm, for caffeine at 272 nm, for isosbestic point at 267.3 nm and the ratio of the absorbance values of these were used. Regression equations which it is benefited at quantitative determinations of active compounds were formed. The sensitivity and the reproducibility of the method were determined by using the standard mixtures prepared by us and the method was applied to commercially available isopropylphenazone and caffeine combinations. It was determined that most suitable concentration intervals were 2-10 µg/ml for caffeine, 1-20 µg/ml for isopropylphenazone and the exipients was present in commercial drages didn't influenced the method.

GİRİŞ :

Özellikle aminopirinin kemik iliği inhibisyonu ve kan tablosu üzerine olan olumsuz etkileri belirlenip analjezik ilaç kombinasyonlarından çıkartılması ve Türkiye'de kullanımının yasaklanmasından sonra, yine pirazolon grubu taşıyan izopropilfenazon, ağrı kesici kombinasyonlarda kafein ve diğer analjezik maddelerle birlikte kombine halde sıklıkla kullanılmaktadır.

Yapılan literatür incelemesinde, izopropilfenazon ve kafein miktar tayini için, spektrofotometrik (1-3), kolorimetrik (4), derivatif spektrofotometrik (5), kolon kromatografisi (6), yüksek basınçlı

sıvı kromatografisi (7-10) yöntemlerinden yararlanıldığı gözlenmiştir.

İzopropilfenazon-kafein içeren piyasa örneklerinin kantitatif tayini için uygulanan absorbans oranları yönteminin teorisini matematiksel olarak ilk defa Pernarowski (11) ortaya koymuştur. Aynı yöntem kullanılarak, tetrasiklinin bozunma ürünleri olan anhidrotetrasiklin, epianhidrotetrasiklinin miktar tayini aynı araştırmacı tarafından yapılmıştır (12). Kombine sülfamidlerin miktar tayini (13), aminopirin-dietilbarbitürik asit karışımlarının miktar tayini (14) absorbans oranları metodu ile yapılmıştır.

MATERYAL ve YÖNTEM :

Spektrofotometre-Shimadzu
UV-120

Spektrofotometre-Shimadzu
UV-160 (Kaydedicili)

Metanol, HCl Merck kalitesinde olup, izopropilfenazon ve kafein Refik Saydam Hıfzısıhha Merkez Başkanlığından temin edilmiştir.

STOK İZOPROPİLFENAZON ÇÖZELTİSİ (ÇÖZELTİ P) :

25.00 mg izopropilfenazon 25 ml metanolde çözülür. Bu çözeltiden 5 ml alınır.

50 ml ye 0.1 N HCl ile tamamlanır (100 µg/ml).

STOK KAFEİN ÇÖZELTİSİ (ÇÖZELTİ K) :

25.00 mg kafein 25 ml metanolde çözülür. Bu çözeltiden 5 ml alınır. 50 ml ye 0.1 N HCl ile tamamlanır (100 µg/ml).

Regresyon denklemi çalışmasında Çözelti P ve Çözelti K'dan Tablo 1'de gösterilen miktarlarda karıştırılıp çözeltinin hacmi 0.1 N HCl ile 50 ml ye tamamlanır. Elde edilen farklı oranlardaki standart karışımların 240, 272 ve 267.3 nm deki absorbens değerleri saptanır.

NUMUNENİN HAZIRLANMASI :

20 draje 0.1 mg duyarlılıkta tartılır. Toz edilir. Homojen bir toz karışımı elde edilinceye kadar

karıştırılır. Toz karışımından 1 draje ortalama ağırlığına eşdeğer toz tartılır. 20 ml metanol ile man-yetik karıştırıcıda 30 dakika karış-tırılır. Süzülür. Süzüntü 50 ml ye 0.1 N HCl ile tamamlanır. Bu çö-zeltiden 0.1 N HCl ile çeşitli dilüs-yonlar yapılarak kafein için 1.25-4 µg/ml, izopropilfenazon için 8.75-28 µg/ml konsantrasyon aralıkta numune çözeltileri hazırlanır.

