

Katedra i Zakład Chemii Farmaceutycznej. Wydział Farmaceutyczny.
Akademia Medyczna w Lublinie
Kierownik: doc. dr Eugenia Domagalina

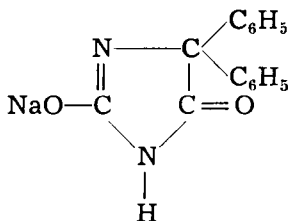
Lech PRZYBOROWSKI

Argentometryczne i kompleksometryczne oznaczenie hydantoinalu

Аргентометрическое и комплексометрическое определение гидантоинала

Argentometric and Complexometric Determination of Hydantoinal

W grupie ureidów cyklicznych znaczenie w lecznictwie mają, obok barbituranów pochodne hydantoiny, wśród których wyróżnia się popularnością hydantoinal (sól sodowa 5,5-dwufenylohydantoiny), podawany doustnie głównie jako lek przeciwpadaczkowy.



Opracowanie nowych metod ilościowego oznaczania hydantoinalu jest nadal aktualne, gdyż większość znanych metod analitycznych wykazuje szereg niedogodności z uwagi na znaczne zużycie czasu badania, małą dokładność oznaczeń lub posługiwanie się nie zawsze dostępną aparaturą albo odczynnikami. Z metod oznaczania należy wymienić metodę wagową, opisaną w Farmakopei Polskiej III. Inna metoda wagowa (1) poleca wytrącenie nierozpuszczalnego kompleksu miedziowego, który odsącza się i suszy w temp. 40°C do stałego ciężaru. Uciążliwa jest metoda jodometryczna (2), polegająca na wytrąceniu z alkalicznego roztworu hydantoinalu działaniem chloru pochodnej dwuchlorowej, rozpuszczeniu jej w kwasie octowym i po dodaniu jodku potasowego odmiareczkowaniu wydzielonego jodu roztworem tiosiarczanu sodowego. Podobny zarzut dotyczy oznaczenia dwufenylohydantoiny eluowanej z hydantoinalu na wymienniczu kationitowym (amberlit IRC 50) przy pomocy dwumetyloformamidu i miareczkowanej metano-

lanem sodowym w roztworze benzenowo-metanolowym (3). Inni autorzy polecają, celem oddzielenia hydantoinalu od luminalu, chromatografię kolumnową na cellicie 535 i następnie oznaczenie spektrofotometryczne (4). Metodami spektrofotometrycznymi oznaczono także 5,5-dwufenylohydantoinę w płynach ustrojowych (5, 6). Związek ten analizowano również na drodze amperometrycznego miareczkowania za pomocą roztworów soli metali ciężkich (7). Prosta metoda oznaczania przez miareczkowanie kwasem nadchlorowym (8) nie ma zastosowania w przypadku analizy formy recepturowej leku w roztworze wodnym. Podobieństwo budowy hydantoin i barbituranów nasuwa możliwość wykorzystania metod oznaczania tych ostatnich, szerzej opracowanych analitycznie, do oznaczania hydantoinalu (zestawienie metod oznaczania ilościowego barbituranów podano w jednej z poprzednich prac (9).

