

# Ferri Hidroksamat Yöntemi İle Pirasetam'ın Kantitatif Tayini

Pınar BULUT (\*)

Nesrin ANDI (\*)

**Özet :** Bu çalışmada, pirasetamın ferri hidroksamat yöntemi ile kolorimetrik miktar tayini için en uygun sıcaklık, zaman, pH koşulları araştırılmıştır. Reaksiyonun ilk kademesinde pirasetam bazik ortamda, değişik sıcaklıklarda ve sürelerde hidroksilaminle reaksiyona sokulmuş, sürenin sonunda ortam asitlendirilerek ferri klorür ile 497 nm de okunabilen kahverengi kelat kompleksi elde edilmiştir. Kompleksin maksimum absorpsiyonu 20°C de 5 saat hidroksilaminle reaksiyon sonucunda elde edilmişse de, 5 saat uzun bir süre olduğundan, çalışmada hidroksilaminle reaksiyon süresi olarak 60°C de 30 dakika kullanılmıştır.

Ayrıca ortamın asitliğinin kompleksin dayanıklılığına etkisi ve Job yöntemi ile kompleksin yapısı araştırılmıştır. Uyguladığımız yöntemle pirasetamın 25-200 mcg/ml konsantrasyonları arasında Lambert-Beer yasasına uyulmaktadır ve yöntemin değişme katsayısı %1,81 olarak hesaplanmıştır.

## THE QUANTITATIVE DETERMINATION OF PIRACETAM WITH FERRI HYDROXAMATE METHOD

**Summary :** The optimum time, temperature and pH conditions were investigated for the determination of piracetam with ferri hydroxamate method. At first step piracetam was reacted by hydroxylamine at various temperatures for different periods of time in basic medium, at the end of reaction time, brown chelate complex was yielded by ferric chloride in acid medium. The absorption of complex was read at 497 nm. It was found that the optimal conditions were at 20°C for 5 hours, but this time is long, so we studied at 60°C for half an hour.

(\*) Refik Saydam Merkez Hıfzıssıhha Enstitüsü, İlaç Kontrol Şubesi - Ankara.

The effect of hydrogen ion concentration on stability of complex was also investigated and it has also been determined that the product was formed with the formula  $Fe(RCONHO)^{+2}$  by Job method. As a result, the following quantitative assay procedure was adopted : 4 ml alkaline hydroxylamine reagent containing equal volumes 3,50 N sodium hydroxide solution and 2,0 N hydroxylamine HCl solution are added to 2 ml piracetam solution, the mixture is kept at 60°C for half an hour, and then rapidly cooled to room temperature, 2 ml each of 6,70 N hydrochloric acid solution and 0,75 M ferric chloride solution are added to mixture. Readings are carried out after three minutes. It obeys Lambert - Beer law in a concentration of 25 - 200 mcg/ml and coefficient of variation is %I, 81.

## GİRİŞ

Alkolizmde, travma ve cerrahi operasyonlar sonrası ortaya çıkabilen psikolojik sendromların tedavisinde, çocukların uyumsuzluk hallerinde kullanılan ve serebral stimulan bir ilaç olan pirasetam, bir amiddir (2-pyrrolidone acetamid). Bu yapısal özelliğinden yararlanarak pirasetamın miktar tayininde ferri hidroksamat yöntemi uygulanmıştır. Yöntem, ilk kademede amid, ester gibi grupların hidroksilaminle reaksiyona girerek hidroksamik asit oluşturması ve ikinci kademede ortam asitlendirildikten sonra hidroksamik asitin ferri klorür ile kelat kompleksi vermesi esasına dayanmaktadır. Bu yöntem ile amidlerden başka esterler, asit klorürler, anhidritler ve nitrillerde tayin edilebilirler. (1). Amidlerin ve nitrillerin kalitatif tayinleri bu yöntemle Soloway tarafından yapılmıştır, (2) Soloway çözücü, sıcaklık, reaksiyon süresi ve pH faktörlerinin kalitatif tayin sonuçlarını etkilediğini belirtmiş-

