

MARIA BRZEZICKA-BAK, TADEUSZ SYROWATKA

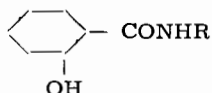
OZNACZANIE MAŁYCH ILOŚCI ANILIDÓW KWASU SALICYLOWEGO METODĄ KOLORYMETRYCZNĄ

Z Laboratorium Technologicznego Dezynfekcji, Dezynsekcji, Deratyzacji
Ministerstwa Zdrowia w Warszawie

Autorzy opracowali metodę oznaczania małych ilości anilidów kwasu salicylowego.

W ostatnich latach duże zainteresowanie budzą nowe środki dezynfekcyjne odznaczające się wysoką aktywnością przeciwbakteryjną oraz innymi ważnymi własnościami, jak brakiem zapachu i własności drażniących oraz niedużą toksycznością dla ciepłokrwistych (1).

Wyodrębnioną grupę stanowią podstawione amidy hydroksykwasów aromatycznych, a przede wszystkim aromatyczne podstawione (arylidy) o ogólnym wzorze



R — rodnik arylowy

Wprowadzenie chlorowców do jednego z pierścieni lub do obu znacznie wpływa na podwyższenie własności antybakteryjnych.

Tematem pracy było oznaczenie niewielkich ilości niektórych pochodnych podstawionych anilin i kwasów salicylowych (anilidów kwasu salicylowego), gdyż z uwagi na wysoką aktywność bakteriobójczą tych związków stężenie ich w preparatach dezynfekcyjnych, a szczególnie w środowisku dezynfekcyjnym, jest niskie. W dostępnym nam piśmiennictwie znaleźliśmy wzmiankę o ilościowym oznaczeniu anilidów kwasu salicylowego metodą acydymetryczną i jodometryczną (2, 3). Dotyczy to jednak preparatów czystych. Oznaczanie preparatów farmaceutycznych zawierających anilidy ci sami autorzy oparli na reakcji anilidu z roztworem chlorku żelazowego i pomiarze intensywności powstającego zabarwienia. Jak wspomniano wyżej, zawartość syntetyzowanych przez nas substancji w preparatach dezynfekcyjnych jest niska, wynika stąd konieczność oznaczania małych ilości anilidów w obecności innych składników, a w szczególności mydła.

Ponieważ w piśmiennictwie istnieje wiele pozycji traktujących o oznaczaniu niewielkich ilości amin I rzędowych (4, 5, 6, 7, 8), próbowaliśmy oznaczać aminy otrzymane drogą hydrolitycznego rozkładu anilidów. Dwuazowanie i sprzężanie w środowisku alkalicznym z α — i β — naftolem wg metody własnej i opartej na pracy Bieliakowa i Gorbylewa (10, 11) nie dały oczekiwanych rezultatów. Wobec tego oparliśmy się na metodzie Zöllnera i Vastagha (12). Autorzy ci dwuazowali i sprzę-

gali z tymolem związku, posiadające w swej cząsteczce I rzędową grupę aminową. W przypadku anilidów będących przedmiotem naszej pracy, grupa aminowa zacylowana była różnymi hydroksykwasami aromatycznymi. Dla uzyskania wolnych amin poddawano anilidy hydrolizie alkalicznej. Powstające wolne aminy oddzielono od innych produktów o charakterze kwaśnym przez destylację z parą wodną. Dwuazowanie i sprzężenie przeprowadzono wg metody Zöllnera i Vastagha. Przeprowadzono również próby rozkładu anilidów wobec dużego nadmiaru substancji pomocniczych stosowanych w preparatach dezynfekcyjnych (mydło).