Zainteresowanie nasze wzbudziła szczególnie, ze względu na prostotę wykonania, metoda argentometryczna oznaczania barbituranów, będąca od trzydziestu lat stale na warsztaście badań naukowych (10—18), nie stosowana jednak dotychczas do oznaczania hydantoinalu. W wyniku własnych prób okazało się, że hydantoinalu nie można oznaczyć według metody Buddego (10), polegającej na miareczkowaniu barbituranów roztworem azotanu srebra wobec Na_2CO_3 do trwałego zmętnienia roztworu. Hydantoinal w przeciwieństwie do barbituranów nie tworzy w tych warunkach rozpuszczalnego kompleksu srebrowego, lecz od razu powstaje osad. Nie można więc zauważyć występowania zmętnienia w punkcie równoważnikowym. Również dodatek etanolu, zaproponowany przy oznaczeniu barbituranów przez H o r s c h a (15), nie zmienia opisanego zjawiska. Użycie roztworów buforowych do oznaczania barbituranów przez V a s t a g h i S z a b o l c s (16) nie okazało się również korzystne w przypadku hydantoinalu, natomiast powiodło się, opracowane przez tychże autorów dla niektórych barbituranów, oznaczenie hydantoinalu przez miareczkowanie 0,1 n AgNO_3 wobec wodorotlenku sodowego i etanolu. W czasie miareczkowania nie powstaje osad, a jeśli wydzieli się, to nie przeszkadza on oznaczeniu, gdyż zmiana barwy roztworu na jasnożółtą wskazuje punkt równoważnikowy. Zmiana ta przy świetle dziennym jest zupełnie wyraźna. Błąd oznaczenia nie przekracza $\pm 0,8\%$, średnia arytmetyczna błędu z szeregu oznaczeń wynosi 0,05%. Metoda ta nie nadaje się do oznaczania hydantoinalu w tabletkach, gdyż wskutek redukcyjnych właściwości substancji ubocznych, zawartych w masie tabletkowej, w czasie miareczkowania występuje ciemnienie roztworu (wydzielanie się metalicznego srebra), uniemożliwiająca zaobserwowanie zmiany barwy w punkcie równoważnikowym.

Miareczkowanie natomiast za pomocą 0,1 n AgNO_3 wobec chromianu potasowego jako wskaźnika nadaje się do analizowanych form leku. Otrzymuje się wyniki nieco niższe od teoretycznych (przy oznaczeniu substancji czystej do $-0,8\%$, a tabletek do $-1,2\%$), jednakże średnia błędu szeregu oznaczeń nie przekracza 0,45% dla substancji i 0,8% dla tabletek.

Do oznaczania substancji i tabletek zastosowano również z powodzeniem metodę F ü r s t a (18). Metoda ta polega na wytrącaniu trudno rozpuszczalnego kompleksu barbituranu ze srebrem i pirydyną i kolejnym miareczkowaniu zawartości srebra, przy czym w obecności węgla sodowego powstaje związek o innym składzie ilościowym niż w roztworach słabo alkalicznych albo w przypadku oznaczania N-alkilowanych barbituranów.

Jak okazało się przy próbach zastosowania tej metody do oznaczania hydantoinalu, w obecności małych ilości węgla sodowego, w roztworze zawierającym pirydynę, po dodaniu azotanu srebrowego powstaje osad, któremu w oparciu o cytowane prace P o e t h k e g o i F ü r s t a (17, 18) oraz własne wyniki ozna-

czeń można przypisać skład *hydantoinal. Ag. pirydyna₂*. Dodanie większej ilości Na_2CO_3 powoduje zwiększenie zawartości srebra w osadzie, gdyż prawdopodobnie tworzy się częściowo związek *hydantoinal. Ag₂ pirydyna₂*. Prawidłowe, stechiometryczne wyniki otrzymano w słabo alkalicznym roztworze, po dodaniu małej ilości węglanu sodowego. Przy oznaczaniu substancji czystej średnia błędu szeregu oznaczeń wynosiła $+0,2\%$, a przy oznaczaniu hydantoinalu w tabletkach $-0,4\%$.

Wypróbowano również możliwość pośredniego kompleksometrycznego oznaczania hydantoinalu (w substancji czystej i w tabletkach) i opracowano dogodne warunki tej metody. Jedną z wersji umożliwiła wytrącenie z roztworu wodnego trudno rozpuszczalnej soli niklawej i oznaczenie następnie niklu w osadzie przez miareczkowanie wersenianem dwusodowym wobec mureksydu jako wskaźnika. Uzyskane wyniki oznaczeń wskazują na dostateczną dokładność tej metody, której błąd oznaczenia nie przekraczał $\pm 1,2\%$, a średnia arytmetyczna błędów dla substancji wynosiła $+0,35\%$, a dla tabletek $+0,6\%$. Inną możliwością oznaczania kompleksometrycznego stanowiło przystosowanie własnej metody oznaczania ilościowego barbituranów za pomocą soli rtęci (9) do oznaczania hydantoinalu. Metoda polega na wytrąceniu związku hydantoiny z rtęcią przez dodanie roztworu octanu rtęciowego i oznaczenie w osadzie rtęci przez rozpuszczenie go w nadmiarze roztworu wersenianu dwusodowego i odmiareczkowanie nadmiaru roztworem siarczynu cynkowego wobec czerni eriochromowej T jako wskaźnika. Ten sposób oznaczenia jest również wystarczająco dokładny: średnia błędów szeregu oznaczeń hydantoinalu w substancji czystej jak i w tabletkach wynosiła $+0,8\%$.