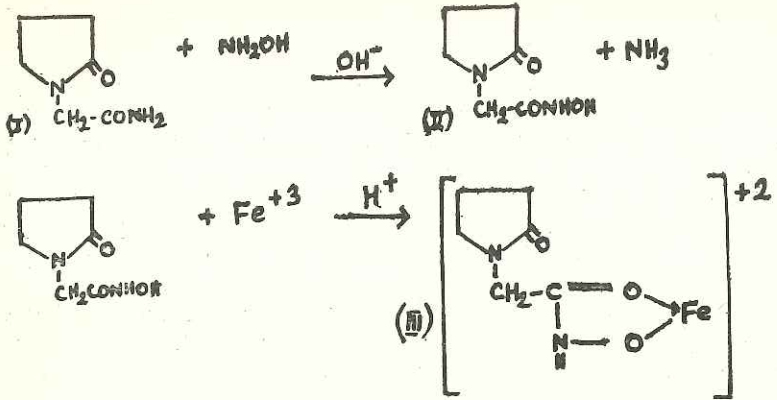
tir. Gene bu yöntem ile diaçil amidlerin tayinleri Polya tarafından çalışılmış (3), ve diaçil amidler için bu yöntemin uygun olmadığı gösterilmiştir. Daha detaylı bir araştırma Bergmann tarafından yapılmış ve bu yöntemle 23 amidin tayini için en uygun koşullar saptanmıştır. (4). Ayrıca Connors tarafından ferri hidroksamat kompleksinin  $Fe(RCONH O)^{+2}$ ,  $Fe(RCONH O)_2^{+1}$ ,  $Fe(RCONH O)_3$  olmak üzere üç değişik yapıda olabileceği belirtilmiştir. (5). Çalışmamızda Job yöntemi ile pirasetamın ferri hidroksamat kompleksinin birinci kompleks gibi oluştuğu saptanmıştır. (Şekil 1, Şekil 5)

## GEREÇ VE YÖNTEM :

Spektrofotometre, Variant, seri 634

Termostatlı su banyosu ve vialı bakalit kapaklı deney tüpleri.

Deneylerde distile su ve analitik saflıkta kimyasal maddeler kullanılmıştır.



- I. Pirasetam  
 II. Pirasetamın Hidroksanik Asidi

- III. Pirasetamın Ferri Hidroksamat Kompleksi

Şekil 1. Reaksiyon Şeması

Çözelti 1 : Hidroksilamin HCl çözeltisi, 2 N, suda. Taze hazırlanmalıdır.

Çözelti 2 : Sodyum hidroksit çözeltisi, 3,5 N.

Çözelti 3 : Alkalen hidroksilamin reaktifi : Birinci ve ikinci çözeltilerin eşit hacimde karıştırılmasıyla hazırlanmıştır.

Çözelti 4 : Hidroklorik asit çözeltisi, 6, 7 N

Çözelti 5 : Ferri klorürün 0,1 N HCl deki çözeltisi, 0,75 M, Taze hazırlanmalıdır.

Çözelti 6 : Job yöntemi için ligand çözeltisi :  $2 \times 10^{-5}$  mol/ml konsantrasyonda olacak şekilde  $2 \times 10^{-3}$  mol pirasetam (284,3 mg) 100 ml lik balon joje içinde 25 ml su ilavesiyle çözülmüştür. Üzerine tam 50 ml alkalen hidroksilamin reaktifi konmuş ve 5 saat oda sıcaklığında (20°C) bekletilmiştir. Sürenin sonunda 6,7 N HCl ilavesiy-

le hacmine tamamlanmıştır.

Çözelti 7 : Job yöntemi için ferri klorür çözeltisi :  $2 \times 10^{-5}$  mol/ml ferri klorür çözeltisi (0,1 N HCl de).