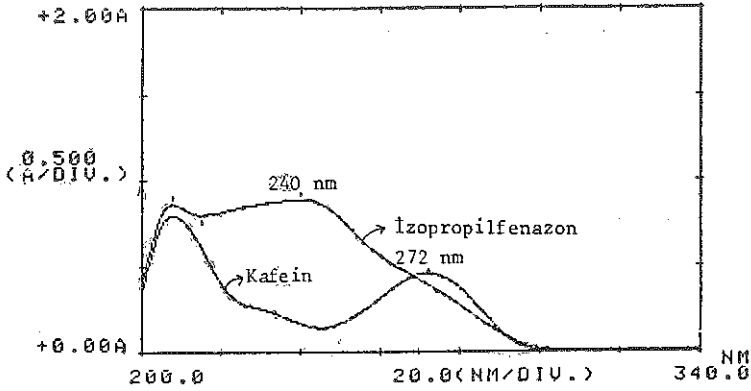
HESAPLAMA :

Uygun konsantrasyon aralığına getirilen numune çözeltisinin 240, 272, 267.3 nm deki absorbens değerleri ölçülür. İzopropilfenazon için 240/267.3, kafein için 272/267.3 absorbens oranları, denklemde Q değeri olarak kullanılır. (a) ve (b) değerleri etken maddenin regresyon denkleminde bulunan eğim ve ke-şişim değerleridir. A_{150} 267.3 nm de ölçülen absorbens değeri, a_{150} ise 267.3 nm deki absorbtivite değeri-dir. Bu çalışmada absorbtivite değeri 26.6 bulunmuştur.

Bilinen bu değerler denklemde yerine konularak (x) = Etken mad-denin karışımdaki miktarı mg/ml cinsinden bulunur.

BULGULAR :

Uygulanan yöntemde izopropil-fenazon için 240 nm, kafein için 272 nm deki 0.1 N HCl içindeki maksimum absorbens değerlerin-den yararlanılmıştır. İzosbestik nokta ise 267.3 nm olarak saptan-mıştır Şekil (1).



Şekil 1 :

İzosbestik nokta aynı konsantrasyondaki izopropilfenazon ve kafein çözeltilerinin aynı absorbens değerini gösterdiği dalga boyudur (Spektrumların kesişim noktası).

Regresyon denklemlerinin hesaplanmasında karışım içindeki konsantrasyonu tarafımızdan bilinen bir dizi standart çözelti hazırlanmıştır.

(x) = Bağımsız değişken olarak, tayini yapılacak etken madde miktarının, karışımındaki toplam etken madde miktarına oranları, (y) = Bağımlı değişken olarak, maddenin kendisine ait maksimum absorbens değerinin izosbestik noktadaki absorbens değerine oranı alınmıştır. Bulunan x ve y değerlerinden yararlanılarak en küçük kareler yöntemi ile izopropilfenazon ve kafein için ayrı ayrı regresyon denklemleri hesaplanmıştır.

Regresyon denklemi için hazırlanan standart çözelti karışımları ile ilgili değerler Tablo 1'de, bulunan sonuçlar Tablo 2'de verilmiştir.

Uygulanan tekniğin tekrarlanabilirliğini ve duyarlılığını saptamak için farklı konsantrasyonlarda izopropilfenazon ve kafein içeren standart karışımlara uygulanmış ve ayrıca piyasa eczanelerinden temin edilen analjezik ilaç örneklerine tatbik edilmiştir.

Kantitatif çalışmada aşağıdaki denklemlerden yararlanılmıştır.

$$C_x (\mu\text{g/ml}) = \frac{Q - a}{b} \times \frac{A_{150}}{a_{150}}$$

Burada :

C_x : Karışımındaki etken madde miktarı

TABLO 1 :

	* Karışımdaki Miktar ml		Karışımdaki Miktar µg/ml		Karışımdaki Oranlar		Absorbans Oranları	
	İzopropilfenazon Çözelti P	Kafein Çözelti K	İzopropilfenazon	Kafein	İzopropilfenazon	Kafein	İzopropilfenazon 240/267.3	Kafein 272/267.3
1	8	2	16	4	0.8000	0.2000	1.3893	0.9446
2	8	1	16	2	0.8888	0.1111	1.5643	0.9142
3	6	2	12	4	0.7500	0.2500	1.2942	0.9670
4	6	1	12	2	0.8572	0.1428	1.4915	0.9269
5	5	1	10	2	0.8333	0.1666	1.4470	0.9315

* Bu sütunda verilen miktarda Stok P ve K çözeltileri 0.1 N HCl ile 50 ml ye tamamlanır.