BADANIA WŁASNE

Do oznaczeń używano hydantoinal prod. Warszawskich Zakładów Farmaceutycznych, odpowiadający wymaganiom Farmakopei Polskiej III oraz hydantoinal tabl. po 0,1 g produkcji Warszawskich Zakładów Farmaceutycznych i Łódzkiej Wytwórni Chemicznej „Doza”. Substancje przed odważaniem suszono do stałego ciężaru w temp. 100°C .

Oznaczenia argentometryczne

1) — miareczkowanie za pomocą 0,1 n AgNO_3 wobec NaOH .

Odważkę substancji w ilości 0,1—0,2 g rozpuszczono w 20 ml wody, dodano 2 ml 5% wodnego roztworu NaOH i 30 ml etanolu i miareczkowano 0,1 n roztworem AgNO_3 do trwałego żółtego zabarwienia roztworu. Zmiana barwy (roztwór bezbarwny \rightarrow żółty) była wyraźna, jednak jej uchwycenie wymagało zastosowania światła dziennego.

1 ml 0,1 n AgNO_3 odpowiada 0,02742 g hydantoinalu. Niektóre wyniki oznaczeń przedstawiono w tab. 1.

2) — miareczkowanie za pomocą 0,1 n AgNO_3 wobec K_2CrO_4 .

Miareczkowanie przeprowadzono w środowisku obojętnym, co umożliwiło także oznaczenie zawartości hydantoinalu w tabletkach, gdyż w tych warunkach nie zachodziła od razu redukcja srebra.

Odważkę substancji czystej w ilości 0,1—0,2 g lub odpowiednią odważkę sproszkowanych tabletek rozpuszczono w 10 ml wody, dodano 20 ml etanolu

i 2—3 krople 5% wodnego roztworu chromianu potasowego i miareczkowano powoli silnie mieszając 0,1 n roztworem AgNO_3 do trwałego czerwonego zabarwienia.

Niektóre wyniki oznaczeń hydantoinalu w substancji czystej i w tabletkach przedstawiono w tab. 2.

Tabela 1

Odważka substancji w g	Zużycie 0,1 n AgNO_3 w ml	Znaleziono g substancji	Różnica w %
0,0984	3,57	0,0979	— 0,48
0,1115	4,04	0,1108	— 0,63
0,1128	4,08	0,1119	— 0,80
0,1411	5,18	0,1421	+ 0,71
0,1583	5,78	0,1585	+ 0,13
0,1613	5,92	0,1624	+ 0,68
0,1965	7,17	0,1966	+ 0,05

Tabela 2

Odważka czystej substancji w g	Odważka masy tabletkowej w g	Zawartość hydantoinalu wg deklaracji w g	Zużycie 0,1 n AgNO_3 w ml	Znaleziono g substancji	Różnica w %
0,0916	—	—	3,33	0,0913	— 0,30
0,1309	—	—	4,74	0,1300	— 0,69
0,1470	—	—	5,32	0,1459	— 0,75
0,1683	—	—	6,12	0,1679	— 0,24
0,1687	—	—	6,12	0,1679	— 0,47
0,1888	—	—	6,87	0,1884	— 0,21
0,2134	—	—	7,75	0,2126	— 0,37
—	0,1926	0,0951	3,45	0,0946	— 0,50
—	0,2431	0,1204	4,37	0,1199	— 0,42
—	0,3033	0,1502	5,42	0,1487	— 1,00
—	0,3136	0,1553	5,65	0,1550	— 0,19
—	0,3309	0,1639	5,95	0,1632	— 0,43
—	0,3496	0,1732	6,25	0,1714	— 1,21
—	0,3511	0,1739	6,33	0,1736	— 0,17

3) — oznaczenie wg metody Fürsta.