A) Miktar tayini yöntemi : Pirasetamın sudaki 0,5 mg/ml konsantrasyondaki çözeltisinden 2 ml deney tüpüne alınır ve üzerine 4 ml alkalen hidroksilamin reaktifi konarak 60°C de 30 dakika tutulur, sürenin sonunda hızla soğutularak dördüncü ve beşinci çözeltilerden 2 şer ml konur. Absorbsiyon pirasetam yerine su ile hazırlanmış köre karşı 497 nm de ferri klorür konduktan 3 dakika sonra okunur.

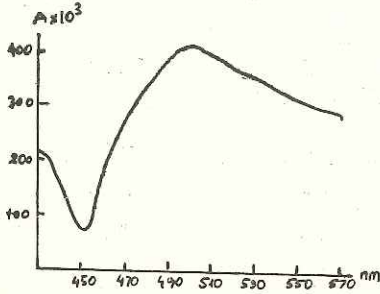
B) Job yöntemi : Tüplere 0,5 ml den 9 ml ye kadar; 0,5 ml aralıkla çözelti 6 konmuş, herbirine çözelti 7 konduktan sonra ortamın asitliği 1,06 m mol HCl/ml olacak şekilde gerekli miktarda 6 N HCl ilave edilmiş, daha sonra en küçük ferri klorür miktarından başly-

rak (10 - Çözelti 6) ml kadar çözelti 7 ilave edilmiştir. Her çözelti 7 konmasından sonra absorpsiyon suya karşı 497 nm de okunmuştur.

## BULGULAR :

### 1) Uygun Dalgaboyunun Seçimi

Pirasetamferri hidrokсамat kompleksinin spektrumu alınmış ve kompleksin maksimum absorpsiyon verdiği dalgaboyu  $497 \pm 3$  nm olarak bulunmuştur. (Şekil 2)



Şekil 2. Kompleksin Spektrumu

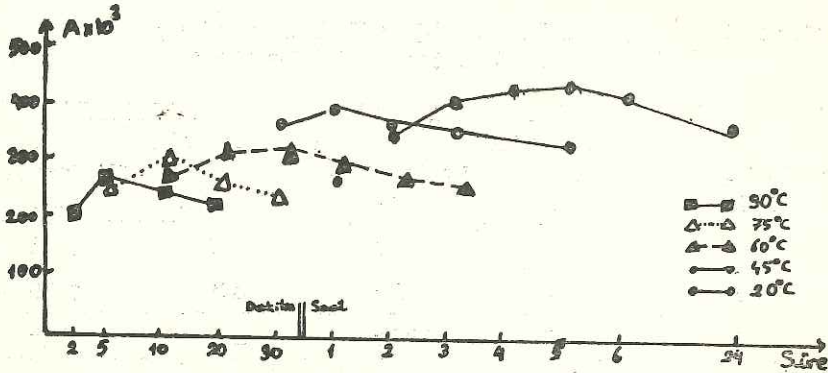
### 2) Optimum Sıcaklık ve Süre

0,1 mg/ml pirasetam ile hidrokсамilin  $20^\circ$ ,  $45^\circ$ ,  $60^\circ$ ,  $75^\circ$  ve  $90^\circ\text{C}$

de ve değişik sürelerde reaksiyona sokulmuş ve maksimum absorpsiyon  $20^\circ\text{C}$  de 5 saat süren reaksiyon sonucu elde edilmiştir. (Şekil 3) Görüldüğü gibi sıcaklık arttıkça, o sıcaklıkta elde edilebilecek en yüksek absorpsiyona ulaşmak için gereken süre kısalmakta, fakat absorpsiyon değeri azalmaktadır. Bu husus ferri hidrokсамat yönteminde reaksiyon hızının sıcaklık ile artması ve sıcaklık arttıkça oluşan hidrokсамik asitin bozunması tarzında açıklanmaktadır. (I)