TABLO : 2

	İzopropilfenazon	Kafein
Eğim (a)	1.4101	0.3760
Kesişim (b)	0.2718	0.8722
Korelasyon Katsayısı (r)	0.9961	0.9964
Determinasyon Katsayısı (r ²)	0.9924	0.9928
Regresyon Denklemi y = b + ax	Y = 0.2718 + 1.4101x y = 0.8722 + 0.3760x	

Q : *Absorbans oranı

*Bu değer izopropilfenazon için 240/267.3 nm, kafein için 272/267.3 nm absorbans oranlarıdır.

a : Regresyon doęrusunun eęimi

b : Regresyon doęrusunun kesişim değeri (inter-septi)

$A_{1,50}$: İzosbestik noktada saptanan absorbans değeri

$a^{**}_{1,50}$: İzosbestik noktada saptanan absorbtivite değeri

**Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan standart çözelti karışımlarının izosbestik noktadaki (267.3 nm) absorbans değerinin, karışımın toplam konsantrasyonuna bölümü ile bulunan değerlerin ortalamasıdır. Bu çalışmada $a_{1,50}$: 26.6 olarak bulunmuştur.

Tarafımızdan hazırlanan standart karışımlarla ilgili çalışmalar Tablo 3, piyasa örnekleri ile yapılan çalışmaların sonuçları Tablo 4'de verilmiştir.

Tablo 3 :

Karışımındaki Değerler ($\mu\text{g/ml}$)		Bulunan Değerler ($\mu\text{g/ml}$)	
Kafein	İzopropilfenazon	Kafein	İzopropilfenazon
1.5	12	1.46	12.05
2	14	2.15	13.90
2.5	15	2.30	14.85
3	15	3.15	15.00
3.25	19.5	3.10	20.70

Her standart çalışma için 3 ayrı çalışma yapılmış, bulunan değerlerin ortalaması verilmiştir.

SONUÇ ve TARTIŞMA :

Piyasadan temin edilen draje tipinde örneklerle yapılan çalışmada, Nişasta, Laktoz, Talk, Magnezyum Stearat, tatlandırıcı olarak kullanılan sakkaroz ve kullanılan boya maddelerinin metodu etkilemediği gözlenmiştir.

Yapılan çalışmada saptanan

doğrusallığın kafein için 2-10 $\mu\text{g/ml}$ izopropilfenazon için 1-20 $\mu\text{g/ml}$ aralığında uygun olduğu saptanmıştır.

Absorbans oranları yöntemin-den yararlanılarak yapılan spektrofotometrik çalışmalarda maddelerin karışım içindeki oranı önemli olmaktadır. Piyasa örneklerinin

Tablo 4 :

I Nolu Örnek (Draje)	Bulunan Değerler (mg)	
	İzopropilfenazon	Kafein
İzopropilfenazon 175 mg	176.70	24.65
Kafein 25 mg	175.00	28.02
	173.90	26.75
	170.70	24.95
	172.95	27.85
ORTALAMA	173.85	26.40
Standart Sapma	2.01	1.41
Variasyon Katsayısı	1.155	5.35
% 95 Olasılıklı Güven Aralığı t = 0.05	171.55-176.15	24.82-28.06
II Nolu Örnek (Draje)		
İzopropilfenazon 200 mg	205.20	26.75
Kafein 25 mg	198.75	26.02
	201.30	26.90
	200.70	24.15
	203.42	27.35
ORTALAMA	201.87	26.23
Standart Sapma	2.23	1.126
Variasyon Katsayısı	1.10	4.293
% 95 Olasılıklı Güven Aralığı t = 0.05	199.3-204.43	23.7-26.3

formülleri incelendiğinde izopropilfenazon : Kafein oranının 7 : 1 ve 8 : 1 olduğu görülmektedir. Bu oran teorik olarak absorban oranları yöntemi uygulamalarında miktarı az olan etken madde için bazı dezavantajlar ge-

tirmesine rağmen, yapılan çalışmada kafein için, duyarlı ve tekrarlanabilir ve kabul hudutları içinde sonuçlar alınmıştır.