Odważkę w ilości około 0,1 g substancji lub odpowiednią odważkę dokładnie sproszkowanych tabletek rozpuszczono w 5 ml wody. Dodano następnie 0,5 ml 10% wodnego roztworu węglanu sodowego, 20 ml 20% wodnego roztworu pirydyny i kroplami, mieszając, 10 ml 5% roztworu azotanu srebrowego. Odstawiono na 1/2 godz. do chłodni (temp. 0°C). Osad sączono przez filtr G 4, przemywano zimną wodą, zawierającą 2% pirydyny, i rozpuszczano w 20 ml ciepłego 25% kwasu azotowego. Po przemyciu filtra wodą i zebraniu przesącza i przepłuczca rozcieńczano go wodą do objętości około 50 ml, dodano 2 ml nasyconego roztworu siarczanu żelazowoamonowego i miareczkowano 0,1 n roztworem NH_4SCN .

1 ml 0,1 n NH_4SCN odpowiada 0,027425 g hydantoinalu. Część wyników oznaczeń hydantoinalu w substancji czystej i w tabletkach przedstawiono w tab. 3.

Tabela 3

Odważka czystej substancji w g	Odważka masy tabletkowej w g	Zawartość hydantoinalu wg deklaracji w g	Zużycie 0,1 n NH_4SCN w ml	Znaleziono g substancji	Różnica w %
0,0593	—	—	2,14	0,0587	— 1,01
0,0771	—	—	2,80	0,0768	— 0,39
0,0788	—	—	2,88	0,0790	+ 0,25
0,0849	—	—	3,08	0,0845	— 0,47
0,0892	—	—	3,27	0,0897	+ 0,56
0,0998	—	—	3,70	0,1015	+ 1,70
0,1156	—	—	4,25	0,1166	+ 0,86
—	0,1557	0,0771	2,78	0,07624	— 1,12
—	0,1819	0,0901	3,22	0,08833	-- 1,96
—	0,2043	0,1012	3,65	0,1001	— 1,09
—	0,2003	0,0992	3,67	0,1007	+ 1,51
—	0,2035	0,1008	3,70	0,1015	+ 0,70
—	0,2249	0,1114	4,07	0,1116	+ 0,18
—	0,2295	0,1137	4,19	0,1149	— 1,05

Oznaczenia kompleksometryczne

1) za pomocą soli Ni^{2+} .

Odważano 0,1—0,2 g substancji czystej lub taką ilość sproszkowanych tabletek, aby w odważce było 0,1—0,2 g czystego związku, który rozpuszcza się w 20 ml wody. Do roztworu dodawano kroplami, mieszając, 20 ml około 0,1 M roztworu siarczanu niklowego. Wytrącony osad odsączano i po przemyciu wodą — porcjami po 5 ml, przenoszono ilościowo do kolbki stożkowej, dodając 50 ml wody i 2 ml stężonego kwasu solnego. Następnie zubożniano amoniakiem, dodawano 10 ml 1 n roztworu chlorku amonowego, 3 krople roztworu wskaźnika (nasycony wodny roztwór mureksydu) i amoniaku kroplami do zmiany barwy roztworu z pomarańczowej na żółtą. Miareczkowano 0,05 M roztworem wersenianu dwusodowego do zmiany barwy na fioletową, dodając pod koniec miareczkowania 10 ml stężonego (ok. 30%) amoniaku.

1 ml 0,05 M roztworu wersenianu dwusodowego odpowiada 0,027425 g hydantoinalu. W tab. 4 przedstawiono niektóre wyniki z szeregu oznaczeń hydantoinalu w substancji czystej i w tabletkach.

2) za pomocą soli Hg^{2+} .