CZĘŚĆ DOŚWIADCZALNA

I. a) Rozkład hydrolityczny anilidów.

Analidy dość trudno ulegają hydrolizie. W pracy naszej stosowaliśmy rozcieńczone i stężone kwasy (H_2SO_4 i HCl) oraz wodorotlenek potasu (roztwory wodne 10% - owoy i 20% - owoy, i alkoholowy 50% - owoy). Jak stwierdziliśmy, ilościowy rozkład następuje pod działaniem 50% - owego roztworu KOH w czasie 6-godzinnego ogrzewania w temperaturze wrzenia pod chłodnicą zwrotną. 100 mg anilidu rozkładano 50% - owym alkoholowym KOH w ilości 20 ml. Po hydrolizie oddestylowano aminę z tej samej kolby z parą wodną do 1-litrowej kolby miarowej i uzupełniono do kreski wodą.

b) Rozkład hydrolityczny anilidów w obecności mydła.

100 mg anilidu z dodatkiem 6 g zwykłego mydła rozkładano 50% - owym roztworem alkoholowym KOH w ilości 20 ml. Po hydrolizie mieszaninę rozcieńczano wodą, dodawano 5 g $Ba(OH)_2$ w celu związania kwasów tłuszczowych zawartych w mydle, ostrożnie ogrzewano pod chłodnicą zwrotną, po czym destylowano aminę z parą wodną.

II. Przebieg oznaczenia aminy w destylacie.

1 ml destylatu rozcieńczano do objętości 20 ml wodą w kolbce miarowej (50 ml), zakwaszono 2,5 ml 10% - owym HCl i umieszczano w łaźni oziębiającej. Po oziębieniu roztworu do ok. $+5^{\circ}$ dwuazowano 5 ml 0,5% - owego roztworu $NaNO_2$, pozostawiając mieszaninę w łaźni na okres 5 min. Po upływie tego czasu kolbkę wyjmowano z łaźni, dodawano ok. 1 g mocznika w celu usunięcia nadmiaru kwasu azotowego i mieszano do ustania wydzielania się banieczek gazu (15 — 30 min). Następnie dodawano 1 ml świeżo przyrządzonego 0,5% - owego roztworu tymolu w 10% - owym wodnym roztworze $NaOH$ i dodatkowo alkalizowano 5 ml 10% - owego roztworu $NaOH$. Po wymieszaniu występowała barwa od żółtej do pomarańczowej w zależności od badanej aminy. Po 10 min. uzupełniano kolbkę do kreski wodą i kolorymetrowano. Równocześnie sporządzano w identyczny sposób „ślepa próbę” bez aminy.

W miarę wzrostu ilości atomów chloru w cząsteczce aminy odcień powstającego zabarwienia przesuwają się w kierunku od żółtego do pomarańczowego.

Oznaczenia wykonano używając kolorymetru — wizomat typu KWT — kiuwety 40 ml, filtr niebieski.

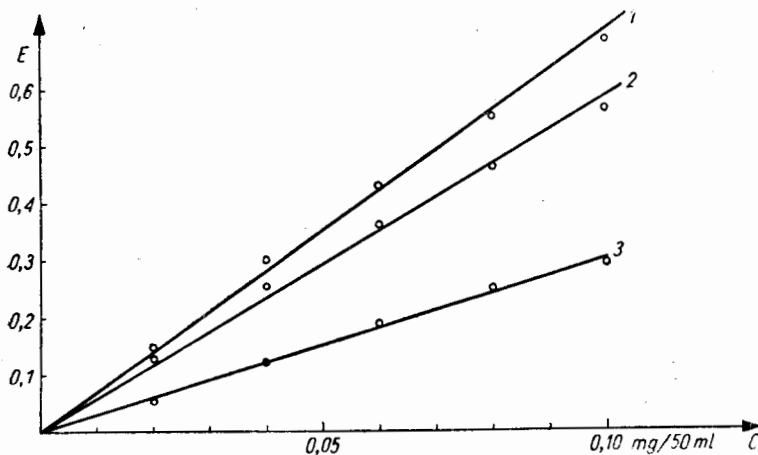
Do analizy użyto następujących preparatów syntetyzowanych w Laboratorium Technologicznym:

1. Anilid kwasu 5-chlorosalicylowego o t.t. 205—206°.
2. 4-chloroanilidy kwasu salicylowego o t.t. 160—162°.
3. 2,5-dwuchloroanilid kwasu salicylowego o t.t. 227°.