Yöntem izopropilfenazon + kafein içeren analjezik preparatların çözünme (dissolution) profilinin çı-

kartılmasında, medium (ortam) (0.1N HCl) içinde çözünen ve çok düşük konsantrasyondaki etken maddelerin aynı anda direkt tayini için de kullanılabilir duyarlılıkta olduğu düşünülmektedir.

SONUÇ :

İzopropilfenazon, kafein içeren analjezik kombinasyonlarda hiç bir ayırma işlemi yapılmaksızın uygulanabilecek, kolay, hızlı ve duyarlı bir miktar tayini yöntemi olarak önerilmektedir.

KAYNAKLAR

1. Machec, G., Lorenz, F., «Indirect Spectrophotometric Analysis of Mixtures of Two and More Substances», **Sci Pharm.** 34 (3), 213-31, 1966.
2. Pfandl, A., «Quantitative Analysis of Pharmaceutical Preparations Containing Analgesic and Antipiretic Agents», **Deut. Apoth. Ztg.** 108 (17), 568-71, 1968.
3. Settler, H., «Spectrophotometric Determination of Drugs in Pharmaceutical Preparations», **Pharm. Ztg.** 114 (43), 1605-9, 1969. Ref. C.A. : 72, 1970, 47411 m.
4. Peterkova, M. Matousova, O. and Kakaç, B., «Determination of Propylphenazone, Paracetamol, Caffeine and Codeinedihydrogen phosphate in the presence of each other in the compound Analgesic Agent», **Cesk.**

Farm. 30 (8), 270-3, 1981. Ref. C. A. : 96, 1982, 91727p

5. Vergeichik, E. N., Saushkina, A. S., Lilkhota, T. T. and Raimova, L. S., «Quantitative Analysis of Caffeine - Na - benzoate Tablets by Derivative Spectrophotometry», **Farmatsiya** (35) (5), 43-7, 1986, Ref. C. A. : 105, 1986, 23542t.
6. Pollino, G., «Determination of Phenacetine Caffeine and Acetylsalicylic acid in a Mixture Using Column Chromatography», **Boll. Chim. Farm.** III, 57-63, 1972.
7. Lai, J.S., Wang, D. P., «Study on the Assay of Components in Compound Isopropylphenazone Preparation», **Tai - Wan Yao Hsueh Tsa Chih**, 31 (1), 1-8, 1979, Ref. C. A. : 93, 1979, 54066q.
8. Mamolo, M.G., Vio, L. and Maurich, V., «Simultaneous Quantitation of Paracetamol, Caffeine and Propylphenazone by HPLC», **J. Pharm. Biomed. Anal.**, 3 (2), 157-64, 1985.
9. Mamolo, M. G., Vio, L. and Maurich, V., «HPLC Chromatographic Analysis of Paracetamol. Caffeine and Acetylsalicylic acid in Tablets», **Farmaco [Prat.]**, 40 (4), 111-23, 1985.
10. Gurtoo, H.L., «Determination of Total Salisilate - phenacetine and on Total N-acetyl-p-aminophenol and Caffeine in Bio-

- logical Samples and Analgesic Formulations», **J. Pharm. Sci.**, 62, 383-7, 1973.
11. Pernarowski, M., Kneveil, A. M. and Christian, J.E., «Application of Absorbancy to the Analysis of Pharmaceuticals. Theory of the Analysis of Binary Mixtures», **J. Pharm. Sci.**, 50 (II), 943-57, 1961.
 12. Pernarowski, M., Seari, R. O. and Naylor, J., «Analysis of Tetracycline HCl in Presence of Anhydrotetracycline and Epi-anhydrotetracycline», **J. Pharm. Sci.**, 58 (4), 470-73, 1969.
 13. Wahbi, A. A., Abdine, H., Korany, M., and El - Yazbi, F., «Spectrophotometric Analysis of Binary Mixture of Sulphonamids», **J. Ass. of Anal. Chem.** 62 (I), 67-70, 1979.
 14. Hu, Y., Yang, Q. and Dong, S., «Application of Dual Wavelength Spectrophotometry and Absorbance Ratio Method in Analysis of Compound Preparations. IV. Determination of Amidopyrine and Barbitol in Amidopyrine - Barbitol Injection», **Nanjing Ya oxueyuan Xuebao**, 20 (3), 4-8, 1982, Ref. C. A. : 99, 1983, 93842h