Odważono 0,1—0,2 g substancji lub odpowiednią ilość sproszkowanych tabletek, które rozpuszczano w 20 ml wody. Dodano następnie 1 g octanu sodowego i 25 ml około 0,05 M roztworu octanu rtęciowego. Mieszaninę ogrzewano do temperatury

Tabela 4

Odważka czystej substancji w g	Odważka masy tabletkowej w g	Zawartość hydantoinalu wg deklaracji w g	Zużycie 0,05M wersenianu dwusodowego w ml	Znaleziono g substancji	Różnica w %
0,1009	—	—	3,64	0,09925	— 1,05
0,1068	—	—	3,87	0,1061	+ 0,65
0,1086	—	—	3,94	0,1081	+ 0,46
0,1093	—	—	3,98	0,1092	— 0,09
0,1355	—	—	4,79	0,1344	+ 0,81
0,1812	—	—	6,55	0,1796	+ 0,88
0,1970	—	—	7,12	0,1953	+ 0,86
—	0,2095	0,1038	3,54	0,1026	+ 1,17
—	0,2570	0,1273	4,63	0,1270	— 0,24
—	0,2662	0,1319	4,83	0,1325	+ 0,45
—	0,3202	0,1586	5,85	0,1605	+ 1,19
—	0,3291	0,1630	5,97	0,1638	+ 0,49
—	0,3395	0,1682	6,19	0,1698	+ 0,95
—	0,3778	0,1871	6,84	0,1876	+ 0,27

Tabela 5

Odważka czystej substancji w g	Odważka masy tabletkowej w g	Zawartość hydantoinalu wg deklaracji w g	Zużycie 0,05M wersenianu dwusodowego w ml	Znaleziono g substancji	Różnica w %
0,1022	—	—	3,76	0,1031	+ 0,88
0,1139	—	—	4,18	0,1146	+ 0,61
0,1160	—	—	4,27	0,1171	+ 0,95
0,1389	—	—	5,13	0,1407	+ 1,30
0,1758	—	—	6,42	0,1761	+ 0,17
0,1877	—	—	6,92	0,1898	+ 1,12
0,2296	—	—	8,42	0,2310	+ 0,61
—	0,2697	0,1336	4,92	0,1350	+ 1,04
—	0,3146	0,1558	5,70	0,1563	+ 0,32
—	0,3004	0,1488	5,45	0,1495	+ 0,47
—	0,3399	0,1684	6,16	0,1690	+ 0,36
—	0,3916	0,1940	7,12	0,1953	+ 0,67
—	0,4181	0,2071	7,64	0,2095	+ 1,16
—	0,4435	0,2197	8,14	0,2232	+ 1,59

bliskiej temperaturze wrzenia. Osad odsączano, dokładnie przemywano, przenoszono ilościowo do kolbki stożkowej, dodawano 25 ml 0,05 M roztworu wersenianu dwusodowego, 10 ml amoniakalnego roztworu buforowego o pH 10,0, mieszało i dodano czerni eriochromowej T (1% mieszanina z chlorkiem sodowym). Nadmiar wersenianu dwusodowego odmiareczkowałyśmy 0,05 M roztworem siarczanu cynkowego do zmiany barwy niebieskiej na czerwono-fioletową.

Wyniki oznaczeń hydantoinalu i tabletek zawierających hydantoinal przedstawiono w tab. 5.