III. Oznaczenie krzywych kalibrowania

Krzywe ekstynkcji sporządzono dla następujących amin:

1. Anilina ch. cz. świeżo przedestylowana.
2. 4-chloroanilina (przekryształizowana z rozcieńczonego alkoholu) o t. t. 70°.
3. 2,5-dwuchloroanilina (przekryształizowana z rozcieńczonego alkoholu) o t.t. 52—53°.



Ryc. 1. 1. anilina, 2. 4-chloroanilina, 3. 2,5-dwuchloroanilina.

IV. Wyniki oznaczeń

Oznaczono kolorymetrycznie zawartości amin (c), otrzymanych podczas hydrolizy, na drodze pomiaru ekstynkcji (E) wytworzonych związków azowych. Wyniki przeliczone na odpowiadające im ilości anilidów (e) zestawione w tabeli.

V. Ocena wyników oznaczeń

Do oceny wyników posłużono się metodą statystyczną.

Średnie błędy średnich arytmetycznych F_m

(błędy standardowe) wyliczono ze wzoru:

$$F_m = \sqrt{\frac{\sum \Delta^2}{n(n-1)}}$$

gdzie Δ — odchylenie od średniej arytmetycznej,

$\sum \Delta^2$ — suma kwadratów odchylen od średniej arytmetycznej,

n — liczba pomiarów.

Szukane ilości preparatów przy zastosowaniu współczynnika ufności 2,37 dla prawdopodobieństwa 0,95 zawarte są w granicach dla: 1) Anilidu kwasu 5-chlorosalicylowego a) wg tab. I:

$$0,101 \pm 2,37 \cdot 0,0028 = 0,101 \pm 0,007 \quad \text{b) wg tab. II } 0,094 \pm 2,37 \cdot 0,0011 = 0,094 \pm 0,003$$

2) 4-chloroanilidu kwasu salicylowego

a) wg tab. III: $0,100 \pm 2,37 \cdot 0,0016 = 0,100 \pm 0,004$, b) wg tab. IV: $0,101 \pm 2,37 \cdot 0,0015 = 0,101 \pm 0,004$

3) 2,5-dwuchloroanilidu kwasu salicylowego

a) wg tab. V: $0,096 \pm 2,37 \cdot 0,004 = 0,096 \pm 0,009$, b) wg tab. VI: $0,090 \pm 2,37 \cdot 0,0005 = 0,090 \pm 0,001$

Tabela I
Oznaczenie anilidów kwasów salicylowych

Preparat	E śr.	Zawartość aminy w mg		Zawartość anilidu w mg		Ilość oznaczeń n	h
		znale- ziono	obli- czono	znale- ziono	obli- czono		
a	b	c	d	e	f	g	
I	0,278	0,038	0,038	0,101	0,100	8	$46,8 \times 10^{-5}$
IA	0,250	0,036	0,038	0,094	0,100	8	$6,8 \times 10^{-5}$
II	0,320	0,052	0,052	0,100	0,100	8	$13,6 \times 10^{-5}$
IIA	0,325	0,052	0,052	0,101	0,100	8	$14,0 \times 10^{-5}$
III	0,207	0,055	0,057	0,096	0,100	8	$91,3 \times 10^{-5}$
IIIA	0,192	0,051	0,057	0,090	0,100	8	$1,3 \times 10^{-5}$

I — Anilid kwasu 5-chlorosalicylowego (1 mg aniliny — 2, 660 mg I).

II — 4-chloroanilid kwasu salicylowego (1 mg 4-chloroaniliny — 1,942 mg II).

III — 2,5 dwuchloroanilid kwasu salicylowego (1 mg 2,5-dwuchloroaniliny — 1,741 mg III).