### 3) Kompleksin Dayanıklılığı

Ferri hidrokсамat yöntemi sonucunda oluşan kompleksin dayanıklılığına hidrojen iyonu ile Fe (III) iyonu konsantrasyonunun etki ettiği bildirilmektedir. (I) Kompleksin dayanıklılığının en fazla olduğu asit konsantrasyonunu bulmak için değişik normaliteli sodyum hidroksit ve HCl ile çalışılmıştır. Pirasetamdan oluşan kompleksin dayanıklılığına asit konsantrasyonunun etkisi Tablo 1 de görül-



Şekil 3. Absorpsiyonun Süre ve Sıcaklıkla İlgisi

mektedir. Alkalen hidroksilamin reaktifi hazırlanırken 3,5 N sodyum hidroksit kullanıldığında optimum dayanıklılık için 6,7 N HCl ile çalışmak gerekirken ,3, 325 N sodyum hidroksit kullanıldığında optimum dayanıklılık için 6,5 N HCl ile çalışmak gerekmiştir. Bu verilere göre kompleksin dayanıklılığı için ortamın asit konsantrasyonunun

1,06 m mol HCl/ml olması gerektiği anlaşılmaktadır. Kompleksin en dayanıklı olduğu bu durumda absorpsiyon ferri klorür konduktan sonra 3 dakikada yükselmekte ve 3-10 dakika arasında aynı kalmaktadır.

Kompleksin dayanıklılığına etki eden bir diğer faktörde ferri klorürün molaritesidir. Tablo 2 de

**Tablo 1. Kompleksin Dayanıklılığına Asit Konsantrasyonunun Etkisi.**  
T = 60°C, t = 30', c = 0,1 mg/ml

3,325 N NaOH		3,5 N NaOH	
HCl Normalitesi	10' Bozunma Hızı	HCl Normalitesi	10' Bozunma Hızı
3,5	%6,5	6	%3
4	%5	6,3	%2,5
4,75	%4	6,5	%1,7
5,5	%2	6,6	%0,7
6	%0,6	6,7	Sıfır
6,5	Sıfır	6,8	%0,8
7	%2,6	7	%2,8

**Tablo 2. Kompleksin Dayanıklılığına FeCl<sub>3</sub> Konsantrasyonunun Etkisi.**  
T = 60°C, t = 30', NaOH = 3,325 N

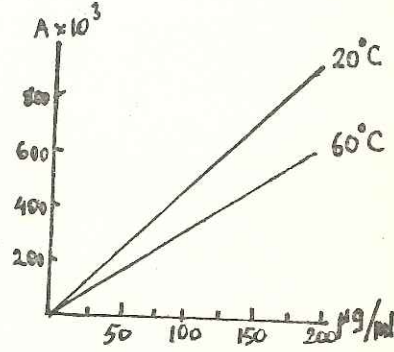
FeCl <sub>3</sub> Molaritesi	6,5 N HCl		5,5 N HCl	
	E 497 nm	10' Bozunma Hızı	E 497 nm	10' Bozunma Hızı
0,25	.274	%2,5	.329	%3,4
0,50	.378	Sıfır	.484	%1,6
0,75	.456	Sıfır	.566	%1,6
1	.507	%1	.622	%2,2

görüldüğü gibi 0,5 ve 0,75 M ferri klorür kullanıldığında en dayanıklı kompleks elde edilmiştir. Daha büyük absorpsiyon 0,75 M ferri klorür ile elde edildiği için çalışmada bu molarite seçilmiştir, ancak 0,5 M ferri klorür çözeltisi, çözünme kolaylığı açısından tercih edilebilir.