PIŚMIENICTWO

1. Biedbach F., Mann G.: Quantitative Bestimmung von Diphenylhydantoin in Tabletten. *Mitt. dtsh. pharm. Ges.* **30**, 1, 1960.
 2. Kozelka F. L., Aine C. A.: Iodometric Determination of Diphenylhydantoin. *J. Pharmacol.* **72**, 276, 1941.
 3. Vincent M. C., Blake M. I.: Note on the Analysis of Diphenylhydantoin Sodium by an Ion-Exchange Procedure. *Drug Standards* **26**, 206, 1958.
 4. Lach J. L., Bhansali K., Blaug S. M.: The Chromatographic Separation and Determination of Diphenylhydantoin and Phenobarbital. *J. Amer. Pharm. Assoc., Sci. Ed.* **47**, 48, 1958.
 5. Bjørge J., Presthus J., Støa K. F.: Spectrophotometric Study on 5,5-Diphenylhydantoin. *Med. Norsk. Farm. Selsk.* **19**, 17, 1957; według *Anal. Abstr.* **4**, 3108, 1957.
 6. Plaa G. L., Hine C. H.: A Method for Simultaneous Determination of Diphenylhydantoin in Blood. *J. Lab. Clin. Med.* **47**, 649, 1956.
 7. Konopik N.: Amperometrische Titration organischen Verbindungen. *Öst. Chem. Ztg.* **55**, 127, 1954.
 8. Goszczyńska K., Różańska M.: Miareczkowanie preparatów farmaceutycznych kwasem nadchlorowym w środowisku bezwodnym. *Farm. Polska* **6**, 153, 1954.
 9. Kurpiel I., Mojejko J., Przyborowski L.: Oznaczenie pochodnych kwasu barbiturowego za pomocą soli rtęci. *Acta Pol. Pharm.* **18**, 221, 1961.
 10. Budde H.: Argentometrische Bestimmung von Barbitursäurederivate. *Deutsche Apoth. Ztg.* **49**, 295, 1934.
 11. Danielsson B.: Argentometric Determination of 5,5-Diallyl- and 5,5-Diethylbarbituric Acid. *Svensk Farm. Tid.* **55**, 125, 1951.
 12. Chavanne P., Marie H.: Sur le dosage argentimétrique des barbituriques. *Ann. Pharm. Franc.* **11**, 91, 1953.
 13. Sandri G., Lombardi F.: Volumetrico determinazione degli derivati dell'acido tiobarbiturico. *Atti Acad. Sci. Ferrara* **30**, 27, 1953.
 14. Rotondaro F. A.: The Determination of Barbiturates in Pharmaceuticals. *J. Assoc. Off. Agric. Chem.* **38**, 809, 1955.
 15. Horsch W.: Zur Bestimmung von Cyclobarbital und Cyclobarbital-Calcium Pharmazie **11**, 458, 1956; **12**, 122, 212, 353, 1957.
 16. Vastagh G., Szabolcs E.: Argentometrische Bestimmung von N-Methyl-cyclohexenyl-methylbarbitursäure und Phenylaethylbarbitursäure. *Arzneimittel-Forsch.* **8**, 355, 1958.
 17. Poethke W., Fürst W.: Silberverbindungen der Barbitursäurederivate, 1 Mitteilung. *Pharmazie* **15**, 673, 1960.
 18. Fürst W.: Silberverbindungen der Barbitursäurederivate, 2 Mitteilung. *Pharmazie.* **16**, 24, 1961.
-

РЕЗЮМЕ

Разработан простой метод определения гидантоинала (натриевая соль 5,5 — дифенил — гидантоина), путем argentометрического титрования в присутствии гидроокиси натрия или хромовокислого калия в виде индикатора. Установлено, что гидантоинал можно также определить достаточно точно путем осаждения комплексной соли с серебром и пиридином и обратного титрования металла титрованным раствором родамата аммония.

Разработаны также методы косвенного комплексометрического определения гидантоинала в субстанции и в таблетках. Один метод основан на осаждении никелевой соли и титровании натриевой солью версеновой кислоты в присутствии мурексида как индикатора. Другой метод основан на осаждении гидантоинала ацетатом ртути (II), растворении осадка избытком раствора ЭДТА и обратном титровании раствором сульфата цинка в присутствии ериохромового черного.

SUMMARY

A simple quantitative method of determination of hydantoinal (5,5-diphenylhydantoin sodium), by argentometric titration against sodium hydroxide or potassium chromate as an indicator, has been elaborated. It was also confirmed, that hydantoinal may be determined with sufficient accuracy by precipitation in the form of a complex with silver and pyridine and subsequent titration of the metal with standard solution of NH_4SCN .

Two ways of indirect complexometric determination of hydantoinal in substance and in tablets have been also worked out. The one consists in the precipitation of nickel salt and titration with disodium versenate to murexide as indicator. The other is based on the precipitation of hydantoinal with mercuric acetate, dissolving the deposit in the excess of EDTA (disodium salt) solution and titrating it back with a standard solution of zinc sulphate using eriochrome black T as an indicator.