IA — Anilid kwasu 5-chlorosalicylowego z dodatkiem mydła.

IIA — 4-chloroanilid kwasu salicylowego z dodatkiem mydła.

IIIA — 2,5-dwuchloroanilid kwasu salicylowego z dodatkiem mydła.

WNIOSKI

1. Małe ilości (20 — 100 mg(1) anilidów kwasu salicylowego można oznaczać po ich hydrolitycznym rozkładzie i oddestylowaniu powstających wolnych amin z parą wodną.

2. Ilościowy hydrolityczny rozkład anilidów kwasu salicylowego przeprowadzić można przy użyciu 50% alkoholowego roztworu KOH.

3. Wolne aminy powstające podczas hydrolitycznego rozkładu anilidów kwasu salicylowego oddestylowane z parą wodną oznacza się kolorymetrycznie sprzęgając je z 0,5% roztworem tymolu w 10% roztworze NaOH po uprzednim zdwuazowaniu i usunięciu nadmiaru kwasu azotowego mocznikiem.

М. Б жезицка-Бонк, Т. Сыроватка

ОБОЗНАЧЕНИЕ МАЛЫХ КОЛИЧЕСТВ АНИЛИДОВ САЛИЦИОВОЙ КИСЛОТЫ КОЛОРИМЕТРИЧЕСКИМ МЕТОДОМ

Разработан метод обозначения анилидов ароматических гидроксилов. Метод основан на гидролизе при помощи 50%-ого спиртового раствора КОН. Появляющиеся во время гидролиза — анилины отделяют дистилляцией с водяным паром и после диазирования связывают в щелочной среде с тимолом. На основании обмера экстинкции определяют количество анилинов и пересчитывают на отвечающие им количества анилидов соответствующих гидроксилов. Точность метода проследили на примерах анилида 5-хлорсалициловой кислоты, 4-хлоранилида салициловой кислоты и 2,5-дихлоранилида салициловой кислоты.

M. Brzezicka-Bąk, T. Syrowatka

DETERMINATION OF MINUTE AMOUNTS OF SALICYLIC ACID ANILIDES BY COLORIMETRIC METHOD

A method for aromatic hydroxyacids anilides determination based on hydrolyse with 50% alcoholic KOH solution was elaborated. Anilines as formed during hydrolyse are distilled with steam, next diazed and complexed with thymol in basic solution. Anilines as determined from extinction are counted for equivalent amounts of anilides of corresponding hydroxyacids. The accuracy of the method was tested with 5-chlorosalicylic acid anilide, 4-chloranilide of salicylic acid and 2.5 dichloranilide of salicylic acid.

PIŚMIENNICTWO

1. Jerchol D., Oberheiden H.: *Anew. Chem.*, 67, 145, 1955. — 2. Matta G., *Nunes L.: Anais Arevedos (Lizbon)* 3, 21, 1951. — 3. Matta G., *Nunes L.: ibid.* 3, 145, 1951. — 4. Ballard C. W.: *J. Pharm. Pharmacol.*, II, 98, 1950. — 5. Jasiński J.: *Analiza miareczkowa w środowiskach niewodnych*, Warszawa 1956. — 6. Narbutt-Mering: *Act. Pol. Pharm.*, 12, 387, 1956. — 7. Bandelin, Pankratz: *Anal. Chem.*, 28, 218, 1956. — 8. Mertz, Kammerer: *Arch. Pharm.*, 286, 198, 1953. — 9. Minczewski J., Łada Z.: *Potencjometryczne miareczkowanie*. Warszawa 1957. — 10. Bielakow A. A., Gorbylewa N. W.: *Żurnal Anal. Chim.*, 12, 545, 1957.
11. Ballard C. W.: *J. Pharm. Pharmacol.*, I, 224, 1949. — 12. Zöllner V., Vastagh G.: *Pharm. Zentralhalle*, 96, 199, 1957.