#### 4) Lambert - Beer Yasasına Uygunluk

Değişik konsantrasyonlarda piraşetam hidrosilaminle reaksiyona sokulmuş, hem 20°C de 5 saat, hem de 60°C de yarım saat reaksiyon koşullarında 0,025 - 0,2 mg/ml pira-

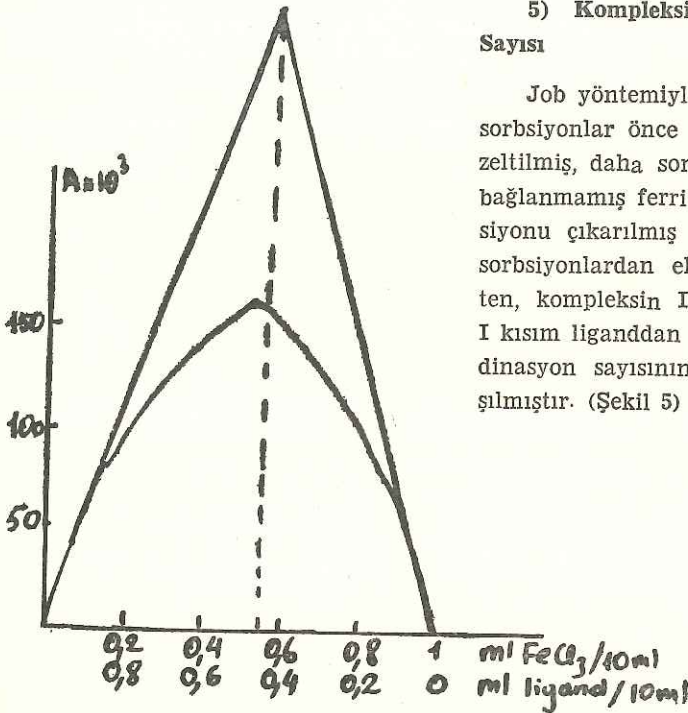
şetamdan elde edilen kompleksin absorpsiyonunun Lambert - Beer yasasına uyduğu görülmüştür. (Şekil 4)



Şekil 4. Konsantrasyon - Absorpsiyon ilişkisi

#### 5) Kompleksin Koordinasyon Sayısı

Job yöntemiyle elde edilen absorpsiyonlar önce 10 mlye göre düzeltilmiş, daha sonrada bunlardan bağlanmamış ferri klorürün absorpsiyonu çıkarılmış ve bulunan absorpsiyonlardan elde edilen grafikten, kompleksin I kısım demir ve I kısım liganddan oluştuğu ve koordinasyon sayısının I olduğu anlaşılmıştır. (Şekil 5)



Şekil 5. Koordinasyon Sayısının Bulunması

#### 6) Yöntemin Doğruluk Derecesi

0,1 mg/ml pirasetam ile 10 tayı yapılmış ve ortalama absorpsiyon 0,404 bulunmuş, standard sapma 0,0073 ve değişme katsayısı %1,81 olarak hesaplanmıştır.

#### SONUÇ

Sonuçta pirasetamın miktar tayini için ferri hidroksamat yönteminin uygun bir yöntem olduğu görülmüştür.

(Geliş Tarihi : 13.10.1982)

#### KAYNAKLAR

1. Siggia, S., «Determination of Traces of Amides», *Quantitative Organic Analysis via Functional Groups*, John Wiley and Sons, Inc., 174, 1963.
2. Soloway, S., Lipschitz, A., «Colorimetric Test for Amides and Nitriles» *Anal. Chem.*, 24, 898 - 900, 1952.
3. Polya, J.B., Tardew P.L., «Colorimetric Assay of Diacyl Amides», *Anal. Chem.*, 23, 1036 - 1037, 1951.
4. Bergmann, F., «Colorimetric Determination Of Amides as Hydroxamic Acids», *Anal. Chem.*, 24, 1367 - 1369, 1952.
5. Connors, K.A., «Ferric Hydroxamate Colorimetric Analysis of Esters» *A Textbook of Pharmaceutical Analysis*, John Wiley and Sons, Inc. 450, 1967.